

UC-NRLF

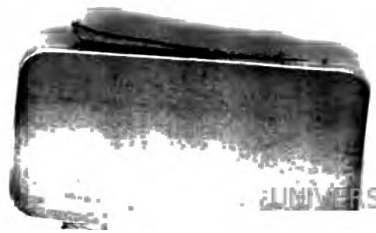


B 3 208 390

MEDICAL SCHOOL
LIBRARY



Generated on 2019-01-12 23:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208390
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



163

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

H. Apolant, Frankfurt a. M., **M. Ascoli**, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Ball**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **E. v. Behring**, Marburg, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Besredka**, Paris, **J. Bordet**, Brüssel, **A. Breinl**, Liverpool, **L. Brieger**, Berlin, **A. Calmette**, Lille, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Wien, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Heidelberg, **P. Ehrlich**, Frankfurt a. M., **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Frosch**, Berlin, **G. Gaffky**, Berlin, **M. von Gruber**, München, **M. Hahn**, Königsberg i. Pr., **A. Heffter**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Bern, **W. Kruse**, Bonn, **K. Landsteiner**, Wien, **C. Levaditi**, Paris, **L. von Liebermann**, Budapest, **F. Loeffler**, Greifswald, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **E. Metschnikoff**, Paris, **L. Michaelis**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **C. Moreschi**, Pavia, **P. Th. Müller**, Graz, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. Oestergaard**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien, **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Plek**, Wien, **P. Römer**, Marburg, **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Berlin, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. v. Wassermann**, Berlin, **W. Welchardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER **R. KRAUS** **H. SACHS** **P. UHLENHUTH**
(Berlin.) (Wien.) (Frankfurt a. M.) (Straßburg i. E.)

Siebzehnter Band.

Mit 2 Tafeln, 13 Figuren, 35 Kurven im Text und 21 Tabellen auf Tafeln.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1913

—
Alle Rechte vorbehalten.
—

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1. (Ausgegeben am 1. März 1913.)

	Seite
Browning, C. H., and Mackie, T. J., The relationship of the complementing action of fresh serum along with immune body to its haemolytic effect with cobra venom — a contribution on the structure of complement. [From the Pathological Laboratoires of the University and Western Infirmary, Glasgow]	1
Kashiwabara, M., Ueber die Inaktivierung der Komplemente durch Schütteln. [Aus dem Biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin]	21
Bessemans, A., De importance respective des deux constituants de l'alexine dans le phénomène de l'hémolyse. [Institut de Bactériologie de Louvain (Directeur: Prof. J. Denys). Laboratoire du Prof. R. Bruynoghe]	36
Zunz, Edgard, Recherches sur les modifications physico-chimiques du sang au cours de l'anaphylaxie. [Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles]	47
Sata, A., Passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinempfindlichkeit durch Tuberkuloseserum und dessen Wertbestimmung durch dieselbe Wirkung. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut zu Osaka, Japan.] Mit 5 Kurventabellen im Text	62
Sata, A., Untersuchungen über die spezifischen Wirkungen des Tuberkuloseserums durch Anaphylatoxinversuche. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut zu Osaka, Japan]	75
Sata, A., Untersuchungen über die spezifischen Wirkungen des Tuberkuloseserums durch Mischungsversuche von Tuberkulin und Tuberkuloseserum. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut zu Osaka, Japan.] Mit 1 Kurventafel	84
Goss, W. J., Eine neue Methode zur Gewinnung des Antigens für die Wassermannsche Reaktion. [Aus der pathologisch-anatomischen Abteilung des Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg]	99
Weichardt, Wolfgang, Ueber Proteotoxikosen. Ergänzungen zu den Bemerkungen Hermann Pfeiffers, Bd. 16, No. 1 dieser Zeitschrift	101

23582

Heft 2. (Ausgegeben am 15. März 1913.)		Seite
Edmunds, Charles W., The action of the Protein Poison on Dogs: A Study in Anaphylaxis. [From the Pharmacological Laboratory, University of Michigan.] With 4 Curves in text		105
Adersen, Vald., Ueber die angebliche Tetanustoxin neutralisierende Wirkung des Neurins und des Betaïns. [Aus dem Serumlaboratorium der Kgl. Veterinär- und Landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen (Direktor: Prof. Dr. med. C. O. Jensen)]		135
Weil, Richard, and Coea, Arthur F., The nature of Anti-Anaphylaxis. [From the Departments of Experimental Therapeutics and of Experimental Pathology in the Medical College of Cornell University, New York]		141
v. Hellens, O., Das Verhalten des Kaninchenserums zu der Wassermanschen Reaktion. [Aus dem dänischen Staats-Seruminstitut zu Kopenhagen]		156
Bergel, S., Weitere experimentelle Untersuchungen über Wesen und Ursprung der Hämagglutination; die Entstehung der Spezifität		169
Prinzing, F., Ueber Meistagminreaktion bei Typhus. [Aus dem städtischen Krankenhaus Charlottenburg-Westend. (Dirigierender Arzt: Professor Dr. U m b e r)]		176
Galli-Valerio, B., et Bornaud, M., Note sur un sérum précipitant pour l'albumine d'Agaricus muscarius Linn. [Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne]		180
Metelnikov, S., et Strelnikov, J., Sur l'origine des spermotoxines. [Laboratoire Biologique de St-Pétersbourg]		186
Hara, K., Untersuchungen über die Eigenhemmung der Sera. [Aus der Biologischen Abteilung (Prof. v. Dungern) des Institutes für Krebsforschung (Geheimrat Prof. Czerny, Exzellenz).] Mit 4 Kurven im Text		209
Apolant, H., Ueber die Beziehungen der Milz zur aktiven Geschwulstimmunität. [Aus der Abteilung für Krebsforschung (Prof. H. Apolant) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirkl. Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).] Mit 9 Tabellenfiguren im Text		219
Lurà, A., Anaphylatoxin, Peptotoxin und Pepton in ihren Beziehungen zur Anaphylaxie. Ergänzungen und Richtigstellungen zu der gleichnamigen Arbeit von A. Besredka, H. Ströbel und F. Jupille		233
Heft 3. (Ausgegeben am 3. April 1913.)		
Zunz, Edgard, Recherches sur le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. Première communication. Expériences chez le cobaye. [Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.] Avec 2 figures dans le texte		241

	Seite
Zunz, Edgard , Recherches sur le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. Seconde communication. Expériences chez le lapin. [Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.] Avec 1 figure dans le texte	265
Zunz, Edgard , Recherches sur le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. Troisième communication. Expériences chez le chien et considérations générales. [Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.] Avec 1 figure dans le texte	279
Emmerich, Emil , Untersuchungen mit Eigelbantiseren, zugleich ein Beitrag zu den Beziehungen der verschiedenen Eigelbarten zu einander. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth)]	299
Suklennikowa, N. , Ein experimenteller Beitrag zur „Anaphylatoxin“-Frage. [Aus dem Institut Pasteur, Paris; Direktor: Prof. Dr. E. Metschnikoff (Leiter: Prof. Dr. A. Besredka)]	304
De Waele, Henri , L'action thromboplastique est générale et commune à toutes les substances introduites dans le sang. [Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Université de Gand.] Avec 17 courbes dans le texte	314
Bessemans, A. , Contribution à l'étude de l'anaphylaxie. [Institut de Bactériologie de Louvain (Directeur: Prof. J. Denys). Laboratoire du Prof. R. Bruynoghe]	333
Isabolinsky, M. , Salvarsan bei Milzbrand und Wut. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium zu Smolensk]	353
Armand-Delille, P. , et Launoy, L. , A propos des travaux récents de MM. Bernstein et Kaliski sur les hématies formolées	361

Heft 4. (Ausgegeben am 14. April 1913.)

Landsteiner, Karl , und Prašek, Emil , Ueber die bindenden und immunisierenden Substanzen der roten Blutkörperchen. II. Mitteilung über Blutantigene. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien]	363
Ball, Oskar , und Rotky, Karl , Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern. [Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag]	378
Marie, A. , Glandes surrénales et Toxi-infections	420
Rondoni, Pietro , und Goretti, Guido , Ueber einige biologische Eigenschaften der Milz bei experimenteller Naganainfektion. [Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der k. Hochschule Florenz (Direktor: Prof. A. Lustig)]	432

	Seite
Hidaka, S. , Zur Frage der Beziehungen zwischen Syphilis- und Recurrens-Immunität. [Aus der Königlichen dermatologischen Universitätsklinik zu Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Neisser)]	443
Hirvisalo, K. F. , Zur Agglutinationsresistenz der sogenannten Exsudatbakterien. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Helsingfors]	449
Pfeiffer, Hermann, und de Crinis, M. , Zur Kenntnis der Hämolysevergiftung. [Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der K. K. Universität Graz (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. R. Klemensiewicz).] Mit 5 Kurven im Text	459
Nathan, Ernst , Ueber Anaphylatoxinbildung durch Agar. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	478
Heft 5. (Ausgegeben am 3. Mai 1913.)	
Surface, Frank M. , The inhibiting effect of excess cow serum in complement fixation with infectious abortion	487
Friedberger, E., Mita, S., und Kumagai, T. , Ueber Anaphylaxie. XXXIV. Mitteilung. Die Bildung eines akut wirkenden Giftes (Anaphylatoxin) aus Toxinen (Tetanus, Diphtherie, Schlangengift). [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	506
Jonas, Willy , Ueber die Wirkung verschiedener Serumarten auf das durch Cobragift inaktivierte Komplement. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	539
Lippmann und Pleseh , Sind die Leukocyten die Quelle der Komplemente? [Aus der zweiten medizinischen Klinik der Charité zu Berlin (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Kraus)]	548
Rotky, Karl , Ueber die Spezifität der von sensibilisierten Bakterien abgesprengten bakteriolytischen Immunkörper. [Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. O. Bail)]	555
Bail, Oskar, und Rotky, Hans , Gewinnung hämolytischer Flüssigkeiten außerhalb des Tierkörpers. [Aus dem Hygienischen Institute der Universität Prag]	566
Reymann, G. C. , Versuche über Antivibriolysinbildung neugeborener Ziegen. (Anhang zur Abhandlung „Ueber Antikörperbildung neugeborener Ziegen“ im Bd. 12 dieser Zeitschrift.) [Aus dem Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen)] . . .	575

	Seite
v. Sarnowski , Ueber Anaphylaxie und Antianaphylaxie bei weißen Mäusen. [Aus dem Hygienischen Institut der Königl. Tierärztl. Hochschule zu Hannover (Leiter: Prof. Dr. Miessner)]	577
Mita, Sadanori, und Ito, Tetsuta , Ueber Schwankungen in der Giftigkeit artfremden Normalserums für das Meerschweinchen. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	586
Kumagai, T. , Ueber Anaphylaxie. XXXV. Mitteilung. Ueber das Verhalten der roten Blutkörperchen bei der Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	602

Heft 6. (Ausgegeben am 19. Mai 1913.)

Kumagai, T. , Ueber Anaphylaxie. XXXVI. Mitteilung. Die Lungenblähung bei der Anaphylatoxinvergiftung und bei einigen ähnlich wirkenden Giften. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).] Mit 1 Tafel	607
Bindsell , Ueber die sogenannte Operationsimmunität (bei einem Mäusecarcinom). Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Straßburg (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. P. Uhlenhuth).] Mit 21 Tabellen auf Tafeln	639

Autorenverzeichnis.

- Adersen, V. 135.
Apolant, H. 219.
Armand-Delille und Launoy 361.
Bail und Rotky, K. 378.
Bail und Rotky, H. 566.
Bergel, S. 169.
Bessemans, A. 36, 333.
Bindseil 639.
Browning und Mackie 1.
Edmunds, Ch. W. 105.
Emmerich, E. 299.
Friedberger, Mita und Kumagai 506.
Galli-Valerio und Bornand 180.
Goss, W. J. 99.
Hara, K. 209.
v. Hellens, O. 156.
Hidaka, S. 443.
Hirvisalo, K. F.
Isabolinsky, M. 353.
Jonas, W. 539.
Kashiwabara, M. 21.
Kumagai, T. 602, 607.
Landsteiner und Prašek 363.
Lippmann und Plesch 548.
Lurà, A. 233.
Marie, A. 420.
Metalnikov und Strelnikov 186.
Mita und Ito 586.
Nathan, E. 478.
Pfeiffer, H., und de Crinis 459.
Prinzing, F. 176.
Reymann, G. C. 575.
Rondoni und Goretta 482.
Rotky, K. 555.
v. Sarnowski 577.
Sata, A. 62, 75, 84.
Sukiennikowa, N. 304.
Surface, Frank M. 487.
De Waele, H. 314.
Weichardt, W. 101.
Weil und Coca 141.
Zunz, Edg. 47, 241, 265, 270.
-

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. XVII. No. 1

Nachdruck verboten.

[From the Pathological Laboratories of the University and
Western Infirmary, Glasgow.]

The relationship of the complementing action of fresh serum along with immune body to its haemolytic effect with cobra venom — a contribution on the structure of complement^{1) 2)}.

By **C. H. Browning**, M. D., and **T. J. Mackie**, M. B., Ch. B.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. November 1912.)

The fact that normal serum may aid the haemolytic action of various snake venoms has long been established (Stephens, 29). Lecithin has a similar action (Kyes, 10), and a mixture of venom with serum or with lecithin may produce lysis of certain species of blood corpuscles, which are quite unsusceptible to venom by itself.

The phenomena of serum-venom haemolysis have been more closely analysed and compared with lecithin-venom haemolysis by several workers [Flexner and Noguchi (7), Kyes (10), Kyes and Sachs (11), Morgenroth and Kaya (16)] and a variety of conclusions have been reached. With regard to the haemolytic action of lecithin along with cobra venom, it appears to be definitely determined (Manwaring, 14) that a constituent of the native venom of ferment character (lecithinase) acts on lecithin by splitting off acid radicles, and that an altered lecithin results (cobra lecithid). This lecithid is an extremely powerful haemolytic agent, being many hundred times more active than the original substance from which it was derived. After the lecithid has been formed its action is quite independent of constituents of the venom and it can be entirely freed from the latter. The results of earlier observers require now to be interpreted in the light of these facts. Conclusions based on analogies existing between the process of lecithin venom haemolysis and haemolysis due to immune-body and complement must be regarded as merely superficial.

1) Eine kurze Mitteilung über die Hauptresultate dieser Arbeit wurde schon publiziert in der Biochem. Zeitschr., Bd. 43, 1912, p. 229 und Journ. of Path. and Bact., Vol. 17, 1912, p. 120.

2) We have much pleasure in acknowledging our indebtedness to the Carnegie Trust for grants toward the expenses of this research.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XVII.

1

Sera from different species vary in their behaviour (Kyes, 10); accordingly, we shall restrict ourselves to the results bearing on the action of guinea-pig's serum which we have ourselves investigated. Kyes and Sachs found that (1) the haemolytic effect of guinea-pig's serum along with cobra venom for blood corpuscles which are insusceptible to cobra venom by itself (ox, sheep, goat) occurs at 37° but not at 0° C. (whereas lecithin causes lysis with venom at 0°) and is destroyed by procedures which destroy haemolytic complement, but do not affect lecithin, e. g., by heating at 56° C., and by digestion with papain or treatment with HCl or NaOH; (2) the action of fresh serum is unaffected by agents which inhibit the effect of lecithin; thus cholesterolin inhibits the action of lecithin to a much greater extent than it inhibits the effect of serum; (3) although fresh serum in a sufficient dose causes haemolysis along with cobra venom, a smaller amount of serum will prevent the haemolytic action of a dose of lecithin. These observations, along with the facts that (1) a laked solution of blood which by itself undergoes lysis in the presence of cobra venom, causes haemolysis of insusceptible blood along with venom, owing to lecithin contained in the susceptible stromata being "available" (endocomplement) and that (2) guinea-pig's serum by itself has a certain degree of haemolytic action for the species of blood under consideration, led Kyes to conclude that the weight of evidence is in favour of the activating effect of fresh sera being indirect, that is, due to their action in liberating endocomplement from the red blood corpuscles. In this connection, it may be noted that recent work on haemolysis due to immune body and complement has led to the conception that the complement acts on the complex, red corpuscle plus immune body, and that little evidence has been brought forward in favour of the view that immune body acts as the intermediary between the complement and the cell receptor (Muir, 17). Bezzola (1) found that a mixture of antigen and antibody which was able to absorb both lecithin and complement, when saturated with one of these bodies was still able to absorb the other and hence concluded that the lytic action of fresh serum with venom was not due to the presence of lecithin in the serum.

Morgenroth and Kaya showed that a solution of cobra venom in normal saline when heated at 70° C by itself or at 100° C in the presence of $n/20$ HCl, lost the property of causing haemolysis along with fresh guinea-pig's serum, but retained almost unaltered its activity with lecithin. We have demonstrated by this method the lecithin character of "endocomplement", since on the addition of laked guinea-pig's blood, haemolysis of ox blood suspension occurs with venom heated at 70° C. practically to the same extent as with unheated venom.

Ross (22) observed that ox's serum inhibited the haemolytic action of guinea-pig's serum with cobra venom, but not with immune body.

When cobra venom is allowed to act on lecithin for some hours and blood is subsequently added, almost instantaneous lysis occurs; but if any other arrangement is made in mixing the components haemolysis takes place slowly. The explanation is that the haemolytic action is due to the altered lecithin (lecithid) and in the first case the venom acts on the leci-

thin and produces leicithid, which when formed is very rapid in its haemolytic action. Analogous experiments have been carried out with mixtures of complement-containing serum and venom; but the results are very different, since the mixture loses its haemolytic property. This aspect of the subject has been investigated by Morgenroth and Kaya, Sachs (23), Braun (3), Omorokow (20), Sachs and Omorokow (26), and Ritz (21). The general results are that cobra venom deprives fresh serum of its lytic action for blood along with both immune body and cobra venom. The rate of destruction of complementing action depends directly on the concentration of serum in the mixture with venom (Braun, Omorokow). The complementing action for immune body is restored quantitatively by the addition of either middle-piece or end-piece and for venom by the addition of middle piece (Sachs and Omorokow). Finally, Ritz has pointed out in the case of serum treated with venom, that the complementing action for immune body is restored by the addition of heated guinea-pig's serum ($\frac{1}{2}$ hour at 54° C.), "third component", which does not act either as middle-piece or end-piece.

Thus it is evident that the question of the relationship of the complementing action of fresh serum for haemolytic immune body to its effect in causing lysis in the presence of cobra venom is still very complicated.

The following investigations have been carried out with a view to throwing further light on the relationship between the haemolytic complements which act with specific immune body and the bodies which cause lysis with venom. Special attention has also been paid to the part played by the so-called middle-piece and end-piece of complement in the reactions.

In the first place, complement-containing serum was treated with various substances which remove complementing action for immune body and then the treated serum was compared with the untreated as regards its effect with venom, the effect with immune body being tested in parallel series by way of control. Secondly, complement-containing serum was split by carbon di-oxide gas and the action of the fractions along with immune body and with venom was compared. In addition, the effect of the serum fractions in restoring the complementing action of serum which had been treated with the various complement absorbers was tested. Also, the views held as to the constitution of complement have been examined in the light of the facts which have been elicited.

1*

The action of serum which has been treated with agents which remove complement.

Stromata of red blood corpuscles along with the corresponding immune body.

The stromata were prepared by heating a 5 per cent. suspension of washed blood corpuscles over night at 55° C. The fluid was removed and the sediment after being washed several times with 0.85 per cent NaCl solution was suspended in the original volume. Excess of homologous immune body (10 doses) was added, and after the mixture had stood for an hour the fluid was removed and replaced by NaCl-solution. Into each of a series of tubes 1.0 c.c. of suspension of sensitised stromata was measured out and then varying amounts of guinea-pig's complement were added. The tubes were placed in the incubator at 37° C for 1½ hours, being frequently shaken during that time; they were then centrifuged; the supernatant fluid was pipetted off and divided into two equal portions; to the one half 0.5 c.c. of suspension of washed ox blood sensitised with 5 doses of immune body was added, and to the other a similar amount of suspension along with cobra venom (0.01 c.c. 10 per cent. solution of cobra venom in 0.85 per cent. salt solution to each 1 c.c. of blood suspension).

As complement-absorbers the following combinations were employed, ox blood and sheep blood with the homologous immune bodies from the rabbit, rabbit's blood with immune body from the goat. Representative experiments are shown in Table IA. The results were remarkably constant and showed that the treated serum had undergone practically no alteration in its action with venom, while, as is well known, the complementing effect for immune body was abolished. A composite complement consisting of guinea-pig's end-piece plus rabbit's middle-piece (v. later) behaved in the same manner. By way of controls the following experiments were carried out, (1) the sensitised stromata were digested at 37° C with 0.85 per cent. salt solution, and the fluid was then added to corpuscles along with venom; no lysis occurred, thus showing that no "activating" body diffused out of the stromata; (2) the treated serum did not lyse corpuscles along with heated venom (1 per cent. of venom in 0.85 per cent. NaCl solution exposed at 70° C for half an hour according to the procedure of Morgenroth and Kaya) whereas lecithin did cause lysis; thus it was clear that the treated serum did not differ in its action from the native serum in this respect (v. Table IB, Control).

On one occasion the complement-containing serum after being treated with sensitised stromata, as described above, was then subjected to a second treatment with the same amount of sensitised stromata. Such double treatment has been found especially efficient in removing complement (Muir and Martin, 19). The wice treated serum still retained its lytic action with cobra venom practically unchanged (v. Table I A).

Table I A.

The action of complement-containing serum (guinea-pig) after treatment with sensitised stromata.

Date of experiment	Lysis of 0.5 c. c. suspension of ox-blood + 5 doses of immune body		Lysis of 0.5 c. c. suspension of ox-blood + 0.0005 gr. cobra-venom	
	untreated serum	treated serum	untreated serum	treated serum
A. Serum treated with sensitised ox stromata.				
30. I. 12	0.0075 c. c. = complete	0.15 c. c. marked	0.01 c. c. = complete	0.01 c. c. = complete
24. I. 12	0.01 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.01 c. c. = complete	0.01 c. c. = complete
21. II. 12	0.005 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.005 c. c. = complete	0.01 c. c. = complete
8. II. 12	0.01 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.01 c. c. = complete	0.01 c. c. = complete
B. Serum treated twice with sensitised ox stromata.				
22. II. 12	0.01 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.01 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete (smallest amount tested)
C. Serum treated with sensitised sheep stromata.				
27. II. 12	0.01 c. c. = complete	0.1 c. c. = nil	0.01 c. c. = complete	0.01 c. c. = complete
D. Serum treated with sensitised rabbit stromata.				
14. II. 12	0.005 c. c. = complete	0.04 c. c. = distinct	0.005 c. c. = complete	0.01 c. c. = complete

Table I B.

The action of complement-containing serum (guinea-pig) treated with sensitised ox stromata.

Date of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox-blood suspension + 5 doses of immune bodies		Lysis of 0.5 c. c. ox-blood suspension + 0.0005 gr. cobra venom (fresh)		Lysis of 0.5 c. c. ox-blood suspension + 0.0005 gr. heated cobra venom (1 per cent. solution heated 1/2 hour at 70° C)
	untreated serum	treated serum	untreated serum	treated serum	
25. VI. 12	0.0075 c. c. = compl.	0.05 c. c. = nil	0.01 c. c. = compl.	0.01 c. c. = compl.	0.05 c. c. = nil

Control.

0.5 c.c. ox blood suspension + 0.01 c.c. 1:10000 fresh cobra venom + excess of lecithin = marked lysis.

0.5 c.c. ox blood suspension + 0.01 c.c. 1:10000 cobra venom 70° C + excess of lecithin = marked lysis.

Red blood corpuscles sensitised with immune body.

The corpuscles were sensitised with 10 doses of immune body and the procedure adopted was the same as that employed above. The guinea-pig's serum was treated with ox, sheep and guinea-pig's corpuscles along with homologous immune body from the rabbit. With the last named combination only slight haemolysis occurred, but complement was actively absorbed as Muir and Browning have shown (Muir, 18). We found that large amounts of ox's laked blood corpuscles and, to a less extent, sheep's blood caused lysis of ox blood along with cobra venom (endocomplement action). This action is markedly inhibited by serum; but to avoid fallacies we always tested, as a control, the effect of an amount of ox's and sheep's corpuscles equivalent to that employed in the absorption experiments, the corpuscles being laked with water and then made up to 0.85 per cent. NaCl with 10 per cent. NaCl. It was found that in from 2 to 4 hours the treated serum had caused practically its full lytic effect with cobra venom, whereas the action of the laked blood (endocomplement) was not marked till much later (24 hours). Accordingly, the results were read after 2 to 4 hours. In the case of guinea-pig's blood, which undergoes only partial haemolysis, the fluid was separated from the remaining corpuscles by centrifuging and was then pipetted off. Laked guinea-pig's blood has a powerful endocomplement action; the effect of laked blood in amounts equivalent to the lysis which had occurred in the serum tubes was always tested, and it was found that endocomplement played no part in the lysis of the test ox corpuscles. The results of such experiments with sensitised blood corpuscles are shown in Table II. They are in complete agreement with those obtained with sensitised stromata.

Table II.

The action of complement-containing serum (guinea-pig) treated with sensitised red blood corpuscles.

Date of experiment	Lysis of 0.5 c.c. ox-blood suspension + 5 doses of immune body, after 2 hours at 37° C		Lysis of 0.5 c.c. ox-blood suspension + 0.0005 gr. cobra venom after 2 hours at 37° C		
	untreated serum	treated serum	untreated serum	treated serum	Contr.: laked blood without serum
A. Serum treated with sensitised ox's blood.					
21. II. 12	0.005 c.c. = complete	0.06 c.c. = trace	0.005 c.c. = complete	0.01 c.c. = complete	nil
B. Serum treated with sensitised sheep's blood.					
27. II. 12	0.01 c.c. = complete	0.1 c.c. = no lysis	0.01 c.c. = complete	0.01 c.c. = complete	nil
C. Serum treated with sensitised guinea-pig's blood.					
15. III. 12	0.005 c.c. = complete	0.05 c.c. = distinct	0.005 c.c. = complete	0.01 c.c. = complete	0.1 c.c. laked guinea-pig's blood caused lysis of less than 0.1 c.c. of ox-blood suspension in 24 hours

Control to C.

The initial lysis caused by 0.01 c.c. serum = 0.1 c.c. guinea-pig's blood suspension.

The fact that serum which has been treated in the manner above described, and which as a result is practically devoid of haemolytic action along with immune body, still retains almost unaltered its power of causing haemolysis along with venom, does not support the view that the serum acts simply in virtue of its partial lytic property by itself. The results indicate that the complement of serum which acts along with immune body is certainly not identical with that which causes haemolysis with venom. From the nature of the processes under consideration, it is obvious that a marked difference which is elicited by such procedures, affords a proof of the dissimilarity of the two effects this proof is much more convincing than is a conclusion as to their identity based on similarity of behaviour towards physical and chemical agents which abolish complementing action altogether.

Bacterial Emulsion.

Bacterial emulsions are known to have a powerful effect in depriving serum of its complementing action. *Staphylococcus aureus* was employed.

Agar slope-cultures of *staphylococcus aureus* after 24 hours at 37° C were suspended in 0.85 salt solution and washed several times by centrifugalising. The sediment was then resuspended (the culture of three or four tubes being emulsified in 1 c. c.) and killed by boiling for several minutes. The killed emulsion was mixed with an equal volume of serum and the mixture was incubated at 37° C for 1½ hours, after which the organisms were removed by centrifugalising.

Table III.

The action of complement-containing serum (guinea-pig) treated with *staphylococcus* emulsion.

No. of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body		Lysis of 0.5 c. c ox blood suspension + 0.0005 gr. cobra venom	
	untreated ser.	treated serum	untreated serum	treated serum
I	0.01 c. c. = complete	0.1 c. c. = nil	0.01 c. c. = complete	0.1 c. c. = nil
II	0.005 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete	0.005 c. c. = complete	0.08 c. c. = very marked
III	0.005 c. c. = complete	0.06 c. c. = distinct	0.005 c. c. = complete	0.02 c.c. = almost complete

The results of a series of such experiments are shown in Table III. It is clear that the effect of treatment has been very variable, and that there is no constant correspondence between the behaviour of the treated serum along with immune body and with cobra venom respectively; thus in experiment 1 the treated serum was practically deprived of its haemolytic action along with both venom and immune body; in experiment 2 there was marked action with immune body but little with venom; and in experiment 3 the action of the serum was the reverse of that in 2.

Treatment with water.

Sachs and Teruchi (27) found that if guinea-pig serum was diluted with water its complementing power for immune body disappeared.

Fresh guinea-pig's serum was diluted with 9 volumes of water and incubated at 37° C for 1½ hours; the NaCl-content was then restored to 0.85 per cent.

The results obtained on testing the treated serum in parallel series with immune body and with venom are shown in Table IV. As in the case of treatment with staphylococcus emulsion, here also the results were remarkably variable and there was a lack of correspondence between the action of the treated serum with immune body and with venom in the various experiments.

Table IV.
The action of complement-containing serum treated with water.

No. of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body		Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 0.0005 gr. cobra serum	
	untreated ser.	treated serum	untreated serum	treated serum
I	0.02 c. c. = complete	0.1 c. c. = very marked	0.02 c. c. = complete	0.1 c. c. = very marked
II	0.02 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.02 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete
III	—	0.1 c. c. = complete (the only amount tested)	—	0.1 c. c. = nil (the only amount tested)
IV	0.02 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete
V	0.01 c. c. = complete	0.04 c. c. = trace 0.1 c. c. = marked	0.01 c. c. = complete	0.02 c. c. = distinct 0.04 c. c. = complete

Filtration through a Berkefeld filter.

10 c. c. of a mixture of fresh serum with an equal volume of 0.85 per cent NaCl solution were filtered through a new, alkali-free Berkefeld filter in the manner described by Muir and Browning (v. Muir 18).

Filtered serum was found to be inactive with venom just as with immune body.

The action of the serum fractions obtained by precipitation with carbonic acid gas.

The procedure adopted was that followed by Liefmann (13) which consists in the precipitation of a portion of the globulins by passing carbonic acid gas through serum

diluted with water. It is possible by this means to separate the serum into two fractions each of which by itself has very little complementing action for immune body, but which together act like the original serum. This "splitting" of complement is referred to later.

Serum diluted with 9 volumes of ice-cold distilled water was split by passing carbonic acid gas through the mixture for a period of 10 minutes and then allowing the whole to stand for some time, the tube containing the fluid being kept cool by immersion in chopped ice. The precipitate which formed was removed by centrifugalising. The clear supernatant fluid constitutes the albumin-fraction (end-piece), the NaCl-content of which was made up to 0.85 per cent. The precipitate (globulin-fraction, middle-piece) was washed once with water and dissolved in an amount of 0.85 per cent salt solution equivalent to twice the volume of the original serum.

The globulin solution was always used within an hour of its preparation so as to avoid complications due to its undergoing alteration [Brand's (2) modification of middle-piece].

Under favourable conditions it is found that an amount of either component by itself equivalent to many times that present in the haemolytic dose of native serum, fails to cause lysis of sensitised corpuscles; but a mixture of the two components in the original proportions is almost as active in its complementing action as the native serum (Table V). This result, however, is not constantly attained and frequently one fraction on the other has a marked complementing effect by itself. In a series of experiments the haemolytic action of each serum constituent was tested along with immune body and cobra venom. Examples are shown in Table V.

Table V.

The action of serum fractions (guinea-pig) obtained by CO₂.

Date of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body			
	untreated ser.	globulin fraction	albumin fraction	mixed fractions
9. V. 12	0.005 c. c. = complete	0.1 c. c. = nil	0.1 c. c. = nil	0.01 c. c. = complete
18. IV. 12	0.005 c. c. = complete	0.06 c. c. = marked	0.02 c. c. = complete	0.005 c. c. = almost complete
19. IV. 12	0.005 c. c. = complete	0.1 c. c. = very marked	0.02 c. c. = very marked 0.04 c. c. = complete	0.01 c. c. = very marked 0.02 c. c. = complete

Date of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 0.0005 gr. cobra venom			
	untreated ser.	globulin fraction	albumin fraction	mixed fractions
9. V. 12	0.005 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.1 c. c. = trace	0.01 c. c. = complete
18. IV. 12	0.005 c. c. = complete	0.06 c. c. = trace	0.06 c. c. = trace	0.02 c. c. = almost complete
19. IV. 12	0.01 c. c. = complete	0.02 c. c. = complete	0.1 c. c. = trace	0.005 c.c. = complete

Note: In this and in subsequent tables the amounts of the serum fractions are indicated by the quantities of the whole serum from which they are derived.

It is clear that the effects are variable. Where separation is not successful there is no constant relationship between the action of a particular fraction with immune body and with venom. The most uniform result is that the globulin fraction is without action either with immune body or with venom. The haemolytic action with venom, as with immune body, is usually practically completely restored on mixing the two fractions.

The complementing action can also be restored both for immune body and for venom by adding to the albumin fraction of guinea-pig's serum, globulin of rabbit, horse and ox serum (v. Table VI p. 12). This has already been noted by Braun with regard to the complementing of immune body.

The restoration of complementing action by the addition of serum fractions to treated serum.

Serum deprived of its complementing action by the procedures described above was mixed with (1) the globulin fraction (middle-piece) and (2) the albumin fraction (end-piece) of the same specimen of serum; the degree of restoration of complementing effect was then tested. By way of control, the action of each constituent by itself and of the mixture of the two was always observed at the same time.

In the tables which illustrate our results we have as a rule shewn the action of only one or two quantities of the various components. Thus, in the case of inactive fractions

Table VI.

Effect of globulin fractions of the sera of rabbit, horse and ox in causing haemolysis along with the albumin fraction of guinea-pig's serum.

Date of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body				
	Whole serum		Albumin fraction of guinea-pig	Globulin fraction of rabbit	Mixture of the two fractions
	guinea-pig	rabbit			
1. IV. 1912	0.01 c. c. = complete	0.12 c. c. = complete	0.08 c. c. = almost complete	0.08 c. c. = nil	0.01 c. c. = complete
	guinea-pig	horse	guinea-pig	horse	mixture
1. V. 1912	0.0075 c. c. = complete	0.25 c. c. = nil	0.02 c. c. = trace 0.1 c. c. = almost complete	0.1 c. c. = nil	0.005 c. c. = marked 0.04 c. c. = almost complete
	guinea-pig	ox	guinea-pig	ox	mixture
2. V. 1912	0.005 c. c. = complete	0.5 c. c. = nil	0.1 c. c. = trace	0.1 c. c. = nil	0.02 c. c. = very marked 0.04 c. c. = complete

Date of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 0.0005 gr. cobra venom				
	Whole serum		Albumin fraction of guinea-pig	Globulin fraction of rabbit	Mixture of the two fractions
	guinea-pig	rabbit			
1. IV. 1912	0.01 c. c. = complete	1.0 c. c. = nil	0.08 c. c. = trace	0.08 c. c. = nil	0.01 c. c. = complete
	guinea-pig	horse	guinea-pig	horse	mixture
1. V. 1912	0.005 c. c. = complete	0.25 c. c. = almost complete	0.1 c. c. = distinct	0.1 c. c. = trace	0.005 c. c. = complete
	guinea-pig	ox	guinea-pig	ox	mixture
2. V. 1912	0.005 c. c. = complete	0.5 c. c. = nil	0.06 c. c. = distinct 0.1 c. c. = marked	0.1 c. c. = nil	0.02 c. c. = complete

Controls: The mixtures of serum components by themselves, in the absence of immune body or venom, had no lytic effect on the test blood suspension.

Note: In the case of the mixtures, 0.01 c. c., 0.02 c. c. indicate the mixtures of the globulin fraction derived from 0.01 c. c., 0.02 c. c. whole serum along with the albumin fraction derived from the same amounts of whole serum respectively.

or combinations we have only set down the absence of effect with the largest amounts tested. Of course, in every instance the action of varying amounts of the constituents was tested, starting with small quantities equivalent to the amounts present in about one dose of the most active sera. In no instance has a zone effect been seen under the conditions which we have observed, similar to that described by Ledingham and Dean (12) when studying haemolysis due to a constant amount of end-piece along with varying amounts of middle-piece. Accordingly, there is no fallacy of this description concealed in the tables.

Serum treated with stromata and immune body.

Table VII shows the results. Activation for immune body was brought about in some experiments (1) by end-piece alone, (2) by both middle-piece and end-piece.

Table VII.

The effect of serum fractions in restoring the action of serum after treatment with sensitised ox stromata.

Date of experiment	Lysis of 0.5 c.c. ox blood suspension + 5 doses of immune body	
13. II. 12	untreated ser. 0.006 c.c. = compl. treated serum 0.1 c.c. = trace globulin fract. 0.1 c.c. = nil albumin fract. 0.1 c.c. = nil	0.025 c.c. treated serum + globulin fract. 0.1 c.c. = nil + albumin fract. 0.01 c.c. = compl.
6. II. 12	untreated ser. 0.01 c.c. = compl. treated serum 0.05 c.c. = trace 0.1 c.c. = mark. globulin fract. 0.04 c.c. = nil 0.1 c.c. = dist. albumin fract. 0.1 c.c. = nil	0.025 c.c. treated serum + globulin fract. 0.01 c.c. = complete lysis + albumin fract. 0.01 c.c. = complete lysis

Serum treated with red corpuscles and immune body.

In some cases (Table VIII, Exp. No. I) neither component effected activation [this is considered to be the rule by Skwirsky (28)]; in other experiments end-piece alone caused restoration (No. II) or again, end-piece had marked and middle-piece slight action (No. III).

Table VIII.

Effect of serum fractions in restoring the action of serum after treatment with sensitised ox blood corpuscles.

No. of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body	
I	untreated ser. 0.005 c.c. = compl. treated serum 0.05 c. c = trace 0.08 c. c. = mark. globulin fract. 0.1 c. c. = trace albumin fract. 0.1 c. c. = nil	treated serum 0.025 c. c. + globulin fract. 0.1 c. c. = nil + albumin fract. 0.1 c. c. = nil
II	untreated ser. 0.006 c.c. = compl. treated serum 0.1 c. c. = nil globulin fract. 0.1 c. c. = nil albumin fract. 0.1 c. c. = nil	treated serum 0.025 c. c. + globulin fract. 0.1 c. c. = nil + albumin fract. 0.01 c. c. = complete
III	untreated ser. 0.005 c.c. = compl. treated serum 0.1 c. c. = distinct globulin fract. 0.1 c.c. = distinct albumin fract. 0.1 c.c. = distinct	treated serum 0.025 c. c. + globulin fract. 0.06 c. c. = almost complete + albumin fract. 0.01 c. c. = complete

Serum treated with staphylococci.

Here also the results showed variation and there was no correspondence between the restoration of complement action for immune body and for venom (Table IX p. 15). Thus in one experiment (No. I) both middle-piece and end-piece restored the complementing action for immune body but not for venom, and in another experiment (No. II) middle-piece restored the action markedly for immune body but not for venom. Similar irregularities have been noted by Sachs and Bolkowska (25) in the effect of the serum fractions in restoring the complementing action of serum which has been treated with water.

Filtered serum.

Filtered serum was not activated for immune body or venom by either component.

The constitution of complement.

Originally complement was regarded merely as an inseparable property of fresh serum. Later observers have found, however, that when a portion of the globulin is precipitated by various procedures [dialysis — Ferrata (6), Brand (2); the addition of HCl — Sachs and Altmann (24); carbonic

Table IX.
Effect of serum fractions in restoring the action of serum after treatment with staphylococcus emulsion.

No. of experiment	Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body		Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 0.0005 gr. cobra venom	
I	untreated serum 0.01 c. c. = complete	treated serum 0.025 c. c. + globulin fraction 0.04 c. c. = very marked, 0.06 c. c. = complete	untreated serum 0.01 c. c. = complete	treated serum 0.025 c. c. + globulin fraction 0.1 c. c. = trace
	treated serum 0.1 c. c. = nil globulin fraction 0.1 c. c. = nil albumin fraction 0.06 c. c. = distinct globulin + albumin fractions 0.01 c. c. of each = complete	+ albumin fraction 0.01 c. c. = complete	treated serum 0.1 c. c. = nil globulin fraction 0.06 c. c. = distinct, 0.1 c. c. = complete albumin fraction 0.1 c. c. = nil globulin + albumin fractions 0.01 c. c. of each = complete	+ albumin fraction 0.1 c. c. = trace
II	untreated serum 0.007 c. c. = complete	treated serum 0.025 c. c. + globulin fraction 0.025 c. c. = complete	untreated serum 0.007 c. c. = complete	treated serum 0.025 c. c. + globulin fraction 0.1 c. c. = marked
	treated serum 0.05 c. c. = very marked globulin fraction 0.025 c. c. = trace 0.05 c. c. = marked albumin fraction 0.025 c. c. = complete	+ albumin fraction 0.025 c. c. = complete	treated serum 0.05 c. c. = trace, 0.1 c. c. = distinct globulin fraction 0.05 c. c. = nil, 0.1 c. c. = marked albumin fraction 0.1 c. c. = trace	+ albumin fraction 0.05 c. c. = very marked

acid gas — Liefmann (13)] the two resulting fractions of the serum may separately have no haemolytic action on immunised corpuscles at all comparable with that of the whole serum, but on mixing the two components in the original proportions the complementing activity is quantitatively restored. The component of complement which is present in the globulin precipitate becomes attached to red corpuscles in the presence of immune body. Similarly, red corpuscles along with a large amount of immune body remove the same component from whole serum at 0° C (Sachs and Bolkowska); or the fixation of this constituent may be effected at a higher temperature in the presence of a mixture containing acid

sodium phosphate which prevents the combination of the whole complement and consequently inhibits haemolysis (Michaelis and Skwirsky, 15, 28). Even in the absence of immune body isotonic cane sugar solution may cause the middle-piece component to become attached to red corpuscles (Guggenheimer, 8). Corpuscles thus treated do not spontaneously undergo lysis at 37° C, but are haemolysed on the addition of the albumin fraction of serum. Thus, the globulin fraction has been termed "middle-piece" and the albumin fraction "end-piece", and the sensitised corpuscles which have fixed middle-piece are said to be "persensitised".

It has already been seen that precipitation of the globulin does not always result in two fractions each of which is by itself inactive. This has frequently been noted. The simultaneous employment of two criteria for testing the action of the serum fractions, namely blood plus immune body and blood plus venom, has brought out the striking fact that there is no constant correlation between the effects of the globulin and the albumin fractions by themselves. It has also been seen that the effect of the serum fractions in restoring the activity of complement which has been treated with various absorbing agents is quite irregular. Accordingly it is evident that such a method for the analysis of complementing action does not yield a satisfactory insight into the nature of the processes involved. It has been found that the variations noted above are not due to minute differences in the procedure of preparing the serum-fractions. The cause of such differences is at present being investigated. If any conclusion may be drawn from the experiments described above it is that the complementing power of a serum depends on the interaction of many factors and that the so-called middle-piece and end-piece do not represent constant entities. The complexity of complement action is further supported by the observations of Cruickshank and Mackie (5). These workers shewed that if a preparation of egg-yolk lecithin in alcoholic solution is added to guinea-pig's serum which is then split by carbonic acid gas, the resulting lecithin-albumin fraction possesses quantitatively the complementing power of the original serum and at the same time the lecithin-globulin fraction

retains its power of restoring the haemolytic action of ordinary end-piece.

Ritz, as above noted, has recently observed that serum which has been deprived of its complementing effect for immune body by digestion with cobra venom, is reactivated by the addition of guinea-pig's serum or serum fractions heated at 54° C. (see also Husler, 9). We have confirmed this and have found further that the albumin fraction (end-piece) of rabbit's serum which along with the globulin fraction of guinea-pig's serum did not complement immune body (as other workers have also found, v. Braun) also restored the action of guinea-pig's serum which had been treated with venom. This result was obtained even when the rabbit's albumin fraction had been heated at 54° C. (v. Table X).

1 c. c. of fresh rabbit's serum was diluted with 9 c. c. of distilled water, the globulin fraction was then separated by passing carbon di-oxide gas through the cooled mixture as described above. The NaCl content of the albumin fraction was made up to 0.85 per cent and it was then heated for 1/2 hour at 54° C. The complementing action of 0.5 c. c. guinea-pig's serum was removed by adding 0.2 c. c. 1/10 per cent. solution of cobra venom and incubating for 1 1/4 hours at 37° C. The mixture was then diluted with 4.5 c. c. 0.85 per cent NaCl-solution to prevent further action of the venom.

Table X.

Lysis of 0.5 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body			
Untreated serum	Serum treated with cobra venom	Albumin fraction of rabbit's serum (1/2 hour 54° C)	Mixture of treated serum + heated albumin fraction (Rabbit's serum)
0.005 c. c. = complete	0.1 c. c. = distinct	0.25 c. c. = nil	0.01 c. c. of each component = complete

Ritz ascribes this effect of heated serum to a "third component" which is destroyed by venom. It is doubtful, however, if the assumption of an additional "third component" can explain all the phenomena above described.

The latest hypothesis regarding the "splitting" of complement is that of Bronfenbrenner and Noguchi (4). The whole complement is supposed by them to be present in the albumin fraction, but in an inactive form, owing to the

action of carbonic acid in combining with the amphoteric molecules in which the complement activity resides. They claim that the complementing activity of the end-piece by itself may be restored by the addition of alkali. We, however, have repeatedly failed to restore the action of the albumin fraction by alkali, although at the same time the mixture of globulin and albumin fractions produced an effect as active as that of the whole serum (v. table XI); the controls Nos. 4 and 5 shewed that the lysis in the highest tubes was due to the alkali present.

Table XI.

In each tube 0.25 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body, along with 0.25 c. c. albumin fraction of guinea-pig's serum (diluted 1:10) and with varying amounts of NaOH solution (normal NaOH diluted with 0.85 per cent. NaCl-solution).

Amounts of caustic soda				
$n/_{100}$ 0.015 c. c.	$n/_{100}$ 0.03 c. c.	$n/_{100}$ 0.05 c. c.	$n/_{100}$ 0.075 c. c.	$n/_{100}$ 0.1 c. c.
faint trace	faint trace	faint trace	trace	trace

Amounts of caustic soda				
$n/_{10}$ 0.015 c. c.	$n/_{10}$ 0.02 c. c.	$n/_{10}$ 0.035 c. c.	$n/_{10}$ 0.05 c. c.	$n/_{10}$ 0.08 c. c.
trace	distinct	marked	almost complete	complete

Controls.

- No. 1: albumin fraction 0.25 c. c. + 0.25 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body = trace of lysis.
 No. 2: globulin fraction 0.025 c. c. + 0.25 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body = trace of lysis.
 No. 3: albumin fraction 0.25 c. c. + globulin fraction 0.01 c. c. + 0.25 c. c. ox blood suspension + 5 doses of immune body = complete.
 No. 4: albumin fraction 0.25 c. c. + $n/_{10}$ NaOH 0.05 c. c. + 0.25 c. c. ox blood suspension (no immune body) = almost complete lysis
 No. 5: albumin fraction 0.25 c. c. + $n/_{10}$ NaOH 0.08 c. c. + 0.25 c. c. ox blood suspension (no immune body) = complete lysis.

Zusammenfassung.

- 1) Die Behandlung von Meerschweinchenserum mit sensibilisierten Blutkörperchen oder sensibilisierten Stromata, die

die Komplementwirkung für Immunkörper entfernt, läßt die Fähigkeit zusammen mit Cobragift Hämolyse zu bewirken, fast ungeändert. Dieses Resultat liefert den Beweis, daß das mit Immunkörper zusammenwirkende Komplement und die Serumkomponente, die mit Cobragift Hämolyse hervorruft, sicherlich nicht identisch sind.

2) Komplementhaltiges Serum, das mit Bakterienaufschwemmung oder mit Wasser behandelt wurde, zeigt nachher keine konstante Korrelation zwischen seiner Immunkörper komplettierenden Wirkung und seiner hämolytischen Kraft zusammen mit Cobragift.

3) Die Filtrierung des frischen Serums durch eine Berkefeldkerze beraubt es seiner hämolytischen Wirkung mit Cobragift sowie mit Immunkörper.

4) Durch Kohlensäurespaltung kann das Serum in zwei Fraktionen zerlegt werden, von denen jede in großen Dosen zusammen mit Cobragift keine hämolytische Wirkung zu entfalten vermag, aber beide zusammen quantitativ wie das native Serum wirken. Die Immunkörperkomplettierung und die Cobragifthämolyse zeigen einen engen Parallelismus in dieser Beziehung.

5) Die restituierende Wirkung der Serumfraktionen auf mit komplementabsorbierenden Mitteln behandeltes Serum ist eine unregelmäßige.

6) Falls die nach der Kohlensäuremethode gewonnenen Fraktionen nicht jede an und für sich ganz unwirksam sind, zeigt sich kein konstantes Verhältnis zwischen der Immunkörper komplettierenden Wirkung und der Cobragifthämolyse jeder Fraktion.

7) Die Restitution der Komplementwirkung durch Alkali-zusatz zu der mit Kohlensäure gewonnenen Albuminfraktion des Serums gelang nicht.

8) Die oben geschilderten Versuche, zusammen mit den Beobachtungen von Cruickshank und Mackie, deuten darauf hin, daß mehr Faktoren bei der Komplementwirkung des Serums beteiligt sind als bisher angenommen wurde.

References.

- 1) Bezzola, *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig.*, Bd. 46, 1908, p. 433.
- 2) Brand, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 34.
- 3) Braun, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 31, 1911, p. 65.
- 4) Bronfenbrenner and Noguchi, *Journ. of Exper. Med. New York*, Vol. 15, 1912, p. 598.
- 5) Cruickshank und Mackie, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 42, p. 414; und *Journ. of Path. and Bact.*, Vol. 17, 1912, p. 116.
- 6) Ferrata, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 13.
- 7) Flexner and Noguchi, *Journ. of Exper. Med.*, Vol. 2, 1902, p. 277.
- 8) Guggenheimer, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 8, 1910, p. 295.
- 9) Husler, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 15, 1912, p. 157.
- 10) Kyes, v. Ehrlich's Studies on Immunity, New York, 1910, p. 291, also *Journ. of Infect. Diseases. Chicago*, Vol. 7, 1910, p. 181.
- 11) Kyes and Sachs, v. Ehrlich's Studies on Immunity, New York, 1910, p. 443.
- 12) Ledingham and Dean, *Journ. of Path. and Bact.*, Vol. 16, 1912, p. 386, and *Journ. of Hygiene*, Vol. 12, 1912, p. 152.
- 13) Liefmann, *Münch. med. Wochenschr.*, 1909, p. 2097.
- 14) Manwaring, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 6, 1910, p. 513.
- 15) Michaelis und Skwirsky, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 4, 1909, p. 357 and Bd. 4, 1910, p. 629.
- 16) Morgenroth und Kaya, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 8, 1908, p. 379; *Ibid.*, Bd. 25, 1910, p. 88.
- 17) Muir, *Journ. of Path. and Bact.*, Vol. 16, 1912, p. 523.
- 18) — *Studies on Immunity*, Oxford 1909.
- 19) — and Martin, v. *Studies on Immunity*, Oxford 1909.
- 20) Omorokow, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 10, 1911, p. 285.
- 21) Ritz, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 13, 1912, p. 62.
- 22) Ross, *Journ. of Mental Science*, Vol. 57, 1911, p. 34.
- 23) Sachs, *Münch. med. Wochenschr.*, 1908, p. 437.
- 24) — und Altmann, v. Sachs, *Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsf.*, Bd. 2, 1909, p. 969.
- 25) — und Bolkowska, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 7, 1910, p. 778.
- 26) — und Omorokow, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 11, 1911, p. 710.
- 27) — und Teruuchi, *Berl. klin. Wochenschr.*, No. 16, 17 and 19, 1907.
- 28) Skwirsky, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 5, 1910, p. 538.
- 29) Stephens, *Journ. of Path. and Bact.*, Vol. 6, 1900, p. 273.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit
in Berlin.]

Ueber die Inaktivierung der Komplemente durch Schütteln.

Von Dr. **M. Kashiwabara** aus Takamatsu (Japan).

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Dezember 1912.)

Die Beobachtung von Jacoby und Schütze¹⁾, daß das hämolytische Komplement des Meerschweinchenserums durch Schütteln inaktiviert wird, ist von zahlreichen Autoren bestätigt worden. Der Mechanismus der Inaktivierung ist bisher noch nicht hinreichend aufgeklärt. Jacoby und Schütze hatten gefunden, daß das inaktive Schüttelserum sowohl durch die Endstück- wie durch die Mittelstückfraktion aktivierbar ist. Inzwischen haben Sachs und seine Mitarbeiter entdeckt, daß bei der Komplementfunktion außer dem Endstück und dem Mittelstück noch eine dritte Komponente mitwirkt. So lag es nahe, zu prüfen, ob vielleicht diese dritte Komponente durch das Schütteln ausgeschaltet wird. Bei meinen Untersuchungen, welche den Mechanismus der Schüttelinaktivierung weiter klären sollten, habe ich zunächst auf diesen Punkt mein Augenmerk gerichtet. Wenn ich jetzt, obgleich ich eine befriedigende Analyse des Mechanismus der Schüttelinaktivierung nicht geben kann, über meine Resultate kurz berichte, so geschieht das im Hinblick auf eine soeben erschienene Arbeit von Ritz, welche sich in wesentlichen Punkten mit meinen Beobachtungen deckt, aber außerdem nach verschiedenen Richtungen die Frage der Schüttelinaktivierung fördert.

Ritz²⁾ bestätigt die Inaktivierung durch Schüttelung sowie die Aktivierbarkeit des Schüttelserums durch Endstück und Mittelstück. Er fand ferner, daß die von Jacoby und Schütze angewandte, zehnfache Serumverdünnung die optimale Verdünnung für die Schüttelinaktivierung darstellt. Auch

1) Berlin klin. Wochenschr., 1909, No. 48 und Zeitschr. f. Immunitätsf., Ed. 4, 1910, No. 6.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, 1912, H. 2 und 3.

überzeugte sich Ritz in Uebereinstimmung mit den Autoren davon, daß eingefrorenes Serum seine Schüttelinaktivierbarkeit nicht verloren hat. Ritz hat die Schüttelung in Uhlenhuth's Kinotherm, also im Wasserbade vorgenommen, wobei bereits in 25 Minuten eine vollkommene Inaktivierung erfolgte. Es zeigte sich, daß die Inaktivierung des Komplementes von dem Größenverhältnis zwischen Inhalt des Gefäßes und der Menge der geschüttelten Flüssigkeit abhängig ist. Diese Beobachtung kann ich bestätigen. Während nämlich Jacoby und Schütze nur ganz ausnahmsweise Mißerfolge bei der Schüttelinaktivierung hatten, ebenso ich selbst im Anfange, mißlang mir in einer späteren Versuchsserie mehrfach die Inaktivierung. Bei diesen Versuchen hatte ich relativ große Serumquantitäten in den einzelnen Gefäßen geschüttelt. Als ich wieder zu kleineren Quantitäten zurückkehrte, hatte ich wieder gleichmäßige Resultate. Ich habe allerdings den Eindruck gewonnen, als ob es vereinzelte Sera gibt, deren Inaktivierung überhaupt etwas abnorm verläuft. Während Jacoby und Schütze von acht darauf bezüglichen Versuchen nur bei zwei Fällen in Jenenser Kolben eine Schüttelinaktivierung erreichten, mißlang sie Ritz nie.

Besonders wichtig erscheint die Feststellung von Ritz, daß bei Kinothermschüttelung die Schüttelinaktivierung in zwei Phasen verläuft. Bereits in der ersten wird das Komplement schon inaktiv. Während es aber in der ersten Phase noch durch Endstück und Mittelstück aktivierbar ist, ist das in der zweiten Phase nicht mehr der Fall. Ritz hat auch Versuche mit der dritten Serumkomponente angestellt und „erzielte in einigen Versuchen eine gewisse Aktivierung durch thermoinaktives Serum“. Da Ritz diesen Punkt noch nicht für geklärt ansieht und über diese Frage keine Protokolle mitteilt, so möchte ich einige meiner Protokolle hier wiedergeben.

I.

Allgemeine Versuchsanordnung.

Frisch gewonnenes Meerschweinchenserum wird mit 0,85-proz. Kochsalzlösung je nach dem einzelnen Versuche auf das 10- oder 20-fache verdünnt, die Flüssigkeit in entsprechende Portionen geteilt, von welchen einige 1½ oder 2 Stunden im Brutschrank geschüttelt wurden, während die anderen in demselben Brutschrank ruhig standen.

Die Brutschranktemperatur überstieg nie 38,5° C. Die Hitzeinaktivierung wurde so vorgenommen, das frisch gewonnenes Meerschweinchenserum mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf das 10-oder 20-fache verdünnt und 30 Minuten lang im Wasserbade, bei der im einzelnen Versuche angegebenen Temperatur gehalten wurde.

Als Ambozeptor benutzte ich ein bereits längere Zeit im Laboratorium aufbewahrtes Immunsrum, welches schon früher Herr Dr. Ohta für Hämolyseversuche verwendet hatte. Anfangs benutzte ich die Ambozeptorverdünnung 1 : 10 000, später 1 : 5000.

Versuch I.

Schüttelzeit 2 Stunden. Verdünnung 1 : 20. Inaktivierung 30 Minuten bei 50,7—51° C. Verdünnung 1 : 20. Auffüllung überall auf 3 ccm.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1 : 20) Schüttelserum.

Inaktiv. Serum 1 : 20	Resultat	Inaktiv. Serum 1 : 20	Resultat
0,0	0	0,4	fast komplett
0,1	0	0,5	" "
0,2	Spur	0,6	" "
0,3	inkomplett	0,7—1,0	"komplett"

Tabelle B.

Kontrollserum 1 : 20	Resultat	Kontrollserum 1 : 20	Resultat
0,0	0	0,3	fast komplett
0,1	0	0,4	" "
0,2	inkomplett	0,5—1,0	"komplett"

Tabelle C.

Inaktiv. Serum 1 : 20	Resultat	Inaktiv. Serum 1 : 20	Resultat
0,0—0,4	0	0,8	fast komplett
0,5	inkomplett	0,9	" "
0,6	fast komplett	0,1	"komplett"
0,7	" "		

Versuch II.

Schüttelzeit 2 Stunden. Verdünnung 1 : 20. Inaktivierung 30 Minuten bei 51,7—52° C. Verdünnung 1 : 20. Auffüllung überall auf 4 ccm.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1 : 20) Schüttelserum.

Inaktiv. Serum 1 : 20	Resultat	Inaktiv. Serum 1 : 20	Resultat
0,0—0,2	0	0,7	fast komplett
0,3	inkomplett	0,8	" "
0,4	fast "	0,9	"komplett"
0,5	komplett	1,0	"komplett"
0,6	" "		

Tabelle B.

Kontrollserum 1:20	Resultat	Kontrollserum 1:20	Resultat
0,0	0	0,3	inkomplett
0,1	0	0,4	"
0,2	Spur	0,5—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

Versuch III.

Anordnung wie Versuch II.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:20) Schüttelserum.

Inaktiv. Serum 1:20	Resultat	Inaktiv. Serum 1:20	Resultat
0,0	0	0,6	fast komplett
0,1	Spur	0,7	" "
0,2	"	0,8	" "
0,3	inkomplett	0,9	" "
0,4	"	1,0	komplett
0,5	"		

Tabelle B.

Kontrollserum 1:20	Resultat	Kontrollserum 1:20	Resultat
0,0	0	0,3	inkomplett
0,1	0	0,4	fast komplett
0,2	Spur	0,5—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

Versuch IV.

Anordnung wie Versuch II.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:20) Schüttelserum.

Inaktiv. Serum 1:20	Resultat	Inaktiv. Serum 1:20	Resultat
0,0	0	0,6	fast komplett
0,1	Spur	0,7	" "
0,2	"	0,8	" "
0,3	gering	0,9	" "
0,4	inkomplett	1,0	komplett
0,5	fast komplett		

Tabelle B.

Kontrollserum 1:20	Resultat	Kontrollserum 1:20	Resultat
0,0	0	0,4	fast komplett
0,1	0	0,5	" "
0,2	inkomplett	0,6	" "
0,3	fast komplett	0,7—1,0	komplett

Tabelle C.

Inaktiviertes Serum 1:20	Resultat
0,1—0,8	0
0,9	Spur
1,0	inkomplett

D. Schüttelserum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

Versuch V.

Inaktivierung 30 Minuten bei 51,7—52,0° C. Verdünnung 1:10. Auffüllung auf 3 ccm.

Tabelle.

Inaktiv. Serum 1:10	Resultat	Inaktiv. Serum 1:10	Resultat
0,0—0,2	0	0,7	inkomplett
0,3	Spur	0,8	„
0,4	„	0,9	fast „
0,5	„	1,0	„
0,6	inkomplett		„

Wiederholung des Versuches ergab das gleiche Resultat.

Versuch VI.

Schüttelzeit 1 $\frac{1}{2}$ Stunde. Verdünnung 1:10. Inaktivierung 30 Min. bei 52,2—52,5° C. Ambozeptor 1:5000 (abgeschwächt). Auffüllung auf 3 ccm.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:10) Schüttelserum.

Inaktiv. Serum 1:10	Resultat	Inaktiv. Serum 1:10	Resultat
0,0	0	0,6	fast komplett
0,2	fast komplett	0,8	„
0,4	„	1,0	„

Tabelle B.

Inaktiv. Serum 1:10	Resultat	Inaktiv. Serum 1:10	Resultat
0,0	0	1,2	Spur
0,2	0	1,4	inkomplett
0,4	0	1,6	fast komplett
0,6	0	1,8	„
0,8	Spur	2,0	„
1,0	„		„

Versuch VII.

Inaktivierung 30 Minuten 52,8—53,0° C. Verdünnung 1:10. Auffüllung auf 3 ccm.

Inaktiviertes Serum 1:10 0,2—2,0 keine Hämolyse.

Versuch VIII.

Schüttelzeit 2 Stunden. Verdünnung 1:20. Inaktivierung 30 Minuten bei 52,8—53,0° C. Verdünnung 1:10. Auffüllung auf 3 ccm.

A. Jede Probe enthält 1 ccm (1:20) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum 1:10 0,0—1,0 keine Hämolyse.

Tabelle B.

Kontrollserum 1:20	Resultat	Kontrollserum 1:20	Resultat
0,0	0	0,4	fast komplett
0,1	Spur	0,5	"komplett"
0,2	"	0,6—1,0	"komplett"
0,3	inkomplett		

C. Inaktiviertes Serum 1:10 0,2—1,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

Versuch IX.

Anordnung wie Versuch VIII.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:20) Schüttelserum.

A. Inaktiviertes Serum 1:20 0,2—1,0 keine Hämolyse.

Tabelle B.

Kontrollserum 1:20	Resultat	Kontrollserum 1:20	Resultat
0,0	0	0,4	inkomplett
0,1	Spur	0,5	fast komplett
0,2	"	0,6—1,0	komplett
0,3	inkomplett		

C. Inaktiviertes Serum 1:10 0,2—1,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

Versuch X.

Schüttelzeit 1½, Stunde. Verdünnung 1:10. Inaktivierung 30 Min. bei 52,8—53,0° C. Verdünnung 1:10. Auffüllung überall auf 3 ccm.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:10) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum 1:10	Resultat
0,0	0
0,2	inkomplett
0,4	"
0,6—1,0	fast komplett

Tabelle B.

Kontrollserum	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4—1,0	komplett

Inaktiviertes Serum 1:10 0,2—2,0 keine Hämolyse.

Schüttelserum 0,2—1,0 keine Hämolyse.

Versuch XI.

Anordnung wie Versuch X.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:10) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum (1:10)	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	fast komplett

Tabelle B.

Kontrollserum (1:10)	Resultat
0,0	0
0,2	fast komplett
0,4—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1:10 0,2—2,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1:10 0,2—1,0 keine Hämolyse.

Versuch XII.

Anordnung wie Versuch X.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:10) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum 1:10	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	fast komplett

B. Inaktiviertes Serum 1:10 0,2—2,0 keine Hämolyse.

C. Schüttelserum 1:10 1,2—2,0 keine Hämolyse.

Während in den eben geschilderten Versuchen Serum, das auf 60° C erhitzt war, eine deutliche Reaktivierung des Schüttelserums bewirkte, erhielt ich in 5 anderen Versuchen nur ein ganz geringfügiges oder sogar ein negatives Resultat, ohne daß ich den Grund angeben könnte.

Nach der inzwischen erschienenen Arbeit von Ritz muß man daran denken, daß in diesen Versuchen die Schüttelung eine intensivere Einwirkung auf das Komplement hatte als in den früheren Versuchen. Hervorzuheben wäre außerdem, daß in diesen 5 Versuchen der Ambozeptor etwas abgeschwächt war und daher seine Dosis verstärkt werden mußte. Jedoch muß es dahingestellt bleiben, ob das einen Einfluß auf die Resultate ausgeübt hat.

Versuch XIII.

Schüttelzeit 1½ Stunde. Verdünnung 1:10. Inaktivierung 30 Min. bei 53,7—54,0° C. Verdünnung 1:10. Auffüllung überall auf 3 ccm.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1:10) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum 1:10	Resultat
0,0	0
0,2	gering
0,4—1,0	inkomplett

Tabelle B.

Kontrollserum	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1 : 10 0,2—0,1 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1 : 10 0,2—1,0 keine Hämolyse.

Versuch XIV.

Anordnung wie Versuch XIII.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm (1 : 10) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	Spur
0,6—1,0	inkomplett

Tabelle B.

Kontrollserum 1 : 10	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1 : 10 0,2—1,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1 : 10 0,2—1,0 keine Hämolyse.

Versuch XV.

Anordnung wie Versuch XIII.

A. Jede Probe enthält 1 ccm (1 : 10) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum 1 : 10	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	fast komplett

Tabelle B.

Kontrollserum 1 : 10	Resultat
0,0	0
0,2	fast komplett
0,4—1,0	komplett

Versuch XVI.

Schüttelzeit 2 Stunden. Verdünnung 1 : 20. Inaktivierung 30 Minuten bei 54,5—55,0° C. Verdünnung 1 : 20. Auffüllung auf 4 ccm.

A. Jede Probe enthält 1 ccm (1 : 20) Schüttelserum.

Inaktiviertes Serum 1 : 20 0,0—1,0 keine Hämolyse.

Tabelle B.

Kontrollserum 1 : 20	Resultat
0,0	0
0,1	Spur
0,2	inkomplett
0,3	fast komplett
0,4—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1 : 20 0,1—1,0 keine Hämolyse

Versuch XVII.

Anordnung wie Versuch XVI.

A. Jede Probe enthält 1 ccm (1:20) Schüttelserum.
Inaktiviertes Serum 1:20 0,0—1,0 keine Hämolyse.

Tabelle B.

Kontrollserum 1:20	Resultat
0,0	0
0,1	Spur
0,2	inkomplett
0,3	fast komplett
0,4—1,0	komplett

C. Inaktiviertes Serum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

D. Schüttelserum 1:20 0,1—1,0 keine Hämolyse.

Wir haben also wie Ritz eine ganz unverkennbare Aktivierung des Schüttelserums durch thermoinaktives Serum in einer Reihe von Versuchen erzielt, die aber, wie erwähnt, in einigen Versuchen durchaus zu vermissen war. Bei dieser Inkonzanz der Versuchsergebnisse möchten wir durchaus Ritz beistimmen, daß das Wesen der Schüttelinaktivierung noch nicht völlig geklärt ist, daß man jedenfalls noch nicht berechtigt ist die Schüttelinaktivierung in einer Beseitigung der dritten Komponente mit Sicherheit zu suchen. Dafür, daß in den positiven Versuchen das sicher thermoinaktive Serum eine durch Schütteln verloren gegangene komplementäre Serumfunktion ersetzt hat, spricht der Umstand, daß das thermoinaktive Serum durch Schütteln seine aktivierende Eigenschaft verliert, wie ich in besonderen Versuchen festgestellt habe.

II.

In weiteren Versuchsreihen habe ich geprüft, ob bei der Schüttelung der isolierten Endstück- oder Mittelstückfraktion ihre Fähigkeit, Schüttelserum zu aktivieren, durch das Schütteln verloren geht. Zunächst konnte ich wie Ritz die Beobachtung von Jacoby und Schütze bestätigen, daß Endstück- und Mittelstück Schüttelserum aktivieren.

Versuch XVIII.

Nach den Angaben von Sachs wurde 1,5 ccm frisches Meerschweinenserum mit 12,3 ccm $\frac{1}{300}$ n.Salzsäure gemischt. Das Gemisch wird eine Stunde bei Zimmertemperatur belassen und dann zentrifugiert. Der Abguß wird durch ein trockenes Filter filtriert und dann durch Zusatz von

1,2 ccm 10-proz. Kochsalzlösung, welche $\frac{1}{30}$ n. Natronlauge enthält, neutralisiert und dann mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 15 ccm aufgefüllt.

Das Sediment wurde mit 5 ccm destillierten Wassers versetzt und dann durch Zusatz von 1,05 ccm 5-proz. Kochsalzlösung auf isotonischen Salzgehalt gebracht, endlich mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 15 ccm aufgefüllt.

Aus 1,5 cm Serum wurde somit je 15 ccm Endstück und 15 ccm Mittelstück dargestellt.

Außerdem wurde frisches Meerschweinchenserum 1:10 $1\frac{1}{2}$ Stunden im Brutschrank geschüttelt.

Auffüllung auf 3 ccm.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	Spur
0,6	"
0,8	inkomplett
1,0	fast komplett

Tabelle B.

Jede Probe enthält 1 ccm Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	Spur
0,2	inkomplett
0,4	"
0,6	"
0,8	"
1,0	fast komplett

Tabelle C.

Jede Probe enthält 1 ccm Schüttelserum 1:10.

Mittelstück	Resultat
0,0	0
0,2	fast komplett
0,4—1,0	komplett

Tabelle D.

Jede Probe enthält 1 ccm Schüttelserum 1:10.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	Spur
0,6—1,0	inkomplett

Tabelle E.

Kontrollserum	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	komplett

Versuch XIX.

Anordnung wie Versuch XVIII.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm Endstück = Endstück aus 1 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	Spur
0,2	fast komplett
0,4	"komplett"
0,6—1,0	"komplett"

Tabelle B.

Jede Probe enthält 1 ccm Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	inkomplett
0,4—1,0	komplett

Tabelle C.

Jede Probe enthält 1 ccm Schüttelserum 1 : 10.

Mittelstück	Resultat
0,0	0
0,2	inkomplett
0,4	komplett
0,6	"
0,8	fast komplett
1,0	komplett

Tabelle D.

Jede Probe enthält 1 ccm Schüttelserum 1 : 10.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	fast komplett
0,4	" 0 "
0,6—1,0	" 0 "

Versuch XX.

Darstellung des Mittelstücks und des Endstücks wie in Versuch XVIII. Anteile der Endstück- und Mittelstückfraktion, bevor sie auf isotonischen Salzgehalt gebracht werden und bevor die Endstückfraktion neutralisiert war, 1¹/₂ Stunden im Brutschrank geschüttelt und dann erst wie früher mit ihnen verfahren. Nach dem Schütteln war in diesem Versuche die Endstückfraktion klar geblieben, die Mittelstückfraktion blieb trübe.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum

Mittelstück	Resultat
0,0	0
0,2	inkomplett
0,4—1,0	fast komplett

Tabelle B.

Jede Probe enthält 1 ccm Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 ccm Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	inkomplett
0,4—1,0	fast komplett

Tabelle C.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0—1,0	0

Tabelle D.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 ccm Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	0
0,6	0
0,8	Spur
1,0	„

Tabelle E.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum.

Geschütteltes Mittelstück	Resultat
0,0—1,0	0

Tabelle F.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 ccm Serum.

Geschütteltes Endstück	Resultat
0,0—1,0	0

Versuch XXI.

Anordnung wie in Versuch XVIII und XX. Nur entspricht 1 ccm der Endstück- und Mittelstückfraktion sowie der Schüttel-Endstück- und Schüttel-Mittelstückfraktion 0,2 ccm Serum, da die Verdünnung hier anstatt 10-fach nur 5-fach gewählt wurde. Das Endstück trübte sich in diesem Versuche sehr beim Schütteln.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm Endstück = Endstück aus 0,2 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	komplett

Tabelle B.

Jede Probe enthält 1 ccm Mittelstück = Mittelstück aus 0,2 ccm Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	inkomplett
0,4	fast komplett
0,6—1,0	komplett

Tabelle C.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Endstück = Endstück aus 0,2 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	0
0,2	gering
0,4—1,0	inkomplett

Tabelle D.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Mittelstück = Mittelstück aus 0,2 ccm Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	inkomplett
0,6—1,0	fast komplett

Tabelle E.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Endstück = Endstück aus 0,2 ccm Serum.

Geschütteltes Mittelstück	Resultat
0,0—1,0	0

Tabelle F.

Jede Probe enthält geschütteltes Mittelstück = Mittelstück aus 0,2 ccm Serum.

Geschütteltes Endstück	Resultat
0,0—1,0	0

Tabelle G.

Kontrollserum	Resultat
0,0	0
0,2—1,0	komplett

Versuch XXII.

In diesem Versuche wurden die Fraktionen nach Liefmann durch Kohlensäureeinleitung hergestellt: 1,5 ccm frisches Serum werden mit 6 ccm destillierten Wassers verdünnt, dann 5 Minuten Kohlensäure eingeleitet, endlich zentrifugiert. Der Abguß wird mit 1,5 ccm 5-proz. Kochsalzlösung versetzt und dann mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 15 ccm aufgefüllt. Das Sediment wird in 3 ccm Wasser aufgeschwemmt, 0,6 ccm 5-proz. Kochsalzlösung zugefügt und schließlich wird mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 15 ccm aufgefüllt. Die Schüttelung der Fraktionen erfolgt wie früher.

Tabelle A.

Jede Probe enthält 1 ccm Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	Spur
0,2	inkomplett
0,4—1,0	fast komplett

Tabelle B.

Jede Probe enthält 1 ccm Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 ccm Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	inkomplett
0,6	fast komplett
0,8	komplett
1,0	"

Tabelle C.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum.

Mittelstück	Resultat
0,0	Spur
0,2	gering
0,4—1,0	inkomplett

Tabelle D.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Mittelstück = Mittelstück aus 0,1 ccm Serum.

Endstück	Resultat
0,0	0
0,2	0
0,4	Spur
0,6	gering
0,8	fast komplett
1,0	" "

Tabelle E.

Jede Probe enthält 1 ccm geschütteltes Endstück = Endstück aus 0,1 ccm Serum.

Geschütteltes Mittelstück	Resultat
0,0—1,0	0

Aus diesen Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß jede Komplementwirkung aufgehoben ist, wenn sowohl das isolierte Mittelstück wie das isolierte Endstück geschüttelt wird. Wird nur die eine Fraktion geschüttelt, so war meistens Komplementwirkung zu erhalten, namentlich wenn hinreichend große Konzentration der Fraktionen gewählt wurde. Aus diesen Versuchen kann man entnehmen, daß ein Faktor der Komplementfunktionen, der von dem Endstück und Mittelstück als solchen unabhängig ist, durch das Schütteln außer Funktion gesetzt wird. Ist eine der Funktionen intakt, so genügt die Beimengung dieses Faktors zu der betreffenden Fraktion um die Wirkung zu ermöglichen.

Ohne daß diese Erklärung endgültig sein soll, ist es vielleicht doch nützlich, sie durch ein Schema zu erläutern. Wir nennen Endstück a, Mittelstück b und nehmen an, daß beiden ein beim Schütteln verloren gehender Faktor beige- mengt ist; es besteht also die Endstückfraktion aus $a + c$, die Mittelstückfraktion aus $b + c$. Wird nun nur eine Fraktion geschüttelt, so kann eventuell das c der anderen zur Hämolyse ausreichen, werden aber beide geschüttelt, so geht alles c verloren und die Hämolyse unterbleibt.

Es sei aber ausdrücklich betont, daß vielleicht auch andere Deutungen der Befunde möglich sind.

Die Untersuchung muß nach verschiedenen Richtungen fortgesetzt werden. Weitere Versuche sind im hiesigen Laboratorium im Gange, über die vielleicht später wird berichtet werden.

Zusammenfassung.

1) Thermoinaktives Serum aktiviert in vielen Fällen Schüttelserum. Da diese Aktivierung jedoch nicht ganz konstant erfolgt, ist man, in Uebereinstimmung mit der Ansicht von Ritz, noch nicht berechtigt, die Schüttelinaktivierung als eine Beseitigung der dritten Komponente des Komplementes aufzufassen. Die Inkonzanz der Aktivierungsversuche erklärt sich vielleicht aus der von Ritz gefundenen Tatsache, daß die Schüttelinaktivierung in zwei Etappen erfolgt.

2) Mittelstück- und Endstückfraktion aktiviert Schüttel- serum, wie in Bestätigung von Jacoby und Schütze, sowie von Ritz gefunden wurde.

3) Isolierte Schüttelung der Mittelstück- und Endstück- fraktionen bewirkt, daß die vereinigten Fraktionen inaktiv sind. Bei Mischung einer geschüttelten Fraktion mit der anderen ungeschüttelten Fraktion kann bei hinreichender Kon- zentration noch aktives Komplement entstehen. Offenbar muß eine von Endstück und Mittelstück als solche unabhängige Serumfraktion, die durch Schütteln zerstört wird, erhalten bleiben.

4) Serum, welches nacheinander geschüttelt und dann auf 53° erhitzt wurde, ist nicht imstande Schüttelserum zu akti- vieren.

Nachdruck verboten.

[Institut de Bactériologie de Louvain (Directeur Prof. J. Denys).
Laboratoire du Prof. R. Bruynoghe.]

De l'importance respective des deux constituants de l'alexine dans le phénomène de l'hémolyse.

Par le Dr. A. Bessemans,
Assistant à l'Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Dezember 1912.)

Introduction.

Historique: Ferrata¹⁾, le premier, signala la possibilité de diviser le complément ou alexine en deux parties nettement distinctes; en dialysant du sérum frais de cobaye, il obtint un précipité renfermant les globulines et un liquide clair renfermant les albumines. L'auteur, en démontrant que pour obtenir le phénomène de l'hémolyse il fallait ajouter aux globules rouges sensibilisés non pas l'une ou l'autre des fractions obtenues mais les deux à la fois, démontrait par le fait même que sa division du sérum concernait aussi le complément c. a. d. qu'une partie de celui-ci était passée dans le précipité, une autre restant dans le liquide clair.

Peu de temps après, il fut trouvé par Brand²⁾ que la partie du complément renfermée dans le précipité se fixe, employée isolément, d'une façon assez stable sur les globules sensibilisés; que l'autre partie, au contraire, renfermée dans le liquide clair, ne se fixe que sur des globules dits persensibilisés, c. à d. ayant fixé déjà, en plus de l'hémolysine, la fraction globuline du complément. C'est pour cette raison que le même auteur donna le nom d'Endstück ou pièce terminale à la partie albumine du complément; l'autre fut appelée Mittelstück ou pièce intermédiaire.

Depuis lors, divers auteurs, tels que Hecker³⁾, Sachs et Altmann⁴⁾, Sachs et Bolkowska⁵⁾, Liefmann et Cohn⁶⁾, Michaelis et Skwirsky⁷⁾, Fränkel⁸⁾ et d'autres ont repris et confirmé les recherches

1) Ferrata, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) Brand, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.

3) Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther., 1907, H. 3.

4) Sachs et Altmann, Handb. d. Techn. u. Meth. d. Immunitätsf., Bd. 2, p. 969. — Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 522.

5) Sachs et Bolkowska, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, H. 6.

6) Liefmann et Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, H. 6.

7) Michaelis et Skwirsky, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 4, p. 138.

8) Fränkel, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, H. 5—6.

de leurs prédécesseurs, s'efforçant toutefois de trouver un procédé de division plus pratique et plus simple. Mise à part la possibilité, indiqué par Michaelis et Skwirsky¹⁾, Hecker²⁾, Sachs et Bolkowska³⁾, de fixer le M.⁴⁾ à froid sur les globules très sensibilisés et d'isoler ainsi la pièce terminale, deux nouvelles méthodes de séparation ont suivi celle de Ferrata: la procédé de Sachs et Altmann à l'acide chlorhydrique et celui de Liefmann et Cohn au Co².

Une fois ces données fondamentales bien établies, entrevoyant de nouvelles lumières sur la nature intime et la façon d'agir du complément — lequel, depuis les communications de Bordet⁵⁾ et d'autres sur les hémolytines et bactériolysines, jouit d'une importance capitale en immunité — on s'est mis à étudier de divers côtés à la fois les caractères et propriétés des deux parties de l'alexine et à rechercher leur importance respective dans les nombreux phénomènes où le complément lui-même entre en jeu.

Dans un premier travail nous nous sommes proposés de déterminer cette importance respective au point de vue du phénomène de l'hémolyse.

Technique: Avant d'aborder cette étude, nous faisons suivre quelques notes sur la méthode suivie, d'abord pour obtenir la division du complément, ensuite pour procéder au phénomène de l'hémolyse.

Division du complément: C'est, en somme, le procédé de Liefmann et Cohn. A travers du sérum frais de cobaye, dilué au 10^e avec de l'eau distillée, nous faisons passer de l'anhydride carbonique; celui-ci nous est fourni, à volonté, par un appareil Kipp chargé avec du marbre et du HCl dilué. Au bout de 5 à 10 min., le trouble produit dans notre dilution d'alexine ayant atteint son maximum d'intensité, nous centrifugeons rapidement le liquide lactescent ou laiteux obtenu; le décantage nous donne alors l'E au 10^e dans de l'eau distillée. Nous lavons le culot avec de l'eau distillée, centrifugeons à nouveau et déversons la partie limpide qui surnage; diluant alors le fond autant d'eau physiologique que nous avons de liquide lactescent au début, nous obtenons une solution de M au 10^e: cette solution est employée aussitôt. Pour avoir notre E dans de l'eau physiologique, nous diluons au moment de l'emploi sa solution dans

1) Michaelis et Skwirski, loc. cit.

2) Hecker, loc. cit.

3) Sachs et Bolkowska, loc. cit.

4) M = Mittelstück, E = Endstück.

5) Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 12, 1898; T. 13, 1899; T. 14, 1900; T. 15, 1901; T. 20, 1906.

l'eau distillée avec une quantité équivalente d'eau hypersalée à 16‰
= E au 20°.

Hémolyse: Sauf indications spéciales, nous mettons en présence, d'abord du complément frais de cobaye ou ses fractions, ensuite 2 c. c. d'un mélange constitué d'un volume de globules rouges de mouton dilués au 20° et d'un volume ana d'une dilution d'hémolysine de lapin telle que chaque c. c. renferme environ 10 fois son titre. Après avoir ramené toutes les quantités au même volume — 5 c. c. d'ordinaire — nous portons tous les tubes 1 heure à l'étuve (37°) et examinons alors les résultats obtenus.

Voici, une fois pour toutes, l'interprétation des signes adoptés pour inscrire les résultats hémolytiques:

c = dissolution complète;

pr c = dissolution presque complète;

I = dissolution incomplète ou demi-dissolution;

tr ou ? = traces de dissolution;

0 = absence complète d'hémolyse.

Par *bon I* nous indiquons une dissolution intermédiaire entre *pc* et *I*;
par *peu* l'intermédiaire entre *I* et *tr*.

Première Partie.

Historique: H. Sachs¹⁾ relate le fait que la solution d'E obtenue par la méthode de la dialyse donne souvent, à elle seule, l'hémolyse de globules très sensibilisés; il attribue ce phénomène à la division incomplète du complément.

D'autre part, H. R. Marks²⁾ constate que pour obtenir de l'hémolyse complète en mélangeant E et M frais, le rapport quantitatif du M à l'E ne peut dépasser une certaine limite et doit, en général, être approximativement de 1 à 1. Il donne comme règle qu'en augmentant fortement la quantité de M on peut, non seulement diminuer l'hémolyse, mais même l'empêcher.

Les résultats de Fränkel³⁾ sont tout autres; cet auteur, en effet conclut qu'en augmentant une fraction du complément on peut diminuer l'autre et que la diminution du M peut être poussée plus loin que celle de l'E.

Recherches personnelles: Devant des affirmations aussi divergentes, nous avons cru intéressant d'examiner la question avec méthode, en éliminant toute cause d'erreur.

1) H. Sachs, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 2, 1909, p. 969.

2) H. R. Marks, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, p. 508. — Studies from the Rockefeller Inst., Vol 14, No. 6.

3) Fränkel, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, p. 781.

Le problème se pose comme suit: quels sont, dans le phénomène hémolytique, les rapports quantitatifs nécessaires entre les deux morceaux du complément?

Or, puisqu'il s'agit ici de recherches quantitatives exactes, un premier contrôle est à faire: est-ce que, par notre procédé de séparation, nous ne perdons rien quantitativement des deux constituants et est-ce que ni l'un ni l'autre ne subit, durant cette opération, une altération qualitative quelconque en perdant de son activité spécifique?

Nous procédons comme suit: nous comparons l'activité de l'alexine, dosée avant sa division, à celle des solutions de M et E mélangées en quantité décroissante correspondante; deux témoins, renfermant respectivement une forte dose de E et de M, nous assurent d'une bonne séparation.

Tableau I.

Dosage ¹⁾ avant séparation		Dosage après séparation		
Quantité prise de complément	Résultats	Quantité prise des constit.		Resultats
		du M	de l'E	
$\frac{1}{20}$ c. c.	c	$\frac{1}{20}$ c. c.	$\frac{1}{20}$ c. c.	c
$\frac{1}{40}$ "	c	$\frac{1}{40}$ "	$\frac{1}{40}$ "	c
$\frac{1}{50}$ "	c	$\frac{1}{50}$ "	$\frac{1}{50}$ "	c
$\frac{1}{60}$ "	pr c	$\frac{1}{60}$ "	$\frac{1}{60}$ "	pr c
$\frac{1}{70}$ "	bon I	$\frac{1}{70}$ "	$\frac{1}{70}$ "	bon I
$\frac{1}{80}$ "	bon I	$\frac{1}{80}$ "	$\frac{1}{80}$ "	I
$\frac{1}{90}$ "	I	$\frac{1}{90}$ "	$\frac{1}{90}$ "	I
$\frac{1}{100}$ "	I	$\frac{1}{100}$ "	$\frac{1}{100}$ "	I
$\frac{1}{140}$ "	tr	$\frac{1}{140}$ "	$\frac{1}{140}$ "	tr
$\frac{1}{180}$ "	?	$\frac{1}{180}$ "	$\frac{1}{180}$ "	?

Témoins: E seul $\frac{1}{10}$ 0 M seul $\frac{1}{10}$ 0

Nous constatons qu'après toutes les manipulations subies nos deux fractions sont encore aussi actives que dans le complément intact; l'on ne pourra donc faire de ce chef aucune objection à nos résultats ultérieurs.

Pour rechercher alors les rapports quantitatifs entre E et M, nous avons adopté la méthode suivante qui nous semble

1) Cette expérience fute refaite plusieurs fois: avec du complément frais, avec du complément âgé de quelques jours et avec diverses hémolytines.

très exacte: après un dosage préalable du complément, nous faisons deux séries d'expériences; dans la première, nous mettons en présence diverses doses constantes de M et des doses décroissantes d'E, dans la seconde nous faisons l'inverse. Un exemple rendra cela très clair.

Tableau II.

Dos. ct	Série I.					Série II.			
	E.déc.	M.c. $\frac{1}{40}$	M.c. $\frac{1}{20}$	M.c. $\frac{1}{10}$	M.c. $\frac{1}{5}$	M.déc.	E.c. $\frac{1}{40}$	E.c. $\frac{1}{20}$	E.c. $\frac{1}{10}$
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{10}$	c	c	c	c	$\frac{1}{10}$	c	c	c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{20}$	c	c	c	c	$\frac{1}{20}$	c	c	c
$\frac{1}{80}$?	$\frac{1}{40}$	c	c	c	c	$\frac{1}{40}$	c	c	c
$\frac{1}{160}$ 0	$\frac{1}{80}$	peu	I	c	c	$\frac{1}{80}$	pr c	c	c
	$\frac{1}{160}$	0	0	peu	pr c	$\frac{1}{160}$	I	pr c	c
	$\frac{1}{320}$	0	0	0	?	$\frac{1}{320}$	0	?	I
	$\frac{1}{640}$	0	0	0	0	$\frac{1}{640}$	0	0	0

Témoins: M. $\frac{1}{5}$ 0 E. $\frac{1}{10}$ 0
 $\frac{1}{25}$ 0 $\frac{1}{5}$ 0

L'expérience citée a été faite avec de l'alexine fraîche; nous l'avons répétée une douzaine de fois avec des résultats analogues. D'autrefois, nous avons travaillé avec du complément âgé de 24 à 48 heures: les résultats comparatifs ne différaient guère. Voici, à titre d'exemple, un tableau concernant une alexine âgée de plus de 24 heures.

Tableau III.

Dos. ct	Série I					Série II			
	E.déc.	M.c. $\frac{1}{40}$	M.c. $\frac{1}{20}$	M.c. $\frac{1}{10}$	M.c. $\frac{1}{5}$	M.déc.	E.c. $\frac{1}{40}$	E.c. $\frac{1}{20}$	E.c. $\frac{1}{10}$
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$	pr c	c	c	c	$\frac{1}{20}$	I	c	c
$\frac{1}{40}$ I	$\frac{1}{40}$	tr	pr c	c	c	$\frac{1}{40}$	tr	pr c	c
$\frac{1}{80}$ 0	$\frac{1}{80}$	0	0	?	pr c	$\frac{1}{80}$	0	tr	pr c
$\frac{1}{160}$ 0	$\frac{1}{160}$	0	0	0	0	$\frac{1}{160}$	0	0	tr
	$\frac{1}{320}$	0	0	0	0	$\frac{1}{320}$	0	0	0

Témoins: M. $\frac{1}{5}$ 0 E. $\frac{1}{10}$ 0
 $\frac{1}{25}$ 0 $\frac{1}{5}$ 0

En examinant ces deux tableaux, on arrive facilement à conclure que si l'on augmente, d'une part, les quantités de M, on peut diminuer dans une certaine mesure les quantités d'E; que si, d'autre part, on augmente les doses d'E, on

peut diminuer aussi, jusqu'à une certaine limite. les doses de M. Les deux morceaux du complément, tout en étant tous deux nécessaires dans le phénomène de l'hémolyse, peuvent donc, dans une certaine mesure, se substituer et se remplacer l'un l'autre.

Mais s'agit-il bien d'une véritable substitution et ne pourrait-on pas expliquer nos résultats en admettant que notre division du complément n'a pas été tout à fait complète, c. a. d. que notre solution d'E renferme encore des traces de M et vice-versa? Non. Car dans ce cas les témoins auraient dû nous donner de l'hémolyse.

Pour ne pas compliquer cette démonstration, nous choisissons à dessein une expérience plus simple:

Tableau IV.

Série I			Série II		
E.déc.	M.c. $\frac{1}{40}$	M.c. $\frac{1}{10}$	M.déc.	E.c. $\frac{1}{40}$	E.c. $\frac{1}{10}$
$\frac{1}{10}$	c	c	$\frac{1}{10}$	c	c
$\frac{1}{20}$	c	c	$\frac{1}{20}$	c	c
$\frac{1}{40}$	c	c	$\frac{1}{40}$	c	c
$\frac{1}{80}$?	c	$\frac{1}{80}$	pr c	c
$\frac{1}{160}$	0	?	$\frac{1}{160}$	tr	c
$\frac{1}{320}$	0	0	$\frac{1}{320}$	0	I

Témoins: M. $\frac{1}{5}$ 0 E. $\frac{1}{5}$ 0

Supposons un instant qu'il n'y ait pas de substitution possible mais que notre E p. ex. renferme encore des traces de M de sorte qu'il faille uniquement attribuer à cela qu'en augmentant les constantes d'E du simple au quadruple on peut diminuer le M à peu près dans la même proportion: nous constatons en effet, dans l'exemple précédent, que $\frac{1}{40}$ de notre E demande $\frac{1}{40}$ de M pour donner la dissolution complète alors que 4 fois cette dose ou $\frac{1}{10}$ E n'exige plus qu' $\frac{1}{160}$ M. La différence entre les deux constantes employées soit $\frac{1}{10} - \frac{1}{40} = \frac{3}{40}$ E devrait donc renfermer une quantité de M égale à la différence entre les doses limites respectives soit $\frac{1}{40} - \frac{1}{160} = \frac{3}{160}$ de M. Mais, si $\frac{3}{40}$ d'E renferment $\frac{3}{160}$ de M, la dose contrôle, c. a. d. $\frac{1}{5}$ E ou $\frac{8}{40}$ devrait renfermer $\frac{8}{160}$ ou $\frac{1}{20}$ de M. Cette dose contrôle devrait donc donner

de l'hémolyse complète. Or, jamais nous n'avons constaté la moindre trace de dissolution dans nos témoins.

Comme nous pouvons prouver, par un raisonnement analogue, que notre solution de M ne renferme plus trace d'E, nous devons considérer la substitution réciproque comme une chose démontrée.

On peut se demander maintenant si dans cette substitution réciproque il existe un certain rapport; en d'autres termes, quand on augmente la dose constante d'un constituant, peut-on réduire la dose de l'autre d'une quantité fixe?

Au cours des nombreuses expériences faites dans ce sens, nous n'avons pas trouvé ce rapport; nous avons observé, au contraire, que la substitution se fait suivant des proportions assez variables.

Toutefois un autre fait nous a frappé: c'est qu'on peut, d'une façon constante, diminuer beaucoup plus la dose de M pour une augmentation de l'E qu'on ne peut réduire celui-ci pour une augmentation du M. En effet, examinons l'expérience IV p. ex.; nous voyons qu'en augmentant la dose de M du simple au quadruple nous ne pouvons diminuer la dose d'E que du simple à la moitié à peu près alors qu'on peut diminuer le M du simple au quart quand on augmente l'E du simple au quadruple.

Remarquons que si nous donnons ici des chiffres ce n'est que pour fixer les idées; nous n'avons pas toujours constaté précisément les mêmes proportions.

Les tableaux précédents suffiraient à prouver ce que nous venons d'avancer; nous ne pouvons cependant nous empêcher de faire suivre encore une expérience typique, faite avec du sérum âgé de plus de 24 heures.

Tableau V.

Dos. c ^t	Série I					Série II					
	E.déc.	M.c. $\frac{1}{40}$	M.c. $\frac{1}{90}$	M.c. $\frac{1}{10}$	M.c. $\frac{1}{5}$	M.déc.	E.c. $\frac{1}{80}$	E.c. $\frac{1}{40}$	E.c. $\frac{1}{20}$	E.c. $\frac{1}{10}$	
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$	c	c	c	c	$\frac{1}{20}$	pr c	c	c	c	
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	c	c	c	$\frac{1}{40}$	peu	c	c	c	
$\frac{1}{80}$ peu	$\frac{1}{80}$	I	c	c	c	$\frac{1}{80}$	0	I	pr c	c	
$\frac{1}{160}$ 0	$\frac{1}{160}$	0	0	?	peu	$\frac{1}{160}$	0	0	tr	pr c	
	$\frac{1}{320}$	0	0	0	0	$\frac{1}{320}$	0	0	0	0	
		Témoins: M. $\frac{1}{25}$ 0					E. $\frac{1}{6}$ 0				

Nous sommes donc forcés d'admettre non seulement que la substitution réciproque des deux fractions du complément est possible dans une certaine limite, mais encore que l'E se substitue plus facilement au M que vice-versa. Pas plus ici que plus haut l'on ne peut objecter que la cause réside dans le fait hypothétique que notre E renfermerait encore des traces de M: nos doubles doses témoins constituent la réfutation.

En finissant cette question, nous tenons encore à remarquer qu'il ne s'agit pas ici d'un dosage quantitatif de la richesse du sérum en M et E; nos recherches ont uniquement pour but de déterminer dans quelle mesure la substitution peut se faire. C'est pour avoir méconnu cette dernière dans les analyses quantitatives de la constitution de l'alexine que beaucoup d'auteurs ne peuvent prétendre à des résultats irréprochables.

Deuxième Partie.

Historique: Morgenroth et Sachs¹⁾ ont constaté le fait suivant: lorsque, dans le phénomène hémolytique, on augmente la dose de l'ambocepteur, on peut, dans une certaine mesure, assez variable du reste, diminuer la dose du complément.

Recherches personnelles: Devant ce fait, constaté du reste au cours de nos propres expériences, nous nous sommes demandés si cette possibilité de diminuer l'alexine concernait ses deux parties et dans quelle proportion. Cette idée nous fut suggérée d'abord par la remarque de Sachs relatée dans la 1^{re} partie de ce travail; ensuite cette recherche n'est qu'un achèvement de nos expériences antérieures: car puisque nous avons toujours travaillé avec 10 fois environ le titre de l'hémolysine, nous devons absolument examiner si la facilité de substitution prépondérante de l'E n'était pas simplement une règle constante pour la dose hémolytique employée, règle qui ne serait peut-être plus vraie pour d'autres quantités d'ambocepteur.

Voici comment nous avons procédé: connaissant, par un dosage préalable, le titre exact de l'hémolysine avec $\frac{1}{20}$ de complément, nous commen-

1) Morgenroth et Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 35 (aus dem Kgl. Inst. f. exp. Ther. in Frankfurt a. M.).

çons par refaire l'expérience de Morgenroth et Sachs, c. a. d. par déterminer la plus petite quantité de complément nécessaire pour avoir la dissolution complète avec diverses doses d'hémolysine. Alors, avec les mêmes globules \pm fortement sensibilisés, nous faisons les expériences suivantes: nous prenons une constante d'E et de M représentant (pour la dose d'hémolysine correspondante) la dose limite du complément ou le double de cette dose et nous y ajoutons des quantités décroissantes de l'autre élément de l'alexine. Pour chaque dose d'hémolysine employée, nous faisons le contrôle des doubles doses, comme plus haut.

Prenons de suite un exemple: le titre de l'hémolysine en cause est aux environs de $\frac{1}{1600}$.

Tableau VI.

Série I; dose hémol. $\frac{1}{800}$					Série II; dose hémol. $\frac{1}{160}$				
Dos. ct	Reconstitution du Ct				Dos. ct	Reconstitution du Ct			
	E. décr.	M.c. $\frac{1}{20}$	M. décr.	E.c. $\frac{1}{30}$		E. décr.	M.c. $\frac{1}{30}$	M. décr.	E.c. $\frac{1}{30}$
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{11}{20}$ c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{20}$	c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$	c	$\frac{1}{30}$	c	$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$	c	$\frac{1}{30}$	c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$	c
$\frac{1}{50}$ pr c	$\frac{1}{50}$	c	$\frac{1}{50}$	c	$\frac{1}{50}$ c	$\frac{1}{50}$	c	$\frac{1}{50}$	c
$\frac{1}{60}$ bon I	$\frac{1}{60}$	c	$\frac{1}{60}$	c	$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$	c	$\frac{1}{60}$	c
$\frac{1}{80}$ tr	$\frac{1}{80}$	pr c	$\frac{1}{80}$	c	$\frac{1}{80}$ pr c	$\frac{1}{80}$	pr c	$\frac{1}{80}$	c
$\frac{1}{100}$ 0	$\frac{1}{100}$	bon I	$\frac{1}{100}$	pr c	$\frac{1}{100}$ bon I	$\frac{1}{100}$	pr c	$\frac{1}{100}$	c
$\frac{1}{140}$ 0	$\frac{1}{140}$	0	$\frac{1}{140}$	tr	$\frac{1}{140}$ 0	$\frac{1}{140}$	I	$\frac{1}{140}$	pr c
	$\frac{1}{180}$	0	$\frac{1}{180}$	0		$\frac{1}{180}$	I	$\frac{1}{180}$	bon I
	$\frac{1}{220}$	0	$\frac{1}{220}$	0		$\frac{1}{220}$	tr	$\frac{1}{220}$	peu
	$\frac{1}{280}$	0	$\frac{1}{280}$	0		$\frac{1}{280}$	0	$\frac{1}{280}$?
	$\frac{1}{360}$	0	$\frac{1}{360}$	0		$\frac{1}{360}$	0	$\frac{1}{360}$	0
	Témoins M $\frac{1}{10}$ 0 E $\frac{1}{10}$ 0					Témoins M $\frac{1}{15}$ 0 E $\frac{1}{15}$ 0			

On constate, dans cette expérience, qu'en augmentant la dose d'hémolysine d' $\frac{1}{800}$ à $\frac{1}{160}$ on peut diminuer l'alexine d' $\frac{1}{40}$ à $\frac{1}{60}$. Dans les mêmes conditions, on peut réduire l'E (vis-à-vis d'une dose constante de M) d' $\frac{1}{60}$ à $\frac{1}{80}$ et le M (vis-à-vis d'une même dose de E) d' $\frac{1}{80}$ à $\frac{1}{100}$.

L'on peut donc, en augmentant les doses d'hémolysine, réduire l'E et le M à peu près dans la même proportion; de plus, ce rapport concorde sensiblement avec celui de la réduction du complément dans les mêmes circonstances.

Dans l'expérience qui précède nous n'avons augmenté la dose d'hémolysine que du simple au quintuple; en voici une

autre où nous l'avons augmentée de 1 à 20: il s'agit d'une hémolysine récente dont le titre est environ $\frac{1}{2000}$.

Tableau VII.

Série I; dose hémol. $\frac{1}{1400}$					Série II; dose hémol. $\frac{1}{70}$				
Dos. ct	Reconstitution				Dos. ct	Reconstitution			
	E. décr.	M.c. $\frac{1}{30}$	M. décr.	E.c. $\frac{1}{20}$		E. décr.	M.c. $\frac{1}{40}$	M. décr.	E.c. $\frac{1}{40}$
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$	c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$	c	$\frac{1}{60}$	c
$\frac{1}{60}$ pr c	$\frac{1}{60}$	pr c	$\frac{1}{60}$	c	$\frac{1}{80}$ c	$\frac{1}{80}$	c	$\frac{1}{80}$	c
$\frac{1}{80}$ tr	$\frac{1}{80}$	bon I	$\frac{1}{80}$	c	$\frac{1}{100}$ pr c	$\frac{1}{100}$	pr c	$\frac{1}{100}$	c
$\frac{1}{100}$ 0	$\frac{1}{100}$	peu	$\frac{1}{100}$	pr c	$\frac{1}{140}$ bon I	$\frac{1}{140}$	I	$\frac{1}{140}$	c
$\frac{1}{140}$ 0	$\frac{1}{140}$	0	$\frac{1}{140}$	peu	$\frac{1}{180}$ peu	$\frac{1}{180}$	I	$\frac{1}{180}$	c
	$\frac{1}{180}$	0	$\frac{1}{180}$	tr	$\frac{1}{240}$ 0	$\frac{1}{240}$	I	$\frac{1}{240}$	pr c
	$\frac{1}{240}$	0	$\frac{1}{240}$	0		$\frac{1}{260}$	peu	$\frac{1}{260}$	I
	$\frac{1}{280}$	0	$\frac{1}{280}$	0		$\frac{1}{320}$	peu	$\frac{1}{320}$	peu
	$\frac{1}{320}$	0	$\frac{1}{320}$	0		$\frac{1}{360}$	0	$\frac{1}{360}$	tr
						$\frac{1}{400}$	0	$\frac{1}{400}$?
	Témoins M $\frac{1}{10}$ 0 E $\frac{1}{10}$ 0					Témoins M $\frac{1}{20}$ 0 E $\frac{1}{20}$ 0			

La même conclusion ressort de ce tableau: on voit en effet qu'en augmentant 20 fois le titre de l'hémolysine on peut diminuer le complément, l'E et le M à peu près dans la même proportion, c'est à dire c. a. d. de 1 à $\frac{1}{2}$.

A noter, comme plus haut, que ces rapports ne sont pas constants; les chiffres ne servent qu' à rendre clairs nos exemples.

Pour bien nous assurer de l'exactitude de nos résultats nous avons refait des expériences semblables un très grand nombre de fois; nous avons travaillé avec diverses hémolysines comme avec diverses constantes. Nos résultats furent toujours concordants: la diminution possible de l'alexine, quand on augmente la dose hémolytique, concerne ses deux constituants; de plus, les rapports, suivant lesquels cette réduction est possible, sont sensiblement les mêmes.

Nous faisons suivre, pour finir, un tableau concernant une hémolysine dont le titre est aux environs de $\frac{1}{1000}$; nous y avons pris comme doses constantes de M et d'E non pas des quantités doubles mais des quantités correspondantes à la dose limite de l'alexine.

Tableau VIII.

Série II; dose hémol. $\frac{1}{600}$					Série I; dose hémol. $\frac{1}{60}$				
Dos. ct	Reconstitution				Dos. ct	Reconstitution			
	E. décr.	M.c. $\frac{1}{40}$	M. décr.	E.c. $\frac{1}{40}$		E. décr.	M.c. $\frac{1}{80}$	M. décr.	E.c. $\frac{1}{80}$
$\frac{1}{10}$ c	$\frac{1}{10}$	c	$\frac{1}{10}$	c	$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{30}$	c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{20}$	c	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$	c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$	c	$\frac{1}{30}$	c	$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$	c	$\frac{1}{60}$	c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{40}$	c	$\frac{1}{80}$ c	$\frac{1}{80}$	c	$\frac{1}{80}$	c
$\frac{1}{40}$ I	$\frac{1}{50}$	pr c	$\frac{1}{50}$	pr c	$\frac{1}{80}$ I	$\frac{1}{80}$	bon I	$\frac{1}{80}$	I
$\frac{1}{60}$ peu	$\frac{1}{60}$	I	$\frac{1}{60}$	I	$\frac{1}{100}$ peu	$\frac{1}{100}$	peu	$\frac{1}{100}$	tr
$\frac{1}{80}$ tr	$\frac{1}{80}$	I	$\frac{1}{80}$	peu	$\frac{1}{140}$?	$\frac{1}{140}$	tr	$\frac{1}{140}$	tr
$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	peu	$\frac{1}{100}$	peu	$\frac{1}{180}$	$\frac{1}{180}$	O	$\frac{1}{180}$	O
	$\frac{1}{140}$	tr	$\frac{1}{140}$?	$\frac{1}{220}$	$\frac{1}{220}$	O	$\frac{1}{220}$	O
	$\frac{1}{180}$?	$\frac{1}{180}$	O	$\frac{1}{280}$	$\frac{1}{280}$	O	$\frac{1}{280}$	O
	$\frac{1}{240}$	O	$\frac{1}{240}$	O	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{320}$	O	$\frac{1}{320}$	O
	Témoins M $\frac{1}{20}$ O					Témoins M $\frac{1}{40}$ O			
	E $\frac{1}{20}$ O					E $\frac{1}{40}$ O			

Zusammenfassung.

1) Bezüglich der hämolytischen Wirkung kann M durch E und E durch M gewissermaßen ersetzt werden.

2) Doch unterschieden sich die zwei Stücke des Komplementes hierdurch, daß M leichter durch E als E durch M ersetzbar ist.

3) Vergrößerte Ambozeptormengen gestatten kleinere Komplementdosen (Morgenroth und Sachs). Unsere Untersuchungen zeigen, daß diese Verminderung sich fast in demselben Verhältnis auf M und E bezieht.

En finissant ce travail, nous tenons à remercier vivement Monsieur le Professeur R. Bruynoghe des précieux conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer au cours de nos recherches.

Nachdruck verboten.

[Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.]

Recherches sur les modifications physico-chimiques du sang au cours de l'anaphylaxie.

Par **Edgard Zunz.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Dezember 1912.)

I. Introduction.

Segale¹⁾ a étudié les modifications physico-chimiques du sang au cours du choc anaphylactique provoqué par une injection intraveineuse de sérum de bœuf chez des cobayes, des lapins et des chiens préparés par une injection intrapéritonéale du même sérum 15 à 25 jours auparavant.

Chez les cobayes et les lapins, morts de façon aiguë, le point de congélation du sérum s'est abaissé. Il correspondait en moyenne pour le sérum sanguin avant l'injection déchainante à $\Delta = -0.57$ chez le cobaye, à $\Delta = -0.63$ chez le lapin. Il est descendu dans le sang recueilli dans le cœur immédiatement avant le décès à $\Delta = -0.67$ chez le cobaye, à $\Delta = -0.71$ chez le lapin. Ces modifications du point de congélation du sérum ne sont pas dues à un accroissement de la teneur du sang en acide carbonique; celle ci est au contraire inférieure à la normale dans le sang prélevé dans le cœur immédiatement avant la mort.

L'indice réfractométrique s'est accru lors du choc anaphylactique aigu chez le cobaye et le lapin. Il a passé chez le cobaye de 1.34308 avant l'injection déchainante à 1.34722 après celle ci, chez le lapin de 1.34431 à 1.34597.

Chez les chiens, la mort ne s'est produite que quelques heures après l'injection déchainante de sérum bovin. Le point de congélation du sérum a subi d'abord un accroissement fugace, soit de suite après l'injection, soit seulement au bout de 40 à 50 minutes. Plus tard est survenu un abaissement notable qui s'est accentué jusqu'au décès. Le point de congélation du sérum est ainsi descendu de -0.61 avant l'injection déchainante à -0.80 au moment de la mort.

L'indice réfractométrique a d'abord diminué, par suite de la dilution du sérum, peu de minutes après l'injection déchainante chez un chien ayant succombé à celle ci. Cette diminution s'est ensuite accentuée pour faire brusquement place à un accroissement peu avant l'issue fatale. L'indice réfractométrique a ainsi passé de 1.34564 avant l'injection déchainante à 1.34806 au moment de la mort.

1) M. Segale, *Pathologica*, T. 3, 1911, p. 323—326; *ibid.*, T. 4, 1912, p. 12—13.

Chez un chien, qui a présenté des phénomènes fort accentués de choc anaphylactique pendant la première heure consécutive à la réinjection intraveineuse de sérum bovin, mais s'est ensuite vite remis, l'indice réfractométrique s'est d'abord élevé en 40 minutes de 1.34764 à 1.35001 pour descendre ensuite peu à peu et ne plus atteindre que 1.34530 deux heures 40 minutes après l'injection déchainante.

Segale n'a pas constaté de variations appréciables de la conductibilité électrique du sérum sanguin chez le chien. Il attribue les modifications du point de congélation du sérum et les phénomènes du choc anaphylactique à la mise en liberté de cristalloïdes non électrolytes lors de la scission *in vivo* des molécules protéiques chez l'animal en état d'anaphylaxie.

Dans ses intéressantes recherches, Segale ne s'est guère préoccupé de l'influence bien connue de saignées successives sur la composition et les propriétés du sang. D'autre part, il s'en est tenu chez le cobaye et le lapin à l'anaphylaxie avec mort suraiguë. Ainsi que Segale le met lui même fort bien en lumière, il vaut peut être mieux choisir pour l'étude du mécanisme de l'anaphylaxie des cas où les phénomènes du choc anaphylactique ont le temps de se dérouler plus lentement.

Or, chez les animaux sensibilisés au moyen d'hétéroalbumose ou de protoalbumose, le choc anaphylactique provoqué par l'injection déchainante de ces protéoses est, en général, moins intense et plus tardif que dans l'anaphylaxie sérique¹⁾. Ceci m'a engagé à étudier les modifications physicochimiques du sang au cours de l'anaphylaxie par les protéoses. Je me suis borné jusqu'à présent à l'examen de la densité, de l'indice de réfraction et de la tension superficielle du sérum sanguin chez des lapins soumis à des injections sensibilisatrices d'hétéroalbumose ou de protoalbumose. J'ai fait, en outre, une expérience chez le chien au cours de l'anaphylaxie sérique; dans ce cas, j'ai étudié la densité, l'indice de réfraction, le point de congélation et la tension superficielle du sérum et du sang défibriné.

II. Technique.

La densité a été déterminée au moyen de la balance de Westphal.

L'indice de réfraction a été mesuré au moyen du réfractomètre à immersion d'Abbe-Zeiss en opérant les lectures à la température de 17.5° C. et en procédant aux corrections nécessaires.

1) E. Zunz, diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, p. 580.

La détermination du point de congélation a été effectuée au moyen de l'appareil de Beckmann en employant le thermomètre de Friedenthal¹⁾ et en prenant les précautions indiquées par Hamburger²⁾.

La tension superficielle a été recherchée au moyen de la méthode stalagmométrique de Traube³⁾. J'ai utilisé 2 stalagmomètres donnant à 15° C. respectivement 55.6 et 60.8 gouttes d'eau distillée et j'ai ramené les résultats aux chiffres qu'on aurait observés avec un appareil donnant à 15° C. 100 gouttes d'eau distillée. On obtient ainsi l'indice stalagmométrique⁴⁾. J'ai, de plus, calculé la tension superficielle d'une part en dynes par centimètre à la surface limite avec l'air en me basant sur la densité et l'index stalagmométrique⁵⁾, d'autre part par rapport à la tension superficielle de l'eau ramenée à 1000.

Je me suis servi chez le lapin, pour les diverses injections et pour les mélanges effectués au moyen des échantillons de sérum prélevés à divers moments, de liquide de Ringer soit tel quel, soit additionné de 1% d'hétéroalbumose de Pick, de protoalbumose de Pick ou de deutéroalbumose de Kühne. J'ai employé dans ce même but chez le chien soit du sérum de bœuf, soit du liquide de Ringer.

Les injections préparantes ont été effectuées dans le péritoine ou dans la jugulaire chez le lapin, dans la jugulaire chez le chien. Les réinjections ont toujours eu lieu dans la jugulaire.

Les saignées ont été pratiquées de façon aseptique dans la carotide. Le sang a été soit immédiatement soumis à une centrifugation rapide pour en recueillir le sérum, soit défibriné.

III. Expériences chez le lapin.

Les tableaux I à III résument les résultats des trois expériences faites chez le lapin.

Dans la première, on a examiné la densité, l'indice de réfraction et l'indice stalagmométrique du sérum sanguin de 4 lapins de 600 grammes environ. On a ensuite injecté dans le péritoine du lapin A 1 c. c. d'hétéro-

1) H. Friedenthal, Centralbl. f. Physiol., Bd. 14, 1900, p. 157—160.

2) H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre, Wiesbaden 1902 u. 1904, Bd. 1, p. 63 u. Bd. 3, p. 305.

3) J. Traube, Emil Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, Bd. 5, 1912, p. 135—137.

4) E. Zunz, Arch. di Fisiol., T. 7, 1909, p. 137—148.

5) Si F et F' représentent respectivement la tension superficielle de l'eau et du liquide examiné, D' la densité de ce dernier et N' son indice stalagmométrique, on a $F' = FD' \frac{100}{N'}$. La constante capillaire de l'eau à 15° C. correspond à 746, ce qui donne d'après les physikalisch-chemische Tabellen de Landolt et Börnstein 73,26 dynes comme tension superficielle de l'eau à 15° C. à la limite de contact entre l'air et l'eau.

albumose, dans celui du lapin C 1 c. c. de protoalbumose, dans ceux des lapins témoins B et D 1 c. c. de liquide de Ringer.

21 jours après l'injection intrapéritonéale, chaque lapin a été saigné. On a recueilli tout le sang obtainable par incision des carotides au cou. On l'a de suite centrifugé. On a ainsi obtenu les 4 sérums a, b, c et d. On a injecté 3 c. c. de chacun d'entre eux dans le péritoine d'un lapin neuf (E, F, G, H). D'autre part, on a ajouté 8 c. c. du sérum a ou du sérum b à 2 c. c. de solution à 1 % d'hétéroalbumose et l'on a maintenu ces mélanges 2 heures à 38–40° C. en vase clos. On a procédé de la même manière avec les sérums c et d, dont on a mélangé 8 c. c. à 2 c. c. de solution à 1 % de protoalbumose. On a préparé ainsi les 4 mélanges a, b, c et d. Le restant de chacun des sérums a, b, c et d a été additionné d'un volume de liquide de Ringer; on en a examiné la densité, l'indice de réfraction et l'indice stalagmométrique.

On a effectué ces mêmes déterminations la veille de l'injection de sérum chez les 4 lapins E, F, G et H. 24 heures après l'injection intrapéritonéale de sérum, on a injecté dans la jugulaire 0.6 c. c. de solution à 1 % d'hétéroalbumose chez les lapins E et F, 0.6 c. c. de solution à 1 % de protoalbumose chez les lapins G et H. 1 heure après cette injection, on a prélevé du sérum sanguin à ces animaux et l'on en a déterminé la densité, l'indice de réfraction et l'indice stalagmométrique. Le lapin E a présenté des convulsions qui ont débuté 2 $\frac{1}{2}$ heures après l'injection intraveineuse d'hétéroalbumose et ont cessé 3 heures environ après cette injection; le lendemain, il était entièrement remis. Chez le lapin C, les convulsions ont débuté au bout d'une heure et demie; l'animal est mort 2 $\frac{1}{2}$ heures environ après l'injection intraveineuse de protoalbumose. Ces 2 lapins ont donc présenté les symptômes du choc anaphylactique. Chez les lapins F et H, traités par les sérums témoins b et d, l'injection intraveineuse d'hétéroalbumose ou de protoalbumose n'a amené ni convulsions ni autres phénomènes du choc anaphylactique.

On a déterminé la densité, l'indice de réfraction et l'indice stalagmométrique du sérum de chacun des 4 lapins I, J, K, L avant tout traitement et deux heures après l'injection intraveineuse de 2 c. c. du mélange a, b, c ou d. $\frac{1}{4}$ heure après cette injection, le lapin I, qui a reçu le mélange a, a présenté des convulsions qui ont persisté pendant une demi heure; le lendemain, cet animal était complètement rétabli. Le lapin K s'est montré abattu et somnolent 2 heures après l'injection intraveineuse du mélange c; un peu plus tard sont survenues des secousses aux membres, puis des convulsions généralisées; il a succombé 3 $\frac{1}{2}$ heures après l'injection du mélange c. On a, par conséquent, constaté des manifestations du choc anaphylactique chez les lapins I et K. Les lapins J et L n'ont, au contraire, montré à aucun moment de convulsions ou d'autres symptômes du choc anaphylactique.

Le tableau I indique un léger accroissement de l'indice de réfraction du sérum 21 jours après l'introduction intrapéritonéale d'hétéroalbumose ou de protoalbumose, mais on

Tableau I.

Mélange employé: liquide de Ringer + même volume de sérum du lapin	Densité	Indice de réfraction	Indice stalagmo- métrique	Tension superficielle calculée	
				en dynes par centimètres à la surface li- mite avec l'air	par rapport à l'eau = 1000
A. Avant toute injection	1015	1.34233	117.8	63.11	860.1
21 jours après l'injection intrapéri- tonéale d'hétéroalbumose (sérum a)	1013	1.34294	119.2	62.66	849.8
E. Avant toute injection	1012	1.33926	113.9	65.09	888.5
1 heure après l'injection intraveineuse d'hétéroalbumose pratiquée elle même					
24 heures après l'injection intrapéri- tonéale de sérum a	1012	1.34075	116.2	63.80	870.9
I. Avant toute injection	1012	1.33843	110.1	67.34	919.2
2 heures après l'injection intravei- neuse de 2 c. c. de mélange a (8 c. c. de sérum a + 2 c. c. d'hétéroalbumose, maintenus 2 heures à 38—40° C)	1013	1.33873	112.6	65.91	899.7
B. Avant toute injection	1016	1.34052	118.6	62.76	856.7
21 jours après l'injection intrapéri- tonéale de liquide de Ringer (sérum b)	1015	1.34082	120.8	61.56	840.3
F. Avant toute injection	1014	1.33945	116.8	63.60	868.1
1 heure après l'injection intraveineuse d'hétéroalbumose pratiquée elle même					
24 heures après l'injection intrapéri- tonéale de sérum b	1012	1.34036	119.3	62.15	848.3
J. Avant toute injection	1009.5	1.34017	113.4	65.22	890.3
2 heures après l'injection intravei- neuse de 2 c. c. de mélange b (8 c. c. de sérum b + 2 c. c. d'hétéroalbumose, maintenus 2 heures à 38—40° C)	1011	1.33972	115.7	63.03	860.4
C. Avant toute injection	1014	1.34086	113.8	64.75	883.8
21 jours après l'injection intrapéri- tonéale de protoalbumose (sérum c)	1012.5	1.34115	112.0	66.23	904.0
G. Avant toute injection	1009	1.34199	114.5	64.56	881.2
1 heure après l'injection intraveineuse de protoalbumose pratiquée elle même					
24 heures après l'injection intrapéri- tonéale de sérum c	1012	1.34017	115.7	65.00	887.3
K. Avant toute injection	1010	1.33926	111.3	66.48	907.5
2 heures après l'injection intravei- neuse de 2 c. c. de mélange c (8 c. c. de sérum c + 2 c. c. protoalbumose, maintenus 2 heures à 38—40° C)	1012	1.33968	113.9	65.09	888.5
D. Avant toute injection	1012	1.33987	114.8	64.58	881.5
21 jours après l'injection intrapéri- tonéale de liquide de Ringer (sérum d)	1013	1.34018	117.9	62.78	856.8
H. Avant toute injection	1011	1.34070	111.4	66.49	907.6
1 heure après l'injection intraveineuse de protoalbumose pratiquée elle même					
24 heures après l'injection intrapéri- tonéale de sérum d	1012	1.33991	114.2	64.92	886.2
L. Avant toute injection	1011	1.34059	115.3	63.28	850.1
2 heures après l'injection intravei- neuse de 2 c. c. de mélange d (8 c. c. de sérum d + 2 c. c. de protoalbumose, maintenus 2 heures à 38—40° C)	1011.5	1.34094	118.2	62.69	855.7

4*

observe la même chose chez les témoins injectés au moyen du liquide de Ringer. La tension superficielle s'est quelque peu abaissée chez le lapin A traité par l'hétéroalbumose et chez les témoins B et D; elle a subi une légère élévation chez le lapin C traité par la protoalbumose. La densité a légèrement diminué chez les lapins A, B, C et augmenté chez le lapin D. Les minimes modifications de l'indice de réfraction, de la densité et de la tension superficielle constatées chez les lapins A et C sensibilisés par l'hétéroalbumose ou la protoalbumose, dont les sérums ont amené l'anaphylaxie passive chez les lapins E et G, ne sont donc nullement caractéristiques de l'état d'anaphylaxie.

On ne décèle pas davantage, dans l'expérience I, de variations typiques de la densité, de l'indice de réfraction et de la tension superficielle du sérum au cours du choc anaphylactique provoqué soit par la voie de l'anaphylaxie passive (lapins E et G), soit par l'introduction intraveineuse de composés toxiques formés *in vitro* aux dépens de l'hétéroalbumose ou de la protoalbumose. En général, la densité a légèrement augmenté, l'indice de réfraction s'est quelque peu accru, la tension superficielle s'est légèrement abaissée. Ces diverses modifications ne se sont toutefois manifestées que dans des limites très restreintes, et cela pas davantage chez les lapins (E, I, G, K) en proie au choc anaphylactique que chez les témoins (F, J, H, L) n'ayant montré aucun des phénomènes du choc.

Dans l'expérience II, on a recherché la densité, l'indice de réfraction et la tension superficielle, après 2 heures de séjour à 38°, du sérum sanguin additionné de son volume de liquide de Ringer chez 10 lapins de 900 à 1600 grammes. On a ensuite injecté à 5 d'entre eux (F, G, H, I, J) dans le péritoine 0.2 c. c. de solution à 1% d'hétéroalbumose, c'est à dire 2 milligrammes de protéose, par 100 grammes de poids. Les 5 autres (K, L, M, N, O) ont reçu une injection intrapéritonéale de 0.2 c. c. de solution à 1% de protoalbumose, c'est à dire 2 milligrammes de protéose, par 100 grammes de poids.

On a sacrifié un animal de chaque série par saignée carotidienne 6, 12, 18, 24 et 30 jours après l'injection intrapéritonéale. On a partagé en 4 portions le sérum recueilli par centrifugation énergique de chaque échantillon de sang. 3 d'entre elles ont été additionnées respectivement de leur volume de liquide de Ringer, de solution à 1% d'hétéroalbumose et de solution à 1% de protoalbumose. On en a déterminé, après 2 heures

Tableau II.

Mélange employé	Densité	Indice de réfraction	Indice stalagmométrique	Tension superficielle calculée	
				en dynes par centimètre à la surface limite avec l'air	par rapport à l'eau = 1000
Hétéroalbumose + liquide de Ringer	1010	1.33555	130.0	56.86	776.1
Protoalbumose + liquide de Ringer	1008	1.33598	128.5	58.84	703.2
Sérum du lapin	1016	1.34135	118.6	62.76	867.2
témoin A	1015	1.34021	120.2	61.86	844.4
	1015	1.34067	119.3	62.33	850.8
Sérum du lapin	1024	1.34078	113.2	66.27	904.6
F	1017	1.34105	112.1	66.64	909.6
	1016	1.34124	115.4	64.50	880.4
	1015	1.34211	116.7	63.72	869.8
Sérum du lapin	1016	1.34017	117.5	63.35	864.7
K	1012	1.33885	112.6	65.84	898.7
	1011	1.34121	120.2	61.62	841.1
	1011	1.34075	113.4	65.31	891.5
Hétéroalbumose + liquide de Ringer	1009	1.33724	128.3	57.61	785.0
Protoalbumose + liquide de Ringer	1008	1.33578	126.2	54.51	744.1
Sérum du lapin	1016	1.34014	115.4	64.50	880.4
témoin B	1015	1.34026	120.2	61.86	844.4
	1015	1.34086	122.7	60.60	827.2
Sérum du lapin	1021	1.33953	126.8	58.99	805.2
G	1019	1.33960	113.4	65.82	898.4
	1017	1.33949	118.0	63.14	861.9
	1016	1.33964	119.3	62.40	851.8
Sérum du lapin	1012	1.33843	110.1	67.34	919.2
L	1014	1.33972	111.2	66.80	911.8
	1013	1.34044	120.4	61.67	841.8
	1012	1.34025	122.7	60.42	824.8
Hétéroalbumose + liquide de Ringer	1009	1.33999	130.4	56.67	773.5
Protoalbumose + liquide de Ringer	1007	1.33517	127.9	57.67	787.2
Sérum du lapin	1016	1.34033	119.2	62.44	852.3
témoin C	1015	1.34162	121.2	61.34	837.3
	1014	1.34217	123.6	60.10	820.4
Sérum du lapin	1018	1.33904	111.7	66.77	925.1
H	1018	1.33937	111.4	66.95	913.9
	1017	1.34011	114.5	65.07	888.2
	1017	1.34109	117.6	63.35	864.7
Sérum du lapin	1010	1.33976	112.8	65.60	895.4
M	1013	1.33953	110.8	67.01	914.7
	1012	1.34044	119.7	62.75	856.5
	1012	1.34025	118.3	62.62	854.8
Hétéroalbumose + liquide de Ringer	1009	1.33501	131.8	56.08	765.5
Protoalbumose + liquide de Ringer	1008	1.33517	127.9	57.74	788.2
Sérum du lapin	1015	1.33991	113.1	65.75	897.6
témoin D	1013	1.34006	115.1	64.51	880.6
	1014	1.34075	116.2	63.93	872.6

Tableau II (Suite).

Mélange employé	Densité	Indice de réfraction	Indice stalagmo-métrique	Tension superficielle calculée			
				en dynes par centimètre à la surface limite avec l'air	par rapport à l'eau = 1000		
Sérum du lapin I	avant traitement + liquide de Ringer 24 jours après l'injection d'hétéroalbumose	+ liquide de Ringer	1014	1.34014	117.8	63.00	858.6
		+ liquide de Ringer	1014	1.34209	114.5	66.72	910.7
		+ hétéroalbumose	1013	1.34221	121.2	61.26	836.2
		+ protoalbumose	1013	1.34267	119.3	62.24	849.6
Sérum du lapin N	avant traitement + liquide de Ringer 24 jours après l'injection de protoalbumose	+ liquide de Ringer	1016	1.34245	117.5	63.35	864.7
		+ liquide de Ringer	1011	1.34256	112.6	63.78	897.9
		+ hétéroalbumose	1010	1.34271	122.7	60.30	823.2
		+ protoalbumose	1009	1.34399	123.4	59.90	817.6
Hétéroalbumose + liquide de Ringer		1010	1.33945	125.4	59.00	805.4	
Protoalbumose + liquide de Ringer		1009	1.33544	131.7	56.13	766.2	
Sérum du lapin témoin E	avant traitement + liquide de Ringer 30 jours après l'injection d'hétéroalbumose	+ liquide de Ringer	1016	1.33999	112.6	66.10	902.3
		+ hétéroalbumose	1013	1.34109	110.3	67.32	918.9
		+ protoalbumose	1015	1.34105	121.7	61.10	834.0
		+ liquide de Ringer	1012	1.33999	110.4	67.15	916.6
Sérum du lapin I	avant traitement + liquide de Ringer 30 jours après l'injection d'hétéroalbumose	+ liquide de Ringer	1013	1.34094	115.5	64.29	877.6
		+ hétéroalbumose	1012	1.34193	119.7	61.77	843.2
		+ protoalbumose	1012	1.34216	118.0	62.87	858.2
		+ liquide de Ringer	1013	1.34109	110.3	67.01	914.7
Sérum du lapin O	avant traitement + liquide de Ringer 30 jours après l'injection de protoalbumose	+ liquide de Ringer	1011	1.33995	116.2	63.74	870.1
		+ hétéroalbumose	1010	1.34207	117.3	63.08	861.0
		+ protoalbumose	1010	1.34225	120.2	61.56	840.3

de séjour à 38°, la densité, l'indice de réfraction et l'indice stalagmo-métrique. On a procédé à ces mêmes recherches dans 3 mélanges préparés par addition d'un volume du sérum d'un lapin neuf témoin (A, B, C, D, E) à du liquide de Ringer, à de l'hétéroalbumose ou à de la protoalbumose et dans 2 mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et du même volume de liquide de Ringer, maintenus 2 heures à 30–40° C en même temps que les autres liquides examinés.

La quatrième portion de sérum recueillie lors du sacrifice des lapins préparés au moyen d'hétéroalbumose ou de protoalbumose, a été injectée dans le péritoine de lapins neufs, de 500 à 600 grammes, qui ont reçu le lendemain une injection intraveineuse de 2 centigrammes d'hétéroalbumose ou de protoalbumose selon le cas par 100 grammes de poids. On n'a constaté aucun symptôme de choc anaphylactique chez les animaux qui ont reçu le sérum provenant des lapins (F, G, K, L) sacrifiés 6 ou 12 jours après l'injection préparante. Il en est de même lors de l'injection intraveineuse d'hétéroalbumose chez l'animal traité 24 heures auparavant par le sérum du lapin H, sacrifié 18 jours après l'introduction intrapéritonéale de cette même protéose. Les sérums des autres lapins (I, J, M, N, O) ont

amené de l'anaphylaxie passive. Celle-ci n'a toutefois entraîné d'issue fatale que chez l'animal ayant reçu le sérum du lapin N, soumis 24 jours auparavant à une injection intrapéritonéale de protoalbumose. Cet animal a succombé 26 heures environ après l'introduction intraveineuse de protoalbumose. Les lapins sacrifiés 24 et 30 jours après l'injection d'hétéroalbumose se trouvaient par conséquent en état d'anaphylaxie. Tel était aussi le cas de ceux sacrifiés 18, 24 et 30 jours après l'introduction intrapéritonéale de protoalbumose.

Des résultats rassemblés dans le tableau II découlent les données suivantes: La densité des divers mélanges se rapproche davantage de celle du sérum que de celle du liquide qui y a été ajouté. La densité du sérum est un peu moindre lors de la seconde saignée que lors de la première chez 5 lapins (F, G, K, N, O), un peu supérieure chez 3 autres (J, L, M); elle est restée la même chez les 2 derniers (H, I).

L'indice de réfraction des divers mélanges préparés au moyen des sérums des lapins soit neufs, soit traités par l'hétéroalbumose ou la protoalbumose, subit un accroissement par rapport à ses deux constituants. Sauf pour les mélanges préparés avec le sérum du lapin témoin A, l'indice de réfraction dépasse celui du sérum qui entre dans la constitution du mélange examiné. Ceci est plus accusé pour les mélanges préparés avec les sérums des lapins traités par l'hétéroalbumose ou la protoalbumose que pour les autres. On n'observe pas de différences à cet égard selon que le sérum considéré amène ou non l'anaphylaxie passive et selon le laps de temps écoulé depuis l'injection intrapéritonéale de protéose. L'indice de réfraction du sérum s'est légèrement accru lors de la seconde saignée, sauf chez les lapins K, M et O, chez lesquels il a au contraire quelque peu diminué.

La tension superficielle des divers mélanges est intermédiaire à celles des deux constituants, tout en se rapprochant d'ordinaire davantage de celle du sérum. On n'observe pas de différences à ce propos entre les animaux témoins et ceux traités par l'hétéroalbumose ou la protoalbumose. Sauf chez les lapins L, J et O, la tension superficielle du sérum est plus basse lors de la première saignée que lors de la seconde.

3 lapins A, B et C, pesant respectivement 2050, 2150 et 2150 grammes ont servi à la troisième expérience. On a procédé à intervalles de 10 jours à 4 injections intraveineuses de 2 c.c. de liquide de Ringer chez le

premier, de solution à 1 % d'hétéroalbumose chez le second, de solution à 1 % de protoalbumose chez le troisième. On a prélevé avant chaque injection 40 à 50 c. c. de sang dans la carotide et l'on en a séparé le sérum. On a introduit lors des deux dernières saignées une partie du sérum dans le péritoine d'un lapin de 500 à 600 grammes, auquel on a injecté le lendemain par voie intraveineuse 5 c. c. de liquide de Ringer, de solution à 1 % d'hétéroalbumose ou de solution à 1 % de protoalbumose. On a partagé le restant du sérum ou tout le sérum selon le cas en 4 portions, auxquelles on a ajouté le même volume soit de liquide de Ringer, soit de solution à 1 % d'hétéroalbumose, de protoalbumose ou de deutéroalbumose. On a maintenu 2 heures à 38 ° C les 4 mélanges ainsi préparés aux dépens de chaque sérum en même temps que des mélanges témoins de volumes égaux de liquide de Ringer et de solution à 1 % d'hétéroalbumose, de protoalbumose ou de deutéroalbumose. On s'est borné à déterminer l'indice de réfraction de ces divers mélanges. 4 heures après la dernière injection, on a de nouveau prélevé du sérum sanguin, qu'on a examiné de la même manière que les autres échantillons de sérum.

Aucun des 3 lapins A, B, C n'a présenté de symptômes du choc anaphylactique à la suite des seconde et troisième injections. La quatrième n'a pas davantage entraîné de phénomènes spéciaux chez les lapins traités par la protoalbumose ou par le liquide de Ringer. 5 heures $\frac{1}{2}$ après la dernière injection, le lapin traité par l'hétéroalbumose a commencé à montrer des secousses musculaires aux membres postérieurs, auxquelles ont succédé d'abord des convulsions généralisées, puis de l'abattement. L'animal paraissait néanmoins déjà entièrement rétabli le lendemain.

On n'est parvenu à obtenir de symptômes, d'ailleurs pas très accusés, du choc anaphylactique dans les essais d'anaphylaxie passive que chez les lapins injectés le jour précédent au moyen du sérum recueilli avant la quatrième injection d'hétéroalbumose ou de protoalbumose. On ne semble donc avoir réalisé l'état d'anaphylaxie qu'après la troisième injection de protéose.

Le tableau III ne permet pas de déceler d'influence bien nette des saignées et des injections successives sur l'indice de réfraction du sérum. Il est, chez les 3 lapins examinés, légèrement inférieur lors de la saignée faite 4 heures après la dernière injection au chiffre trouvé lors de la saignée effectuée avant celle-ci. Rien ne permet de distinguer sous ce rapport le lapin C, qui paraît être à ce moment en proie au choc anaphylactique des 2 autres.

L'indice de réfraction des divers liquides préparés au moyen des sérums des lapins A, B et C et d'hétéroalbumose ou de protoalbumose dépasse ceux des 2 constituants du mélange examiné. L'indice de réfraction des liquides obtenus par addition de volumes égaux de deutéroalbumose et de sérum d'un

Tableau III.

Mélange employé	Indice de réfraction					
	avant la première injection	avant la seconde injection	avant la troisième injection	avant la quatrième injection	quatre heures après la quatrième injection	
Hétéroalbumose + liquide de Ringer	1.33567	1.33582	1.33559	1.33563	1.33555	
Protoalbumose + liquide de Ringer	1.33521	1.33574	1.33555	1.33540	1.33547	
Deutéroalbumose + liquide de Ringer	1.33517	1.33598	1.33559	1.33521	1.33525	
Sérum du lapin A recueilli avant tous les 10 jours des injections de liquide de Ringer	+ liquide de Ringer	1.34029	1.34063	1.33919	1.34033	1.33972
	+ hétéroalbumose	1.34286	1.34192	1.34203	1.34188	1.34025
	+ protoalbumose	1.34120	1.34226	1.34177	1.34143	1.33999
Sérum du lapin B recueilli avant tous les 10 jours des inject. d'hétéroalbumose	+ deutéroalbumose	1.33972	1.33858	1.34088	1.34097	1.33955
	+ liquide de Ringer	1.34184	1.34071	1.34067	1.34097	1.33972
	+ hétéroalbumose	1.34203	1.34264	1.34260	1.34249	1.34037
Sérum du lapin C recueilli avant tous les 10 jours des inject. de protoalbumose	+ protoalbumose	1.34207	1.34229	1.34207	1.34184	1.34014
	+ deutéroalbumose	1.34207	1.33919	1.33904	1.33865	1.33723
	+ liquide de Ringer	1.34029	1.34056	1.33919	1.34109	1.34002
Sérum du lapin C recueilli avant tous les 10 jours des inject. de protoalbumose	+ hétéroalbumose	1.34275	1.34275	1.34267	1.34256	1.34166
	+ protoalbumose	1.34139	1.34181	1.34188	1.34229	1.34162
	+ deutéroalbumose	1.33964	1.33976	1.33885	1.33976	1.33944

des lapins B ou C est intermédiaire à ceux des 2 constituants du mélange, mais plus proche de celui du sérum. C'est aussi le cas, 3 fois sur 5, pour les mélanges de deutéroalbumose et de sérum du témoin A; les 2 autres fois, l'indice de réfraction du mélange dépasse ceux de ses 2 constituants. L'indice de réfraction de chacun des mélanges préparés avec le sérum recueilli avant la dernière injection intraveineuse est légèrement supérieur à celui du mélange correspondant préparé avec le sérum recueilli 4 heures après celle-ci. La diminution de l'indice de réfraction due soit à la dernière saignée, soit à la dernière injection, est parfois un peu plus accusée dans les mélanges que dans le sérum correspondant; d'autres fois, elle l'est au contraire moins.

Les résultats des expériences II et III cadrent fort bien ensemble dans leurs grandes lignes. On n'observe pas de modifications caractéristiques de l'indice de réfraction du sérum pendant l'état d'anaphylaxie ou le choc anaphylactique. L'indice de réfraction des mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et de sérum de lapin neuf ou sensibilisé par l'une ou l'autre de ces protéoses s'accroît sous l'influence d'un séjour de 2 heures à 38—40° C.

IV. Expériences chez le chien.

On a injecté 20 c.c. de sérum de bœuf dans la jugulaire d'un chien A de 8 $\frac{1}{2}$ kilogrammes. On a introduit le même jour 20 c.c. de liquide de Ringer dans la jugulaire d'un chien témoin B pesant 8700 grammes. On a répété ces injections au bout de 28 jours. Lors de la réinjection, le premier chien a montré d'abord une vive excitation, puis un abattement très profond qui a débuté 2 heures après l'introduction intraveineuse de sérum de bœuf, a atteint son plus fort degré au bout de 4 à 5 heures, existait encore au bout de 8 heures et avait entièrement disparu le lendemain. La température rectale du chien A est tombée de 39.7 avant la réinjection à 37.2 au bout de 2 et à 36.4 au bout de 4 heures, pour remonter à 36.9 au bout de 6 et à 38.2 au bout de 8 heures. La température rectale du chien témoin B s'est légèrement accrue (0.6°) après la réinjection; elle a passé de 39.5 avant la réinjection à 39.8 au bout de 2, 40.1 au bout de 4, 39.7 au bout de 6, 39.9 au bout de 8 heures. Cet animal n'a pas présenté d'autres symptômes spéciaux. Le lendemain de la réinjection, la température rectale du chien A correspondait à 39.2, celle du chien B à 39.3.

On a prélevé du sang à chacun des 2 chiens avant l'injection ou la réinjection et 6 heures après celles-ci. On a préparé du sérum et du sang défibriné aux dépens de chaque prise de sang. On a recherché la densité, l'indice stalagmométrique et le point de congélation de ces divers liquides. On n'a pu déterminer l'indice de réfraction que pour les échantillons de sérum. Le tableau IV indique les divers chiffres ainsi obtenus.

Tableau IV.

Mélange employé	Densité	Indice de réfraction	Point de congélation $\Delta = -$	Indice stalagmométrique	Tension superficielle calculée			
					en dynes par centimètre à la surface limite avec l'air	par rapport à l'eau = 1000		
Chien A	avant la première injection de sér. de bœuf	sérum 1024	1.34884	0.56	119.6	62.72	864.3	
	6 hrs. après la première injection de sér. de bœuf	sang défibriné	1048	—	0.60	122.4	62.73	864.5
		sérum	1023	1.34707	0.575	120.8	62.04	846.8
	28 jours après la première inj. de sér. de bœuf	sang défibriné	1049	—	0.61	123.7	62.13	848.1
		sérum	1025	1.34922	0.58	118.9	63.07	860.9
	6 hrs. après la seconde injection de sér. de bœuf	sang défibriné	1052	—	0.565	125.3	61.51	839.5
Chien B	sérum	1028	1.34855	0.595	120.3	62.60	854.5	
	sang défibriné	1055	—	0.58	127.1	60.81	830.1	
Chien B	avant la première inj. de liquide de Ringer	sérum 1021	1.34605	0.57	117.8	63.40	865.4	
	6 hrs. après la première inj. de liquide de Ringer	sang défibriné	1047	—	0.585	126.3	60.73	829.0
		sérum	1020	1.34489	0.59	119.2	62.69	855.7
	28 jrs. après la première inj. de liquide de Ringer	sang défibriné	1049	—	0.60	129.6	59.30	809.4
		sérum	1025	1.34809	0.58	118.4	63.41	865.5
	6 hrs. après la seconde inj. de liquide de Ringer	sang défibriné	1050	—	0.59	126.6	60.76	829.4
		sérum	1024	1.34702	0.60	121.7	61.56	840.3
	sang défibriné	1054	—	0.595	125.8	61.44	838.7	

La densité du sérum et celle du sang défibriné sont devenues un peu plus considérables 6 heures après l'injection ou la réinjection qu'avant celle-ci. Tel n'est toutefois pas le cas pour le sérum du chien A lors de la première injection de sérum de bœuf.

Après chaque injection ou réinjection, l'indice de réfraction du sérum a légèrement diminué, l'abaissement du point de congélation du sérum et du sang défibriné se sont quelque peu accentués et la tension superficielle du sérum s'est légèrement abaissée. Il en a été de même de la tension superficielle du sang défibriné, sauf pour le chien B lors de la réinjection.

Ces légères modifications de la densité, de l'indice de réfraction, du point de congélation et de la tension superficielle dépendent plutôt de la saignée qui a précédé l'injection ou la réinjection que de ces dernières.

La densité du sérum et celle du sang défibriné ont quelque peu augmenté 28 jours après l'injection intraveineuse de sérum de bœuf ou de liquide de Ringer. L'indice de réfraction du sérum s'est légèrement accru dans ces conditions.

Le point de congélation et la tension superficielle du sérum et du sang défibriné n'ont pas subi de variations chez le chien témoin B sous l'influence de l'injection de liquide de Ringer. On obtient les mêmes chiffres à peu près avant l'injection et avant la réinjection pratiquée 28 jours plus tard. Chez le chien A soumis à une injection intraveineuse de sérum de bœuf, l'abaissement du point de congélation du sérum s'est légèrement accentué et la tension superficielle du sérum s'est quelque peu élevée 28 jours après cette injection. Par contre, l'abaissement du point de congélation du sang défibriné a légèrement diminué et la tension superficielle du sang défibriné s'est quelque peu abaissée. Il ne s'agit toutefois là, en réalité, que de fort minimes modifications.

L'expérience, dont les résultats sont relatés dans le tabl. IV, ne met pas en évidence de différences nettes concernant les propriétés physicochimiques du sérum et du sang défibriné entre le chien A traité par le sérum de bœuf et le témoin B. L'état d'anaphylaxie provoqué chez le chien par une injection intraveineuse préalable de sérum bovin n'entraîne point de modi-

fications caractéristiques des propriétés physicochimiques du sérum et du sang défibriné. Il semble en être de même du choc anaphylactique.

Peut être serait on cependant parvenu à déceler certaines différences à ce dernier point de vue si l'on avait examiné le sang des 2 animaux en expérience plus tôt après l'injection et la réinjection, de façon à prélever le sang du chien A lors du maximum des phénomènes du choc anaphylactique. Cela n'est néanmoins guère probable, si l'on se base sur les données obtenues chez ces mêmes animaux par l'étude du pouvoir protocoelastique du sérum et du sang défibriné, dont il sera question dans une communication ultérieure. On observe, en effet, des différences très caractéristiques à cet égard entre les chiens A et B lors des saignées pratiquées 6 heures après la réinjection.

V. Considérations générales.

Les légères modifications des propriétés physicochimiques du sang, observées chez le lapin et chez le chien après l'injection parentérale d'hétéroalbumose, de protoalbumose ou de sérum de bœuf, ne caractérisent nullement l'état d'anaphylaxie ou le choc anaphylactique, car on les retrouve au même degré chez les animaux témoins. Elles paraissent simplement traduire les effets des saignées antérieures et peut être aussi de l'introduction intrapéritonéale ou intraveineuse d'un certain volume de liquide.

On serait peut être arrivé à des constatations plus importantes en prélevant les prises de sang à d'autres moments, en examinant le plasma au lieu du sérum ou du sang défibriné, en s'occupant de la viscosité, de la déviation de la lumière polarisée ou de la conductibilité électrique.

Quoi qu'il en soit, on ne doit pas s'étonner outre mesure des résultats des présentes recherches. En effet, dès qu'on ne part plus d'un composé chimique bien défini et relativement simple, mais d'un milieu aussi complexe que le sérum ou le sang défibriné, les méthodes physicochimiques se bornent à indiquer la résultante d'une série de processus fort différents les uns des autres et de sens parfois opposés¹⁾.

L'indice de réfraction des mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et de sérum de lapin neuf ou traité par

1) E. Zunz, Emil Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethod., Bd. 3, 1910, p. 251—252.

l'une de ces protéoses, maintenus 2 heures à 38—40° C, s'accroît par rapport à ses constituants et dépasse même l'indice de réfraction le plus élevé, c'est à dire celui du sérum. L'indice de réfraction des mélanges de deutéroalbumose et de sérum de lapin reste en général dans ces conditions intermédiaire à ceux de ses 2 constituants, tout en se rapprochant davantage de celui du sérum; il dépasse néanmoins parfois ce dernier. La densité et la tension superficielle des divers mélanges de sérum et de protéose se rapprochent d'habitude davantage de celles du sérum que de celles de la solution d'hétéroalbumose ou de protoalbumose ajoutée au sérum.

L'accroissement de l'indice de réfraction et les autres minimales variations des propriétés physicochimiques des mélanges de sérum et de protéose, observées après 2 heures de séjour à 38—40° C, ne permettent pas d'établir de distinctions entre les lapins en état d'anaphylaxie ou de choc anaphylactique et les animaux normaux. On ne parvient pas à se renseigner de cette manière sur les modifications du pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. En présence des nombreuses difficultés, auxquelles se heurte l'emploi des méthodes physicochimiques à l'étude de la digestion des protéines, il vaut certes mieux recourir à la recherche directe du pouvoir protéoclastique par des méthodes appropriées.

Zusammenfassung.

1) Bei mittels Heteroalbumose oder Protoalbumose vorbehandelten Kaninchen erleiden die Densität, die Refraktionszahl und die Oberflächenspannung des Serums keine charakteristischen Veränderungen während des präanaphylaktischen Stadiums, des anaphylaktischen Zustandes oder des anaphylaktischen Shocks.

2) Beim mittels Ochsen Serum vorbehandelten Hunde weisen die Densität, die Refraktionszahl, die Oberflächenspannung und der Gefrierpunkt sowohl des Serums als des defibrinierten Blutes keine charakteristischen Veränderungen während des anaphylaktischen Zustandes oder des anaphylaktischen Shocks auf.

3) Nach 2-stündigem Verbleiben bei 38—40° C zeigen Gemische von Heteroalbumose oder Protoalbumose und vom

gleichen Serumvolumen eines normalen oder eines mittels Heteroalbumose oder Protoalbumose vorbehandelten Kaninchens eine höhere Refraktionszahl als beide ungemischten Bestandteile.

4) Die Refraktionszahl der Gemische von Deuteroalbumose und vom gleichen Serumvolumen eines normalen oder eines mittels Heteroalbumose oder Protoalbumose vorbehandelten Kaninchens nähert sich gewöhnlich mehr der Refraktionszahl des Serums als der der Deuteroalbumoselösung; manchmal übersteigt sie sogar die Refraktionszahl des Serums.

5) Die Densität und die Oberflächenspannung der verschiedenen Serum-Heteroalbumose- und Serum-Protoalbumosegemische liegen zwischen denen beider Bestandteile des Gemisches, nähern sich aber meistens denen des Serums mehr als denen der zugefügten Proteosenlösung.

Nachdruck verboten.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut zu Osaka, Japan.]

Passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinempfindlichkeit durch Tuberkuloseserum und dessen Wertbestimmung durch dieselbe Wirkung.

Von Professor **A. Sata.**

Mit 5 Kurventabellen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Dezember 1912.)

Nachdem die passive Uebertragbarkeit der Anaphylaxie zuerst von Pirquet und Schick nachgewiesen und von Otto als passive Anaphylaxie bezeichnet worden ist, führten die späteren Untersuchungen von Nicolle, Friedmann, Friedberger und Doerr einerseits und Braun, Kraus und Novotny andererseits nicht zu einem übereinstimmenden Resultat.

Was die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit betrifft, so sind die Angaben der Autoren auch nicht übereinstimmend. Yamanouchi glaubte zwar, passive Uebertragbarkeit bei Tuberkulose festgestellt zu haben, während jedoch die Nachprüfungen von Eitner und Stoerk, sowie Roepke, Busch und Friedmann negativ ausfielen.

Helmholz glaubte mit der Pirquetschen kutanen Tuberkulinreaktion die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das gesunde Tier bewiesen zu haben, doch führte Onakas Untersuchung in derselben Versuchsanordnung zu negativem Resultat. Also scheint die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit durch eine Uebertragung des tuberkulösen Serums bei den Versuchen der meisten Autoren nicht nachgewiesen zu sein. Dagegen gelang es sowohl Bail als auch Onaka, normale Meerschweinchen durch tuberkulöses Gewebe vom infizierten Tiere gegen eine Tuberkulininjektion empfindlich zu machen. Im Gegensatz hierzu erzielten Joseph und Kraus, Löwenstein und Volk nur in einem sehr geringen Bruchteil ihrer Versuche eine positive Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit, und sie betrachten, wie auch Neufeld und Dold, die Frage der Möglichkeit einer passiven Tuberkuloseüberempfindlichkeit als noch durchaus unentschieden.

Regelmäßige positive Resultate sind von Friedberger und Mita in den Verhandlungen der V. Tagung der mikrobiologischen Vereinigung mitgeteilt. Die Autoren zeigen, daß sowohl für die aktive wie die passive Tuberkuloseanaphylaxie die gleichen Gesetzmäßigkeiten gelten wie für die Serumanaphylaxie. Speziell gelang es ihnen durch intraperitoneale Injektion von Antituberkuloserum regelmäßig eine Empfindlichkeit gegenüber sonst tödlichen Dosen zu erzielen.

Bei diesen widersprechenden Angaben verschiedener Forscher interessierte es mich, den betreffenden Gegenstand nochmals einer eingehenden Nachprüfung zu unterziehen, um festzustellen, ob die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit durch eine Uebertragung meines Tuberkuloseserums wirklich erzielbar ist. Nun konnte ich durch eine große Reihe von Versuchen an Meerschweinchen nicht nur die passive Uebertragbarkeit derselben aufs sicherste nachweisen, sondern es ergab sich auch die Möglichkeit, damit die Wirkungen des Tuberkuloseserums zu prüfen.

Wir haben einer Anzahl Meerschweinchen erst Tuberkuloseserum in verschiedenen Mengen von 0,1, 0,5 oder 1,0 ccm intravenös oder intraperitoneal, sowie subkutan eingespritzt, und nach einem, zwei und drei Tagen jeder einzelnen Reihe von Versuchstieren das Alt tuberkulin der Reaktionsdosis in 0,05 ccm oder tödliche Dosen in 0,5 ccm injiziert und die Temperatur vor und nach der Injektion genau gemessen. Unerwähnt möchte ich nicht lassen, daß die hier angewandten Versuchstiere immer frisch gelieferte kerngesunde Meerschweinchen waren, daß die

sämtlichen Tiere nach den Versuchen getötet und obduziert wurden, um etwaige natürliche Infektion der Tuberkulose zu kontrollieren.

Die folgenden Versuche wurden in der Zeit von Anfang Februar bis zum Beginn des Mai 1912 von meinem Assistenten Herrn Dr. M. T a n a k a nach meinem Plan auf das sorgfältigste bei zahlreichen mittelgroßen Meerschweinchen mit Tuberkulose-serum ausgeführt.

I. Versuch A (mit Tuberkuloseserum).

a.

1) Es wurden am 1. Tage 6 Meerschweinchen (a; IA und B, IIA und B, IIIA und B) 0,1 ccm Tuberkuloseserum (No. 22) intravenös injiziert und eine halbe Stunde vorher und nachher 10 Stunden lang ihre Temperatur stündlich gemessen.

2) Am nächsten Tage, genau nach 24 Stunden, wurde zwei davon (IA und B) 0,05 Alttuberkulin subkutan eingespritzt und mit allen anderen Meerschweinchen ihre Temperatur ebenso gemessen wie gestern. Zu erwarten war die Temperatursteigerung als Tuberkulinreaktion bei den Tieren (IA und B), welchen Tuberkulin eingespritzt wurde, wenn ihnen durch eine vorangehende Einspritzung des Tuberkuloseserums eine Tuberkulinüberempfindlichkeit passiv übertragen worden war. Es war geradezu präzise eine deutliche Temperatursteigerung zu beobachten, was nicht der Fall war bei den unten zu erwähnenden Kontrolltieren, welchen das Normalpferdeserum vorher eingespritzt worden ist.

3) Am 3. Tage, also genau nach 48 Stunden, wurde noch 2 (IIA und B) der übrigen 4 Meerschweinchen wieder 0,05 ccm Alttuberkulin subkutan eingespritzt und ihre Temperatur ebenso gemessen wie das vorige Mal. Wieder eine deutliche Temperatursteigerung, im Gegensatz zu den Kontrolltieren.

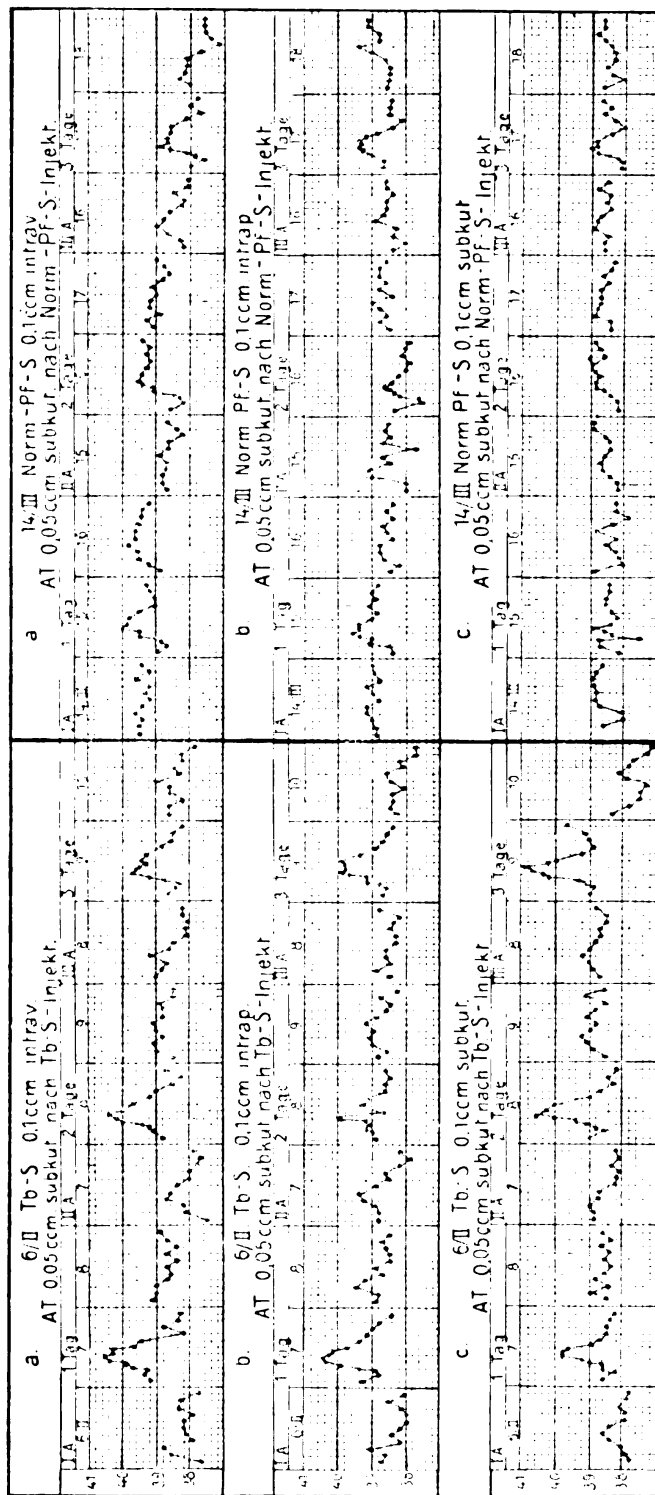
4) Am 4. Tag, genau nach 72 Stunden, wurde den letzten 2 Meerschweinchen (IIIA und B) wieder 0,05 Alttuberkulin subkutan eingespritzt und ihre Temperatur genau ebenso gemessen, wie das andere Mal.

Wieder eine merkliche Temperatursteigerung.

Diese Versuche überzeugen uns mit aller Sicherheit, daß eine einmalige intravenöse Einspritzung des angewandten Tuberkuloseserums von 0,1 ccm auf Meerschweinchen eine deutliche Tuberkulinüberempfindlichkeit gegen eine subkutane Injektion von Alttuberkulin in einer Reaktionsdosis (0,05 ccm) passiv zu übertragen vermag, daß diese passiv übertragene Tuberkulinempfindlichkeit schon nach 24 Stunden entsteht und bis nach 3 Tagen anhält.

Tabelle I.

<p>I. Versuche A.</p> <p>6. II. Tb.-Serum-Injektion (0,1 ccm intrav., intrap. und subkutan).</p> <p>7. II.-8. II.-9. II. AT.-Injektion (0,05 ccm subkutan).</p>	<p>I. Versuche B.</p> <p>Kontrolle mit Normal-Pferdeser.-Injektion (0,1 ccm intrav., intrap. und subkutan).</p> <p>15. III.-16. III.-17. III. AT.-Injektion (0,05 ccm subkut.).</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



b.

Es wurde wieder 6 Meerschweinchen (b; IA und B, IIA und B, IIIA und B) genau in derselben Anordnung am 1. Tag das Tuberkuloseserum in der Menge von 0,1 ccm intraperitoneal eingespritzt und am nächsten Tage 2 davon Alt tuberkulin 0,05 ccm subkutaninjiziert, am 3. Tage wieder 2 von den übrigen, und am 4. den übrigen 2 Meerschweinchen gleichfalls Tuberkulin subkutan injiziert.

Hier war wieder eine Temperatursteigerung so deutlich, daß eine passive Uebertragbarkeit auch durch eine einmalige intraperitoneale Einspritzung des Tuberkuloseserums sicher ist.

c.

Das 3. Mal wurden die Versuche genau in derselben Anordnung, nur mit einem einzigen Unterschied, nämlich der subkutanen Einspritzung des Tuberkuloseserums ausgeführt. Es ist klar zu ersehen, daß die genannte Uebertragung auch durch eine einmalige subkutane Einspritzung des Immunserums möglich ist (c; IA und B, IIA und B, IIIA und B).

I. Versuche B (Kontrolle mit Normalserum).

Es wurden Kontrollversuche genau in derselben Anordnung mit einem Normalpferdeserum von 0,1 ccm bei 6 Meerschweinchen durch intravenöse Einspritzung desselben, wieder bei 6 Meerschweinchen durch intraperitoneale Einspritzung, und das 3. Mal bei 6 Meerschweinchen durch subkutane Einspritzung ausgeführt (a, b, c; IA und B, IIA und B, IIIA und B) und es wurde nachgewiesen, daß eine einmalige Einspritzung des Normalpferdeserums in der angewandten Dosis die Versuchstiere gegen spätere Tuberkulininjektion nicht zu beeinflussen imstande ist.

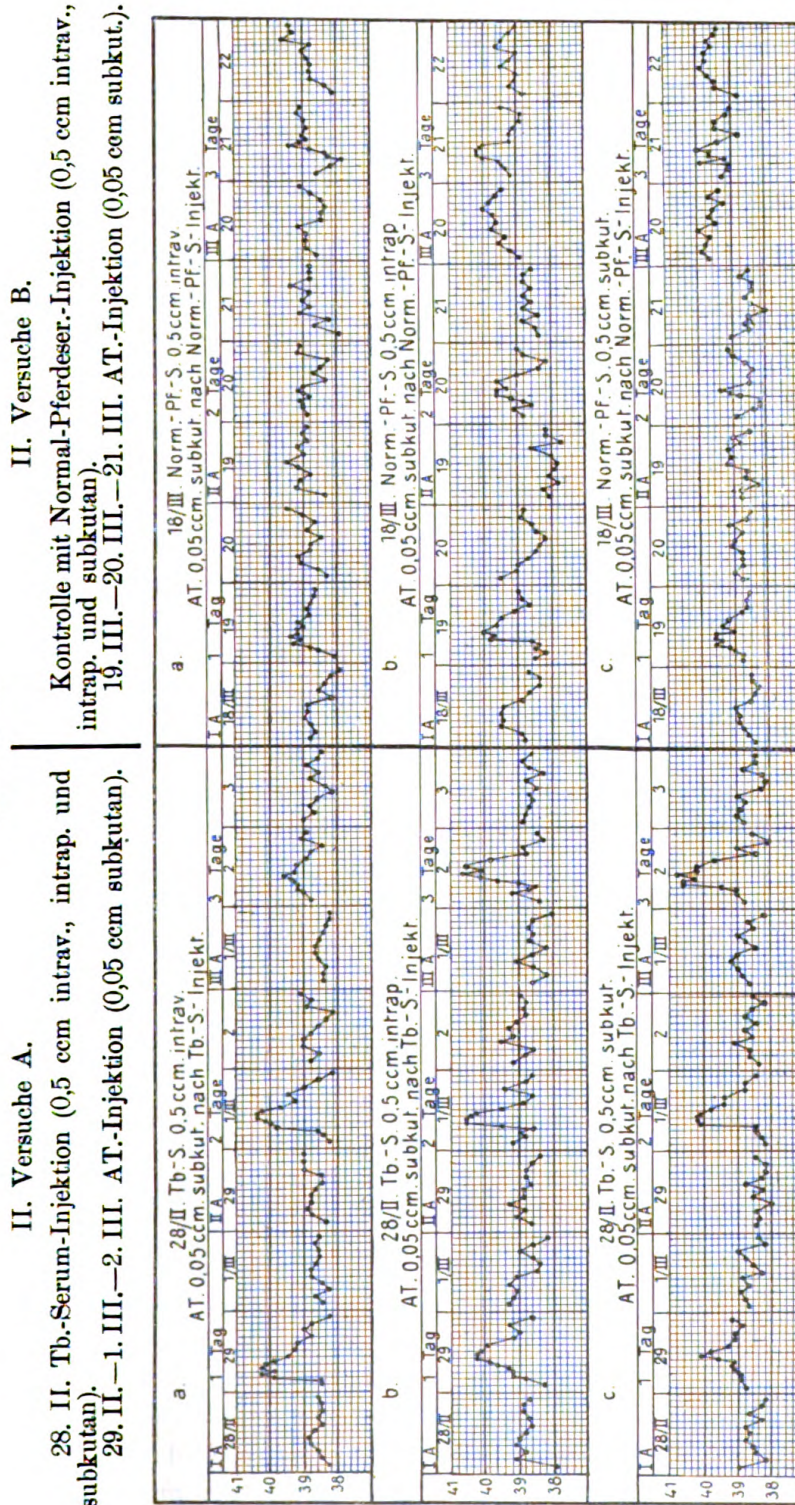
II. Versuche A (mit Tuberkuloseserum).

In genau derselben Anordnung wurden die Versuche aber nur mit dem Tuberkuloseserum No. 22 in Dosis von 0,5 ccm bei im ganzen 18 Meerschweinchen in ebenso drei Reihen (a, b, c; IA und B, IIA und B, IIIA und B) ausgeführt und wurde wieder nachgewiesen, daß das Tuberkuloseserum in Dosis von 0,5 durch eine einmalige intravenöse, intraperitoneale oder subkutane Einspritzung den Versuchstieren sowohl nach 24 Stunden, als auch nach 2 oder 3 Tagen eine deutliche Ueberempfindlichkeit verleihen kann.

II. Versuche B (Kontrolle mit Normalserum).

Bei diesen Kontrollen in derselben Versuchsanordnung mit einem Normalpferdeserum bei 18 Meerschweinchen in drei Reihen war eine merkliche Temperatursteigerung nach einer späteren Tuberkulininjektion nicht zu beobachten, ein Zeichen, daß das Normalpferdeserum im Gegensatz zum Tuberkuloseserum in der angewandten Dosis keinen Einfluß auf Meerschweinchen gegen Tuberkulin ausüben kann (a, b, c; IA und B, IIA und B, IIIA und B).

Tabelle II.



5*

III. Versuche A (mit Tuberkuloseserum).

Es wurden hier nochmals mit Tuberkuloseserum (No. 22) von 1,0 ccm genau dieselben Versuche bei 18 Meerschweinchen in drei Reihen wiederholt und wurde konstatiert, daß das Serum in dieser Dosis auch die Versuchstiere gegen spätere Injektion von Tuberkulin beeinflussen kann (a, b, c; I A und B, II A und B, III A und B).

III. Versuche B (Kontrolle mit Normalpferdeserum).

Bei diesen Kontrollen in derselben Versuchsanordnung, mit dem Normalserum in Menge von 1,0 ccm bei 18 Meerschweinchen in drei Reihen war das Resultat aber abweichend von den oben erwähnten zwei Kontrollen. Es war eine sichtliche Temperatursteigerung gegen spätere Tuberkulininjektion zu bemerken. Es ergibt sich also, daß das Normalpferdeserum in großer Menge (1,0 ccm) gerade wie das Immunserum eine Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulin den Meerschweinchen zu verleihen imstande ist.

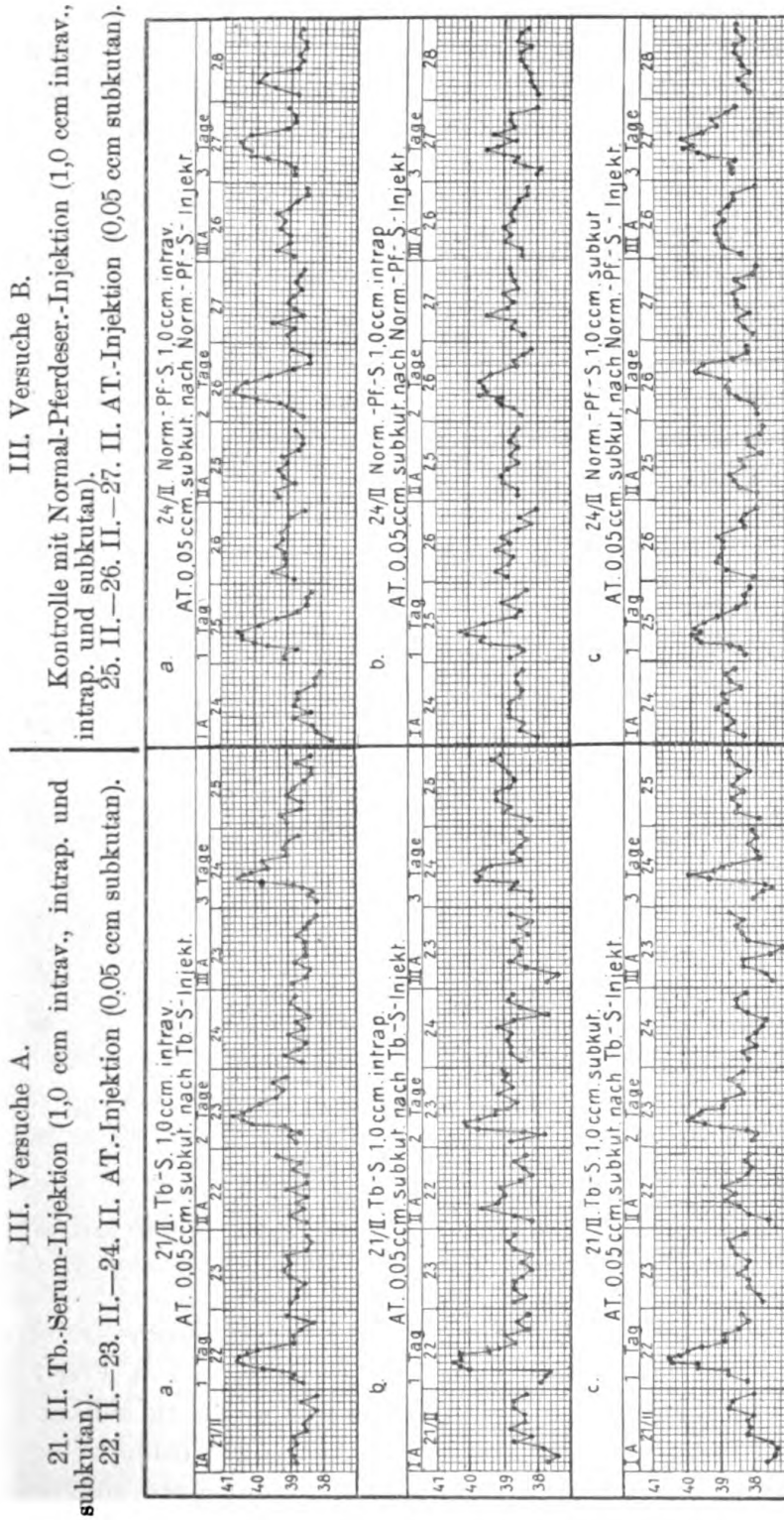
Es wurden außerdem die Versuche mit einer noch geringeren Dosis von Tuberkuloseserum (0,05 ccm) wiederholt, aber dann war die Reaktion schon nicht mehr deutlich.

Wenn man die Fieberreaktion nach Tuberkulininjektion sowohl bei vorhergehender intravenöser als auch intraperitonealer wie subkutaner Einverleibung des Tuberkuloseserums bei den gesamten Versuchstieren vergleichsweise betrachtet, so bemerkt man, daß die Reaktion bei intravenöser Einspritzung des Immunserums vom ersten Tage bis nach dem dritten Tag allmählich sich abschwächt, während dieselbe bei subkutaner Einspritzung gerade im Gegenteil sich vom ersten Tag bis zu dem dritten verstärkt. Die Reaktion bei intraperitonealer Einspritzung nimmt gerade eine Mittelstellung ein, so daß sich hier in 3 Tagen kein großer Unterschied zeigt.

Auch bei der Einspritzung einer größeren Dosis von Immunserum (1,0 ccm) ist der Unterschied der Reaktion zwischen verschiedenen Verabreichungsweisen nicht groß und es ist ja fast selbstverständlich, weil die eingespritzten wirksamen Substanzen hier nicht rasch ausgeschieden werden konnten.

Nach meiner Feststellung von der Entstehung der Tuberkulinüberempfindlichkeit durch eine passive Uebertragung meines Tuberkuloseserums war es naheliegend, auf diese Weise

Tabelle III.



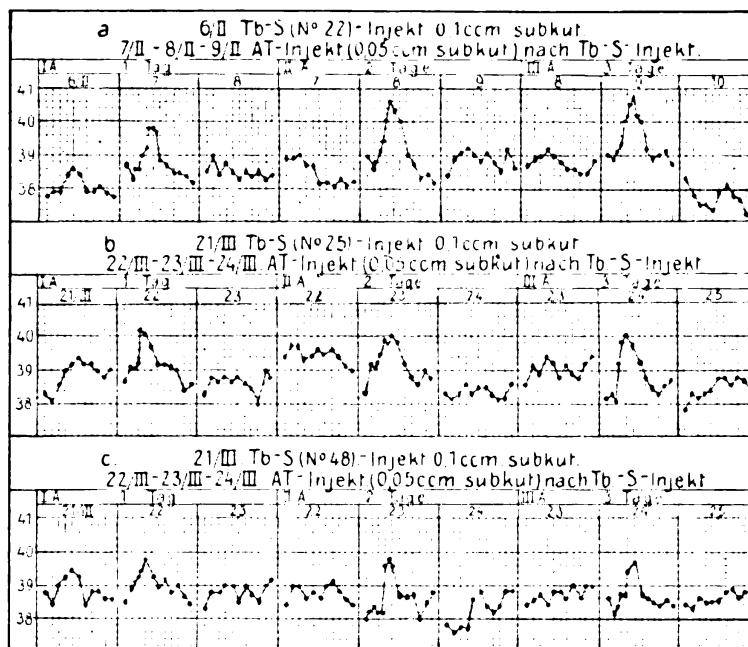
die Wirksamkeit der Immunsera zu messen. Tatsächlich scheint mir das gelungen zu sein und ich hoffe, im weiteren Verlaufe die Methode zur Wertmessung der Immunsera in dieser Weise vervollkommen zu können.

IV. Wertbestimmung der Tuberkulosesera.

Es wurden drei verschiedene Tuberkulosesera (No. 22, 25 u. 48) in bestimmter Dosis (0,1 ccm) genau in derselben Versuchsanordnung 18 Meerschweinchen in drei Reihen (a, b, c; IA und B, II A und B, IIIA und B) subkutan eingespritzt und nach einem Tag sowie nach 2 und 3 Tagen je zwei Meerschweinchen 0,05 ccm Tuberkulin subkutan injiziert, und die darauf folgende Reaktion in jeder Reihe in Vergleich gestellt, so daß man durch graduelle Unterschiede der aufgetretenen Reaktionen die Intensität der spezifischen Wirksamkeit der Immunsera messen kann.

Tabelle IV.

IV. Versuche über die Wertbestimmung des Tb.-Serums durch passive Tuberkulinempfindlichkeit.



Die Tuberkuloseseren No. 22 und 25 sowie 48 stammen von den Pferden mit denselben Nummern. Das Pferd No. 22 wurde seit 2 Jahren (seit Februar 1910) durch subkutane wie intravenöse Einspritzungen meistens von Alttuberkulin, selten von abgetöteten Tuberkelbacillen, immunisiert und bei Pferd

No. 25 wurde meist intravenöse und nur sehr selten subkutane Einspritzung von Alttuberkulin allein seit Mai 1910 wiederholt ausgeführt, während Pferd No. 48 die lebenden Tuberkelbacillen vom Typus humanus von 0,1—0,5 g seit August 1911 14mal intravenös eingespritzt wurden.

Aus den Kurven ist wohl ersichtlich, daß bei den obigen Versuchen die Temperatursteigerung bei Serum No. 22 am stärksten ausgesprochen ist, während sie bei Serum No. 48 am schwächsten aufgetreten ist. Das Serum No. 25 nahm eine Mittelstellung ein.

Nachdem die passive Ueberempfindlichkeit mittels einer Reaktionsdosis von Alttuberkulin festgestellt worden ist, liegt es nahe, daß die hier entstandene Ueberempfindlichkeit mittels einer tödlichen Dosis von Tuberkulin durch den bekannten Tuberkulintod in eklatanter Weise nachgewiesen werden könnte.

In dieser Hinsicht wurden folgende Versuche angestellt:

V. Feststellung der passiven Ueberempfindlichkeit durch Tuberkulintod.

1) Wieder in derselben Anordnung wurde von dem Tuberkuloseserum No. 22 je 1,0 ccm 6 Meerschweinchen (a; I A und B, II A und B, III A und B) intravenös, 6 Meerschweinchen (b; I A und B, II A und B, III A und B) intraperitoneal, 6 Meerschweinchen (c; I A und B, II A und B, III A und B) subkutan injiziert und je 2 davon nach 24 Stunden, je 2 anderen nach 2 Tagen und den 2 letzten nach 3 Tagen das Alttuberkulin in tödlicher Dosis von 0,5 ccm subkutan eingespritzt.

Aber der erwartete Tuberkulintod ist hier nicht eingetreten, wenn auch die sämtlichen Tiere nach der Tuberkulininjektion jedesmal mit einer bedeutenden Temperatursteigerung oder mit einem Sturz nebst folgender Steigerung der Körpertemperatur antworteten.

2) Deshalb wurden nochmals dieselben Versuche mit einer vermehrten Dosis des Tuberkuloseserums von 1,5 ccm angestellt. Die Menge wurde 6 Meerschweinchen (a; I A und B, II A und B, III A und B) intravenös und 6 Meerschweinchen (b; I A und B, II A und B, III A und B) intraperitoneal eingespritzt und gleichfalls 0,5 ccm Alttuberkulin nach jedem der folgenden Tage subkutan eingespritzt.

Das Resultat war wieder negativ; d. h. ein typischer Tuberkulintod ist trotz heftiger Reaktion nicht aufgetreten.

3) Dann wurden die Versuche in einer kleinen Modifikation ausgeführt derart, daß das Alttuberkulin in einer Dosis von 0,5 ccm intravenös eingespritzt wurde, nachdem 6 Meerschweinchen (a; I A und B, II A und B, III A und B) vorher Tuberkuloseserum (je 1,0 ccm) intravenös, 6 Meerschweinchen (b; I A und B, II A und B, III A und B) intraperitoneal und ebenfalls 6 Meerschweinchen subkutan eingespritzt worden war.

Nun war das Resultat erst eklatant, indem die gesamten Tiere, welche sowohl 24 Stunden als auch 2 wie 3 Tage nach der intravenösen, intraperitonealen oder subkutanen Seruminjektion das Tuberkulin erhielten, nach einer intravenösen Injektion von 0,5 ccm desselben einen stürmischen Temperaturabfall, heftige Krämpfe, plötzlichen oder innerhalb einiger Stunden eintretenden typischen Tuberkulintod zeigten. Die Tiere (a; I A und B, II A und B, III A und B), denen das Serum intravenös eingespritzt worden war, gingen nach der Tuberkulininjektion sofort zugrunde, 2 (b; III A und B) von den Versuchstieren, denen eine intraperitoneale Seruminjektion gemacht worden war, starben ebenfalls plötzlich, während 4 davon (b; I A und B, II A und B) nach einer Stunde, und 2 (c; I A und B) von den Meerschweinchen mit vorhergehender subkutaner Seruminjektion nach 4½ Stunden, 2 (c; II A und B) weitere nach 8½ Stunden und die 2 übrigen (c; III A und B) gleich nach der Tuberkulininjektion zugrunde gingen.

Damit ist der Beweis erbracht, daß die durch Tuberkuloseserum übertragene passive Tuberkulinüberempfindlichkeit in dem Grad zu erreichen ist, daß ein typischer Tuberkulintod hervorgerufen werden kann.

V. Versuche B (Kontrolle für obige Versuche).

Es bleibt zu prüfen übrig, ob ein solcher Tod auch nach einer vorangehenden Injektion des Normalpferdeserums durch Tuberkulin würde hervorgerufen werden.

Zu diesem Zwecke wurden die Kontrollversuche in genau derselben Anordnung mit einem Normalpferdeserum gleichfalls bei 6 Meerschweinchen (a; I A und B, II A und B, III A und B) nach einer intravenösen Injektion des Normalserums, bei 6 Meerschweinchen (b; I A und B, II A und B, II A und B, III A und B) nach intraperitonealer Seruminjektion und bei 6 Meerschweinchen (c; I A und B, II A und B, III A und B) nach subkutaner Injektion ausgeführt. Nun war die Reaktion nach einer folgenden intravenösen Injektion von 0,5 ccm des Tuberkulins bei den sämtlichen Tieren leicht und nur ein Temperatursturz zu sehen, aber ein Tuberkulintod nicht bei einem einzigen Tiere zu beobachten.

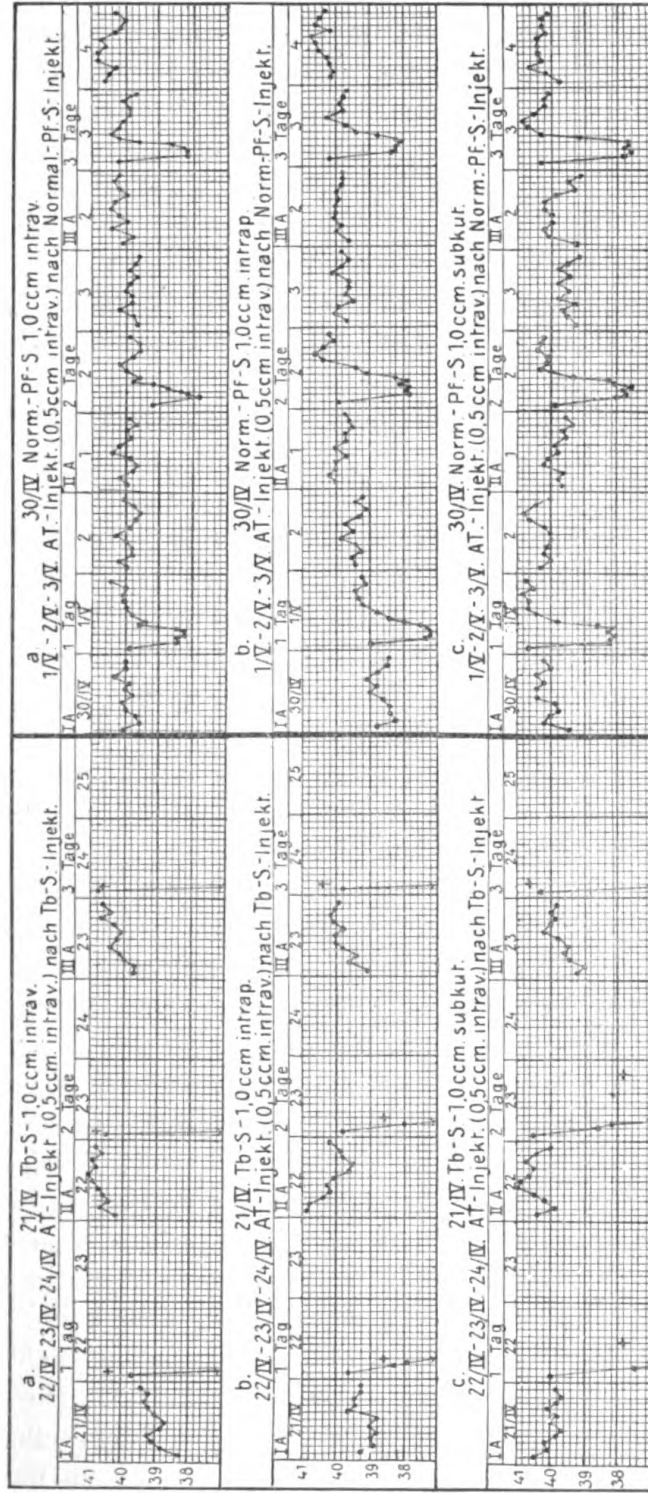
Tabelle V.

V. Versuche A.

Anaphylaktischer Tod durch passive Uebertragung des Tb.-Serums und nachher des Altuberkulins.

V. Versuche B.

Kontrolle mit Normal-Pferdeser.-Injektion (1,0 ccm intrav., intrap. und subkut.) und nachher AT.-Injektion (0,5 ccm intrav.).



Aus den oben erwähnten 5 verschiedenen Versuchen mit dem Tuberkuloseserum und Normalpferdeserum geht hervor, daß das angewandte Tuberkuloseserum durch eine einmalige intravenöse, intraperitoneale oder subkutane Einspritzung in der Dosis von 0,1, 0,5 und 1,0 ccm den gesunden Meer-schweinchen eine deutliche Tuberkulinüberempfindlichkeit zu verleihen imstande ist, welche nicht nur gegen eine Reaktionsdosis von 0,05 des Alttuberkulins mit einer merklichen Temperatursteigerung antwortet, sondern auch bei einer tödlichen Dosis von 0,5 den typischen Tuberkulintod zur Folge hat.

Zum Ueberfluß sei noch hinzugefügt, daß alle Neben-erscheinungen bei der Tuberkulinreaktion und dem Tuberkulin-tod in bekannter Weise ausgesprochen waren.

Alle Kontrollversuche mit dem Normalpferdeserum gaben einen ausschlaggebenden Beweis dafür, daß dasselbe nicht derartige hervorzurufen imstande ist. Nur dann kommt dem Normalpferdeserum eine ähnliche Wirkung zu, wenn dasselbe in größerer Dosis (1,0 ccm) eingespritzt wird. Außerdem vermag das Tuberkuloseserum auch nicht in relativ zu geringer Dosis (0,05 ccm) derartige Ueberempfindlichkeit hervorzurufen, was natürlich von der Wirksamkeit des angewandten Immun-serums abhängig sein würde.

Interessant ist das Resultat der vergleichenden Unter-suchung mit verschiedenen Immunseren in bestimmter Dosis in Bezug auf die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulin-empfindlichkeit. Man kann damit eine Wertmessungsmethode der Tuberkulosesera herausbilden.

Wenn man nun das gesamte Resultat meiner Versuche mit dem anderer Untersucher vergleicht, so fällt es auf, daß die Ergebnisse sehr abweichend waren. Nach meiner Meinung liegt der Grund für so abweichende Resultate zweifellos darin, daß man das Serum der tuberkulösen Menschen angewandt hat, welches ja in seiner spezifischen Wirkung sehr abweichend und öfters gar nicht stark genug sein kann. Mit Antituber-kuloseserum Höchst und Marburg haben auch Friedberger und Mita positive Resultate erhalten. Diesen Autoren gelang es sogar, die Fieberdosis von Tuberkelbacillen nach den Gesetze der Multipla mit Immunserum zu neutralisieren.

Zusammenfassung.

1) Die Tuberkulinüberempfindlichkeit ist durch eine einmalige Uebertragung des Tuberkuloserums auf das gesunde Meerschweinchen sicher erzielbar.

2) Die dadurch entstandene passive Tuberkulinüberempfindlichkeit zeichnet sich nicht nur durch eine typische Temperatursteigerung gegen Tuberkulininjektion bei Verwendung einer Reaktionsdosis aus, sondern es ist dabei auch ein typischer Tuberkulintod durch eine Injektion tödlicher Tuberkulindosen erzielbar.

3) Damit ist die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit durch Tuberkuloserum aufs sicherste nachgewiesen.

4) Es ergibt sich noch die Möglichkeit, damit die Wirkung des Tuberkuloserums zahlenmäßig zu prüfen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut zu Osaka, Japan.]

Untersuchungen über die spezifischen Wirkungen des Tuberkuloserums durch Anaphylatoxinversuche.

Von Professor **A. Sata.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Dezember 1912.)

Nachdem die Erscheinungen der Anaphylaxie sowohl durch Eiweißarten als auch durch tierische und pflanzliche Gifte sowie Bakterien von Richey, Behring, Arthus, Pirquet und Wolff-Eisner gefunden und damit verschiedene Versuche über aktive und passive Anaphylaxie von Rist, Axamit, Otto, Rosenau und Anderson, Kraus und Doerr sowie Friedberger angestellt worden sind, hat der letztere mit seinen Mitarbeitern in umfassender systematischer Untersuchung festgestellt, daß bei geeigneter Kombination von Antigen, Antikörper und Komplement ein Gift „Anaphylatoxin“ entsteht, welches aber bei weiterer Behandlung schließlich in ungiftige Spaltprodukte abgebaut wird. Diese Angaben Friedbergers über die Darstellung des Anaphylatoxins aus Bakterien im Reagenzglas wurden durch R. Kraus und besonders durch F. Neufeld und Dold bestätigt. Allerdings bedurfte Kraus zur Erzeugung des Giftes bedeutend größerer Mengen von Bakterien als Friedberger, Neufeld und Dold.

Was die Versuche mit Tuberkelbacillen anbetrifft, so hat vor allem Friedberger mit Goldschmidt und Schütze durch geeignete Mengen- und Zeitverhältnisse das Anaphylatoxin dargestellt, während Neufeld und Dold trotz variierender Menge keine regelmäßige Giftwirkung erzielten. Schließlich ist Aronson im Gegensatz zu Neufeld und in Uebereinstimmung mit Friedbergers Annahme die Herstellung des Anaphylatoxins aus Tuberkelbacillen stets gelungen. Nach ihm liegt das meist negative Resultat Neufelds an der geringen Menge der Bakterien, während es nach Neufeld vielleicht an der verschiedenen Beschaffenheit der Kulturen liegt. Nun konnte Friedberger das Anaphylatoxin durch die Einwirkung des Meerschweinchenkomplements allein erzielen, was auch Aronson bestätigt. Zahlreiche Versuche Aronsons ergaben noch, „daß der Ambozeptor bei der Giftbildung aus Bakterien sicher keine Rolle spielt“, daß bei den mit Immunsorum behandelten Bakterien eine schnellere Entgiftung nicht einwandfrei konstatiert wurde (bei Typhus- und Milzbrandbacillen), während bei den Versuchen von Friedberger und Schütze erst eine Giftabspaltung, dann aber eine rasche Giftzerstörung so gut wie regelmäßig erfolgt.

Nachdem ich das von mir hergestellte und klinisch mit Erfolg angewandte Tuberkuloseserum einer eingehenden Antikörperprüfung unterzogen hatte, lag es nahe, mit diesem Serum eine Reihe von Versuchen bezüglich einer Anaphylatoxinbildung auszuführen, um erstens die vielfach bestrittene Frage einer Nachprüfung zu unterziehen, und um zweitens damit die Wirkung meines Serums festzustellen. Nach zahlreichen Vorversuchen in mannigfach wechselnder Anordnung kam ich schließlich zum folgenden Resultat, welches zunächst tabellarisch, dann kurz im Text zusammengestellt werden soll, während die sich auf mehrere Monate erstreckenden Vorversuche der Kürze halber unerwähnt bleiben.

Die vorliegenden Versuche wurden von mir im Laufe des Februar und März 1912 in großer Reihe und an zahlreichen Meerschweinchen angestellt, von denen hier nur über einige berichtet werden soll.

Meine Anaphylatoxin-darstellung wurde nach Friedberger aufs sorgfältigste in folgender Weise ausgeführt: Die von ca. 30-tägigen Agarkulturen stammenden Tuberkelbacillen wurden zwischen reichlichem Fließpapier abgepreßt und ca. 8 Stunden im Brutofen getrocknet, danach in bestimmten Quantitäten abgewogen und erst für sich, dann mit einer bestimmten Menge von Komplement im Achatmörser verrieben. Wenn die Bakterien mit Immunsorum vorbehandelt werden sollten, so wurde hier die abgewogene Bakterienmasse erst für sich und dann mit abgemessenen

Quantitäten Kochsalzlösung sorgfältig in der Achatschale verrieben und in einzelne Reagenzgläser verteilt und dann bestimmte Mengen Immunsrum und Kochsalzlösung zugesetzt, so daß das Gesamtquantum 3,0 oder 5,0 cem betrug. Dann wurden sie schließlich mit Komplement digeriert.

Natürlich wurden die Versuche unter den verschiedensten Bedingungen angestellt und konnten schließlich bestimmte Mengen- und Zeitverhältnisse festgelegt werden, wobei die angenommenen Einflüsse des Immunsrum gegenüber der Giftspaltung im Vergleiche mit Normalserum ermittelt werden konnten.

Versuch IA.

Anaphylatoxinbildung aus Tuberkelbacillen durch Komplement.

Datum	Versuch	No.	Tb.	Komplement	Bei 38° Std.	Körpergew. d. Meerschw.	Reaktionen	Ausgang	Sektionsbefund
13.II.	1	1	0,05	4,0	2		Dyspnoë, sitzt wie tot, läuft nach 7 Min.	überlebt	
		2	0,1	4,0	2	100	dgl., nur leichter	tot 14. II. nachts	Lungenblähung
		3	0,2	4,0	2	120	Dyspnoë	tot nach 2 Min.	leichte Lungenblähung; Hyperämie
12.II.	2	4	0,2	2,0	2	120	Dyspnoë, leichte Krämpfe	überlebt	
		5	0,2	3,0	2	120	dgl.	dgl.	
		6	0,3	4,0	2	120	Dyspnoë, sitzt ruhig	tot 15. II. nachts	Lungenblähung
		7	0,4	4,0	2	120	dgl.	überlebt	
15.II.	3	8	0,2	2,0	11	120	dauernd Dyspn. leichte Krämpfe	tot nach 6 Std.	starke Lungenblähung; klein. Infarkt
		9	0,2	4,0	11	120	.	sofort tot	starke Lungenblähung
		10	0,3	4,0	11	120		dgl.	dgl.
24.II.	4	11	0,2	4,0 (56° 30')	2	120		dgl.	Lungenblähung
		12	0,3	4,0 (56° 30')	2	120		dgl.	dgl.
24.II.	5	13	0,2	2,0 (56° 30') + 2,0 (ClNa-Lös.)	2	120	Dyspnoë	tot nach 3 Min.	starke Lungenblähung
		14	0,3	2,0 (56° 30') + 2,0 (ClNa-Lös.)	2	120	fast reaktionslos	überlebt	

Zentrifugenabguß

Versuch I B.

Anaphylatoxinbildung aus Tuberkelbacillen durch Komplement.

Dat.	Vers. No.	Tb.	Komplement	Bei 38° Std.	Körpergew. d. Meerschw.	Reaktionen	Ausgang	Sektionsbefund
9. III.	1	0,2	4,0	2½	Zentrifugieren und Abguß	115 schwach	tot nach 17 Std.	Lungenblähung und Ekchym.
	2	0,3	„	2½		110 dgl.	tot nach 7 Std.	leichte Lungenblähung
	3	0,1	„	5		120 Herzklopfen, Krämpfe, ruhig	tot nach 50 Min.	Lungenblähung
	4	0,2	„	5		120 sitzt, schwache Sprünge, stark. Krämpfe	tot nach 7 Std.	starke Lungenblähung mit Hyperämie und Ekchym.
	5	0,3	„	5		120 schwach, wie gelähmt	überlebt	
		Bodensatz des Abzugs von						
9. III.	6	No. 4	4,5	2½		115 heftige Dyspn.	sof. tot	wie No. 4.
	7	No. 5	4,5	2½		110 dgl.	dgl.	dgl.
		Tb.	Kochs.-Lösung					
9. III.	8	0,2	3,0	2½	110 schwach	überlebt		
	9	0,3	„	2½	115 heftige Dyspn. und Krämpfe	sof. tot	leichte Lungenblähung	
				Kompl. 3,0				

Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß die optimalen Mengenverhältnisse von Tuberkelbacillen und Komplement bei 0,2 und 4,0 liegen (heftige Reaktion und plötzlicher Tod), während bei den übrigen Mengenverhältnissen eine so eklatante Reaktion nicht zu sehen war (Versuch I A, 1, 2, 3).

Merkwürdig ist es, daß das heftig wirkende Anaphylatoxin auch mit inaktiviertem Komplement oder dessen Kochsalzverdünnung darstellbar war (Versuch I A, 4, 5).

Wenn man Tuberkelbacillen von 0,1, 0,2 oder 0,3 mit Komplement von 4,0 2½ Stunden oder 5 Stunden digeriert, so erzielt man Anaphylatoxin in verschiedener Stärke (Versuch I B).

Es wurden einmal die Tuberkelbacillen erst mit Kochsalzlösung für 2½ Stunden im Brutofen gelassen, dann deren Abzug und Bodensatz jedes für sich mit Komplement digeriert und dabei wieder eine Anaphylatoxinbildung nachgewiesen (I B).

Versuch II A.
Anaphylatoxinbildung aus den mit Tuberkuloseserum beladenen Tuberkelbacillen durch Komplement.

Datum	Versuch	N ^o	Tb.	Gesamt-quantum von C ₁ Na-Lösung mit Tb. und Tb.-S.	Tb.-S. (No. 29)	Bei 38° Komplement	Bei 38° Std.	Körpergew. des Meerschw.	Intravenöse Injektion	Reaktionen	Ausgang	Sektionsbefund
11. III.	1	1	0,2	5,0	1,0	4,5	5	115	8 ⁴⁵	Krämpfe und Dyspnoe, sitzt wie gelähmt	nachts tot	Lungen mit Hämorrhagie
		2	"	"	0,5	"	5	110	8 ⁵⁸	leichte Dyspnoe; einige Krämpfe	tot nach 6 Min.	starke Lungenblähung mit Ekchym.
		3	"	"	0,1	2	"	115	9 ⁰⁶	leichte Dyspnoe	überlebt	Lungenblähung mit leichten Ekchym.
		4	"	"	—	2	"	105	9 ¹²	starke Dyspnoe	tot nach 3 Min.	Lungenblähung mit leichten Ekchym.
11. III.	2	5	0,2	3,0	1,0	4,5	5	115	11 ⁴⁰	dauernde, heftige Krämpfe u. Dyspnoe.	tot nach 33 Min.	leichte Lungenblähung
		6	"	"	0,5	2	"	100	11 ⁵⁰	Krämpfe, dann ruhig, schwach	tot nach 4 Std. 30 Min.	leichte Lungenblähung mit Ekchym.
		7	"	"	0,1	2	"	105	12 ⁰⁰	leichte Krämpfe	tot nach 3 Std. 35 Min.	wie No. 2
		8	"	"	—	2	"	105	12 ¹⁵	heftige Krämpfe u. Dyspnoe	tot nach 6 Min.	starke Lungenblähung mit fluss. Blut
11. III.	3	9	0,2	3,0	1,0	4,5	5	110	4 ⁴⁰	leichte Krämpfe u. Dyspnoe	tot nach 22 Std. 22 Min.	leichte Lungenblähung
		10	"	"	0,5	17	"	110	4 ⁴⁷	dgl.	überlebt	
		11	"	"	0,1	17	"	115	5 ⁰⁰	leichte Krämpfe u. starke Dyspnoe	tot nach 6 Min.	starke Lungenblähung
		12	"	"	—	17	"	105	5 ⁰⁰	dgl.	tot nach 2 Min.	dgl.
11. III.	4	13	0,2	3,0	0,1	4,0	3	115	3 ⁴⁶	leichte Krämpfe u. Dyspnoe	tot nach 18 Std. 14 Min.	ganz leichte Lungenblähung
		14	"	"	0,5	12	"	110	3 ⁵⁶	starke Krämpfe u. Dyspnoe	tot nach 3 Min.	starke Lungenblähung mit Ekchym.
		15	"	"	0,01	12	"	105	4 ⁰⁶	Krämpfe u. Dyspnoe	tot in der Nacht	hochgrad. Lungenblutung u. mäßige Lungenblähung
		16	"	"	—	12	"	110	4 ¹³	starke Krämpfe u. Dyspnoe	tot nachts	dgl.
		17	"	"	—	"	100			tot nach 3 Min.	Lungenblähung	

Versuch

Anaphylatoxinabspaltung und -zerstörung aus den mit Tuberkuloseserum

Datum	Versuch No.	Tb.	Gesamt-quantum von ClNa-Lösung mit Tb. u. Tb.-Ser.	Tb.-Serum (55° 30 Min.)	Normal-pferdeserum (55° 30 Min.)	Bei 38° Std.	Komplement	Bei 38° Std.	Körpergew. des Meerschw.	Intravenöse Injektion	
21. III.	1	1	0,2	3,0	0,05 (No. 22)	.	5	4,0	5	105	2 ⁵⁵
		2	"	"	0,05 (No. 23)	.	5	"	5	100	3 ¹⁶
		3	"	"	0,05 (No. 38)	.	5	"	5	115	3 ⁴⁵
		4	"	"	0,05 (No. 38)	.	5	"	5	100	3 ⁵⁵
		5	"	"	0,05 (No. 48)	.	5	"	5	110	4 ¹⁶
		6	"	"	0,05 (No. 48)	.	5	"	5	115	4 ²⁸
		7	"	"	.	0,05 (No. 1)	5	"	5	100	4 ³⁸
		8	"	"	.	0,05 (No. 1)	5	"	5	90	4 ⁴⁵
		9	"	"	.	0,05 (No. 3)	5	"	5	90	5 ¹⁵
		10	"	"	.	0,05 (No. 2)	5	"	5	100	5 ²¹
24. III.	2	11	0,2	3,0	0,5 (No. 22)	.	5	4,0	5	120	1 ³⁰
		12	"	"	0,5 (No. 22)	.	5	"	5	115	1 ³⁸
		13	"	"	0,5 (No. 38)	.	5	"	5	120	1 ⁵⁰
		14	"	"	0,5 (No. 38)	.	5	"	5	110	1 ⁵⁹
		15	"	"	0,5 (No. 48)	.	5	"	5	105	2 ¹⁰
		16	"	"	0,5 (No. 48)	.	5	"	5	105	2 ²²
		17	"	"	.	0,5 (No. 1)	5	"	5	100	2 ³⁴
		18	"	"	.	0,5 (No. 2)	5	"	5	105	2 ⁴⁴
		19	"	"	.	0,5 (No. 2)	5	"	5	105	2 ⁵³
		20	"	"	.	(0,5 No. 2)	5	"	5	105	3 ⁰¹
27. III.	3	21	0,2	3,0	0,5 (No. 22)	.	5	4,0	5	105	2 ³¹
		22	"	"	0,5 (No. 22)	.	5	"	5	100	2 ⁴⁰
		23	"	"	0,5 (No. 38)	.	5	"	5	120	2 ⁵³
		24	"	"	0,5 (No. 38)	.	5	"	5	105	3 ⁰⁵
		25	"	"	0,5 (No. 48)	.	5	"	5	110	3 ¹³
		26	"	"	0,5 (No. 48)	.	5	"	5	100	3 ²⁰
		27	"	"	.	0,5 (No. 1)	5	"	5	100	3 ³⁰
		28	"	"	.	0,5 (No. 1)	5	"	5	100	3 ⁵⁰
		29	"	"	.	0,5 (No. 2)	5	"	5	110	4 ⁰²
		30	"	"	.	0,5 (No. 2)	5	"	5	90	

Zentrifugieren und Waschen, nochmals zentrifugieren

Zentrifugieren und Abguß

II B.

oder Normalpferdeserum beladenen Tuberkelbacillen durch Komplement.

Reaktionen	Ausgang	Sektionsbefund
heftige Krämpfe u. Dyspnoë wie No. 1, nur leichter	tot nach 1 Std. 3 M. tot nach 49 Min.	Lungenblähung
leichte Krämpfe u. Dysp., lebhaft, plötzlich gefallen, Krämpfe	tot nach 1 Std. 15 M.	„
anfangs lebh., dann plötzl. Krämpfe	tot nach 31 Min.	„
heftige Dyspnoë	tot nach 3 Min.	starke Lungenbläh. mit leichter Blutung
anfangs lebh., dann ruhig wie gelähmt	tot nach 3 Std. 12 M.	Lungenblähung mit leichten Ekchym.
schwere Dysp., dann: sitzt u. läuft	tot nach 5 Std. 42 M.	dgl.
leichte Dyspnoë	tot nach 5 Std. 20 M.	„
leichte Dyspnoë, läuft, lebhaft Spr.,	tot nach 10 Min.	starke Lungenblähung
heftige Krämpfe		
dgl.	tot nach 11 Min.	Lungenblähung mit leichten Ekchym.
leichte Krämpfe, starkes Herzkl. und Dyspnoë, aber lebhaft, sitzt wie No. 11, ruhig, leicht. Herzkl. u. Dyspnoë, läuft sofort lebhaft	überlebt	
schwere Dysp. u. Sprünge, heftige Kr.	tot nach 8 Min.	hochradige Lungenblähung
schwere Krämpfe u. Dyspnoë, wie tot, atmet wieder, sitzt ruhig	überlebt	
lebhaft, läuft sofort	„	
leichte Dyspnoë und Krämpfe, sitzt ruhig	„	
starke Dyspnoë, wie gelähmt, Spr.,	tot nach 10 Min.	hochgrad. Lungenblähung mit -blutung.
heftige Krämpfe		
heftige Dysp., fast Stillstand, schw. Krämpfe, legt sich, fast tot	überlebt	
heftige Krämpfe u. Dyspnoë, einige Agonalatmung	tot nach 3 Min.	hochgrad. Lungenblähung mit leichten Ekchym.
heftige Krämpfe u. Dyspnoë, Nasenbluten, liegt wie tot	überlebt	dgl.
heftige Krämpfe und Dyspnoë, fast tot, erholt sich aber	überlebt	
lebhaft, läuft sofort	„	
leichte Dyspnoë, läuft lebhaft	„	
reaktionslos, unbedeutende Sprünge und Dyspnoë	„	
leichte Dyspnoë, lebhaft	„	
heftige Krämpfe und Dyspnoë	sofort tot	ganz leichte Lungenblähung
dauernd heftige Krämpfe u. Dysp., Rückenlage	tot nach 5 Min.	hochgradige Lungenblähung
heftige Krämpfe und Dyspnoë	tot n. 17 Std. 15 M.	leichte Blähung
dgl.	tot nach 5 Min.	hochgradige Lungenblähung
	dgl.	leichte Lungenblähung

Bei diesen Versuchen wurden die Tuberkelbacillen erst mit Immunserum in verschiedenem Zeitraum vorbehandelt, dann mit Komplement digeriert und zur Kontrolle mit Kochsalzlösung oder mit Normalpferdeserum vorbehandelt. Das Resultat war ein bischen variabel, aber stets ein bestimmter Einfluß des Immunserums klar ersichtlich, so daß die Kontrolltiere immer plötzlich starben, während die übrigen viel länger lebten. Es erweist sich also in Uebereinstimmung mit Friedberger, daß das Anaphylatoxin durch die Vorbehandlung des Immunserums rasch zum weiteren Abbau geführt wird (Versuch II A, siehe p. 79).

Wie oben dargestellt, wurden dann weitere Versuche vorgenommen, um Einflüsse des Immunserums im Vergleiche mit Normalserum in noch ausgedehnter Weise festzustellen. Zu erwarten war, daß die mit Immunserum-Anaphylatoxin behandelten Tiere viel länger leben würden, während die mit Normalserum-Anaphylatoxin behandelten Kontrolltiere rasch zugrunde gehen sollten. Allerdings war das Resultat der ersten Versuchsreihe ziemlich variabel und das der zweiten auch nicht sehr eklatant, aber hier ist der Einfluß des Immunserums doch augenscheinlich, so daß ein ersichtlicher Unterschied in den Reaktionen zwischen den beiden Gruppen besteht, wenn man die Erscheinungen nach der Injektion in Betracht zieht.

Eklatant war das Resultat der dritten Reihe, in der alle Versuchstiere, nur mit einer einzigen Ausnahme, fast reaktionslos blieben, während die Kontrolltiere mit einer einzigen Ausnahme sofort starben. Auf Grund dieser Versuche wird man kaum Zweifel hegen an dem Einfluß der Vorbehandlung mit Immunserum auf die Giftzerstörung.

Wenn die Tuberkelbacillen in gewissen Mengen (Optimum 0,2 g) nach einer Beladung mit dem Immunambozeptor (Tuberkuloseserum) durch Komplement (frisches Meerschweinchenserum) unter bestimmter Bedingung digeriert werden, so entsteht erst ein typisch wirkendes Gift (Anaphylatoxin-enspaltung).

Wenn die Tuberkelbacillen aber bei sonst derselben Bedingung noch stärker beladen werden, so wird das entstandene

Gift rasch zum zweiten Abbau geführt (Anaphylatoxinentgiftung), während das Gift noch in voller Wirksamkeit bei den Kontrollversuchen besteht, bei welchen die Tuberkelbacillen bei sonst derselben Bedingung nur mit dem Normalpferdeserum beladen werden.

Daraus kann man wohl eine spezifische und giftzerstörende Wirkung des Tuberkuloseserums ersehen.

Zum Schluß will ich nicht unerwähnt lassen, daß die Reaktionen nach der intravenösen Einspritzung des digerierten Abzuges sehr mannigfaltig aufzutreten pflegten. Sie bestehen im wesentlichen aber in den bekannten Dyspnoën, Zuckungen, Springkrämpfen, Lähmungen und später Atemstillstand. Die Tiere gehen öfter plötzlich oder binnen einiger Minuten zugrunde. Die Lungen sind charakteristisch ad maximum dilatiert, oft mit Hämorrhagien.

Zusammenfassung.

1) Das Anaphylatoxin ist aus Tuberkelbacillen in Friedbergers Sinne bei Innehaltung gewisser optimaler, quantitativer und zeitlicher Bedingungen leicht herzustellen.

2) Das Anaphylatoxin wird entweder durch einfache Behandlung der Bacillen mit Komplement, oder durch Vorbehandlung mit Normalpferdeserum sowie Immunserum leicht hergestellt.

3) Ein weiterer Abbau des Anaphylatoxins in niedere ungiftige Spaltprodukte ist durch eine Modifikation der Versuchsbedingungen herzustellen.

4) Bestimmte Einflüsse des Immunserums auf diese Giftzerstörung wurden nachgewiesen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut zu Osaka, Japan.]

**Untersuchungen über die spezifischen Wirkungen des
Tuberkuloseserums durch Mischungsversuche von Tuber-
kulin und Tuberkuloseserum.**

Von Professor **A. Sata.**

Mit 1 Kurventafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Dezember 1912.)

Auf Grund der Möglichkeit einer Bildung des Anaphylatoxins aus Tuberkelbacillen und besonders der giftabspaltenden wie -vernichtenden Wirkung meines Tuberkuloseserums erscheint mir naheliegend, daß man durch eine einfache Mischung von Gift und Immunserum, bei geeigneten Zeit- und Mengenverhältnissen und in bestimmter Temperatur, auch in vitro erst einen giftigen Stoff, dann aber wieder dessen Abbaustoff herstellen könnte. Tatsächlich ist es uns nach zahlreichen Versuchen gelungen, durch eine bestimmte Mischung von Alttuberkulin, eventuell Tuberkelbacillenpulver-Emulsion einerseits und Tuberkulose-Immunserum andererseits (1:1 oder 1:9) nach einem bestimmten Zeitraum bei Bruttemperatur einen Giftstoff herzustellen, welcher bei Meerschweinchen, durch intravenöse oder subkutane Injektion, eine Temperatursteigerung oder einen Temperatursturz nebst anderen Symptomen, sowie auch anaphylaktischen Tod hervorzurufen imstande ist. Dieser Stoff geht aber dann zugrunde, wenn man die genannte Mischung noch eine Zeitlang bei Bruttemperatur stehen läßt.

In der neueren Literatur gibt es genau dieselben Versuche wie von mir überhaupt nicht; nur Ruppel und Rickmann haben vor zwei Jahren bei den Studien mit ihren Tuberkuloseseren Versuche angestellt, um zu entscheiden, ob der spezifische Ambozeptor die Giftwirkung des Tuberkulins zu neutralisieren vermag, so daß die Mischung bestimmter Menge Tuberkulin und Tuberkuloseserum für tuberkulöse Tiere indifferent ist. Aus diesen Versuchen ergab sich, daß

die Neutralisierung des Tuberkulosegiftes in den Tuberkelbacillen und in dem albumosenfreien Tuberkulin gelingt, während eine Entgiftung des Alttuberkulins scheinbar mißlungen ist, respektive erst nach einer längeren Erwärmung von 4—5 Tagen stattfindet. Sie nahmen aber ihre Versuche natürlich nur an tuberkulösen Meerschweinchen vor, während Moro und Tomono, sowie Kiralyfi im vorigen Jahre die Einwirkung des frischen Serums von tuberkulinpositiven Menschen gegen Alttuberkulin an gesunden Menschen und Tieren erprobten. Moro und Tomono konnten nach 1- bis 2-tägiger Einwirkung des aktiven Serums vom Menschen mit stark positiver Tuberkulinreaktion auf Alttuberkulin in vitro aus letzterem keine Stoffe erzielen, die normalen, tuberkulin-negativen Menschen kutan verimpft, eine Entzündungsreaktion hervorrufen. Die Versuche von Kiralyfi, welche mit einer Mischung von gleichen Teilen Tuberkulin und Serum, nach 24-stündiger Einwirkung im Brutofen, sowohl bei Kaninchen (Ophthalmoreaktion) als auch bei Meerschweinchen (intra-kutane und intraperitoneale Injektion) angestellt wurden, fielen verschiedenartig aus, doch ist wahrscheinlich gemacht, daß das Serum Tuberkulöser eine Substanz enthält, welche dem Tuberkulin, auch in vitro, toxische Eigenschaften verleiht. Eine entgiftende Einwirkung auf das Tuberkelbacilleneiweiß durch Tuberkuloseimmunserum gelang Friedberger und Mita.

Wir haben nach verschiedenen Vorbereitungsversuchen mein Tuberkuloseserum mit Alttuberkulin gemischt und sofort, dann aber nach 24-stündigem oder 2-, 3-, 4-, 5-, 6-tägigem Aufenthalt in Bruttemperatur, einer Reihe von gesunden Meerschweinchen sowohl intravenös als auch subkutan injiziert, deren Temperatur vor wie nach der Injektion genau gemessen war. Auch die sonstigen Symptome wurden beobachtet. Wie gesagt, habe ich mich davon überzeugt, daß das tuberkulöse Gift durch die Einwirkung des Tuberkuloseserums ganz regelmäßig beeinflußt wird, so daß es erst eine giftige Wirkung auf gesunde Tiere entfaltet und sie später wieder verliert.

Die folgenden Versuche wurden im Laufe vom 20. März bis zum 26. Juni 1912 von meinem Assistenten Herrn Dr. S. Matsumura nach meinem Plan ausgeführt.

Versuch I (s. Kurventafel).

Zur Orientierung, ob das Tuberkuloseserum Tuberkulin auf irgendeine Weise durch die Mischung und bei Bruttemperatur beeinflussen kann, stellten wir erst eine Mischung von gleichen Teilen Tuberkulin und Tuberkuloseserum her und ließen sie im Brutofen bei 38° C stehen, und injizierten nach 24 Stunden, 2 Tagen, 3, 4 und 5 Tagen jedesmal 4 Meerschweinchen (160—200 g) sowohl intravenös als auch subkutan. Die Injektionsdosis betrug 0,1 ccm, also der darin enthaltene Tuberkulingehalt 0,05 ccm. Die Tiere wurden einen Tag vor bis 5 Tage nach der Injektion beobachtet und ihre Temperatur täglich 4—7 mal gemessen (s. I A).

Das zweite Mal wurde die Mischung von 1 Teil Tuberkulin und 9 Teilen Tuberkuloseserum hergestellt, und die Injektionsdosis in 0,5 (Tuberkulingehalt 0,05) angewandt; sonst genau dieselbe Anordnung wie das vorige Mal (s. I B).

Man könnte den Einwand erheben, daß die scheinbare Beeinflussung des Tuberkulins auf dem darin enthaltenen Peptongehalt beruhe. Um diesen Einwand zu widerlegen, nahmen wir einen Versuch in derselben Anordnung mit albumosenfreiem Tuberkulin in der Mischung von einem Teil desselben und 9 Teilen Tuberkuloseserum vor (s. I C).

Zum Schlusse stellten wir als Kontrolle noch einen Versuch mit einer Mischung von Alttuberkulin (1,0) und Normalpferdeserum (9,0) an, um die spezifischen Wirkungen des Tuberkuloseserums bei den oben genannten Versuchen nachzuweisen (s. I D).

Aus alledem geht hervor, daß das angewandte Tuberkuloseserum das Tuberkulin in bestimmter Weise beeinflussen kann; die Mischung ruft nämlich nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutofen eine langsame schwache Temperatursteigerung an dem gesunden Meerschweinchen hervor. Diese Wirkung der Mischung auf das gesunde Meerschweinchen nimmt mit der Zeit zu, wenn dieselbe 2—5 Tage im Brutofen verbleibt, so daß die Injektion allmählich eine akute und starke Temperatursteigerung hervorruft. Es kommt oft vor, daß ein heftiger Temperatursturz mit weiterer Steigerung nach der Injektion folgt. Die Tiere sterben dabei auch nicht selten. Hinsichtlich der Reaktion herrscht kein großer Unterschied zwischen Alttuberkulin und albumosenfreiem Tuberkulin. Bei den Kontrollversuchen bemerkt man zwar eine leichte Temperaturschwankung, aber niemals so deutlich und regelmäßig.

Versuch II.

Aus den obigen Versuchen waren gewisse Einflüsse des Immunserums gegen Tuberkulin *in vitro* wohl ersichtlich, aber das Resultat der Versuche war noch nicht eklatant genug, so daß man mit aller Sicherheit die erwarteten Einflüsse des Serums in exakter Weise hätte demonstrieren können. In dieser Absicht nahmen wir eine zweite Reihe von Versuchen vor, wie folgt:

Hier wurde die Mischung, nach bestimmten Zeiträumen in Bruttemperatur, den Meerschweinchen (160—200 g) intravenös eingespritzt, mit dem Erfolg, daß die injizierten Tiere mit bestimmten Erscheinungen in kurzer Zeit starben. Ferner sei bemerkt, daß die nachfolgend verwendeten Sera 30 Minuten lang bei 55° C inaktiviert wurden.

Versuch II, 1. Zur Gewinnung der Orientierung, welche Dosis von Tuberkulin, allein intravenös eingespritzt, ein gesundes Meerschweinchen in kurzer Zeit töten kann, wurde das reine Tuberkulin in 0,8 und in 0,6 je einem Meerschweinchen, in 0,5 4 Meerschweinchen und in 0,4 2 Meerschweinchen eingespritzt (180—200 g). Die ersten 2 Gruppen starben sofort nach der Injektion und 3 von der 3. sowie 1 von der 4. ebenso, während je eines von der 3. und 4. am Leben blieb. Die Sektion ergab natürlich keine Tuberkulose. Daraus sieht man, daß das junge gesunde Meerschweinchen intravenöse Einspritzungen von Tuberkulin von 0,4 kaum vertragen kann.

Versuch II, 2. Es wurde Alttuberkulin mit physiologischer Kochsalzlösung in gleichen Teilen gemengt und in Dosis von 2,0 (alle tot), 1,5 (alle tot), 1,0 (1 tot, das andere lebt), 0,8 (alle tot) und 0,6 (alle lebend) je 2 Meerschweinchen eingespritzt. Daraus ersieht man, daß das Meerschweinchen die Lösung in 0,6 gut vertragen kann.

Versuch II, 3. Das Normalpferdeserum wurde in je 2,0 2 Meerschweinchen eingespritzt; sie waren munter. Dann fügte man dem Normalpferdeserum Alttuberkulin zu gleichen Teilen hinzu und diese Mischung wurde in 1,0 3 Meerschweinchen (alle tot), in 0,8 (alle tot), in 0,6 (alle tot), 0,5 (1 tot), 0,4 (alle munter), 0,3 (alle munter) je 2 Meerschweinchen intravenös eingespritzt.

Versuch II, 4. Hier wurde eine Mischung von Tuberkuloseserum und Alttuberkulin in gleichen Teilen in Dosis von 0,4 2 Meerschweinchen direkt nach der Mischung eingespritzt, und sie waren alle munter. Diese Mischung bis 9 Tage bei Bruttemperatur stehen gelassen, ergab, in Dosis von 0,4 je 4 Meerschweinchen eingespritzt, nach 24 Stunden: 3 tot, 1 lebt, nach 2 Tagen: alle tot, nach 3 Tagen: 1 tot, 3 lebten, nach 6 Tagen: alle tot, nach 7 Tagen: alle tot, nach 8 Tagen: Hälfte tot, nach 9 Tagen: alle munter, nach 10 Tagen: alle munter. Daraus ergibt sich aufs deutlichste, daß die Mischung durch das mehrtägige Stehenlassen in Bruttemperatur erst giftig, dann aber nach 9 Tagen wieder entgiftet wird.

Versuch II, 4 (42 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Alt tuberkulin und Tuberkuloseserum No. 48

(1,0:1,0).

Einwirkungsdauer des Serums: von sofort bis nach 10 Tagen bei 38°.

Injektionsweise und -dosis: intravenös in je 0,4 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körper- gewicht	Reaktion	Aus- gang	Zeitraum bis zum Tod	Sektionsbefund
sofort nach Mischung	1	170	keine besond. Reaktion	lebt		
	2	170	keine besond. Reaktion	„		
1 Tag	1	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Kontrakt. d. Herzkammer, Lungenblähung, Blutung in Nebenniere
	2	170	sofort u. wieder nach 15' Krämpfe u. Dysp.	lebt		
2 Tage	3	160	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Kontrakt. d. l. Herzkamm., Lungenbläh. u. -ekchym.
	4	160	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	5'	Lungenbläh. ohne Ekchym.
	5	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	10'	Kontrakt. d. l. Herzkamm. Lungenbläh. u. -ekchym.
	6	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	10'	Blutung der Nebenniere, Kontrakt. d. l. Herzkamm., Lungenbläh. u. -ekchym.
	7	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	5'	Lungenbläh. u. -ekchym.
	8	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	10'	Lungenbläh. u. -ekchym.
3 Tage	9	160	sof. u. nach 10' Krämpfe u. Dyspnoë	„ lebt		
	10	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Kontrakt. d. l. Herzkamm., Lungenblähg. u. -ekchym., Blutung
	11	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	10'	wie oben sonst Blutung d. Nebenniere
4 Tage	12	170	gleichfalls sof. u. nach 10'	lebt		
	13	160	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Lungenblähung, Stauung der Niere
	14	160	sof. u. nach 17' Krämpfe	lebt		
	15	160	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Kontrakt. d. l. Herzkamm., Lungenbläh. u. -ekchym., Blutung der Nebenniere
5 Tage	16	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	5'	Kontrakt. d. Herzkammer, Lungenbläh. u. -ekchym.
	17	170	sof. u. später Krämpfe	lebt		
	18	170	sof. u. nach 15' Krämpfe	„		
	19	170	sof. u. nach 10' Krämpfe	„		
6 Tage	20	170	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Lungenbläh. u. -ekchym.
	21	160	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	10'	Kontrakt. d. Herzkammer Lungenbläh. u. -ekchym.
	22	150	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	5'	Lungenbläh. u. -ekchym.
	23	150	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	5'	Lungenbläh. u. -ekchym.
	24	150	sof. u. nach 10' Krämpfe	„	48'	Lungenbläh. u. -ekchym.

Aufenthalt im Brutofen	Tier-No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang	Zeitraum bis zum Tod	Sektionsbefund
7 Tage	25	150	sof. u. nach 15' Krämpfe u. Dyspnoë	tot	22'	Kontrakt. d. Herzkammer, Lungenbläh. u. -ekchym. Lungenblähung u. Blutung der Nebenniere Kontrakt. d. Herzkammer, Lungenbläh. u. -ekchym. Lungenbläh. u. -ekchym.
	26	150	sof. u. nach 20' gleichfalls	„	3 Tage	
	27	165	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	10'	
	28	150	sof. Krämpfe u. Dysp.	„	5'	
8 Tage	29	160	sof. Krämpfe u. Dysp.	tot	5'	Lungenekchymose
	30	180		lebt		
	31	170		„		
	32	170	sof. u. nach 17' Krämpfe u. Dyspnoë	tot		
9 Tage	33	180		lebt	2 Tage	
	34	160		„		
	35	170		„		
	36	170		„		
10 Tage	37	170		lebt		
	39	190		„		
	39	180		„		
	40	170		„		

Versuch II, 5. Zur Kontrolle der vorangehenden Versuche wurde eine Mischung von Normalpferdeserum und Alttuberkulin zu gleichen Teilen, in Dosis von 0,4, nach 24 Stunden, nach 2 Tagen und nach 3 Tagen bei Bruttemperatur, je 4 Meerschweinchen eingespritzt. Alle Tiere waren munter.

Ein Versuch, bei welchem die Mischung sofort nach der Herstellung eingespritzt wurde, wurde hier nicht angestellt, weil derartige Versuche schon bei Versuch II, 3 ausgeführt worden sind. Aus den obengenannten Versuchen geht hervor, daß die Mischung hier, nach mehrtägigem Stehenlassen bei Bruttemperatur doch keine Giftigkeit erwirbt.

Versuch II, 5 (8 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Alttuberkulin und Normalpferdeserum (1,0:1,0).
 Einwirkungsdauer des Serums: von sofort bis 3 Tagen bei 38°.
 Injektionsweise und -dosis: intravenöse in je 0,4 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier-No.	Körpergew.	Reaktion	Ausgang
sofort nach Mischung	1	170	keine besondere	lebt
	2	180	„ „	„
1 Tag	3	180	„ „	„
	4	180	„ „	„

Aufenthalt im Brutofen	Tier-No.	Körpergew.	Reaktion	Ausgang
2 Tage	5	180	keine besondere	lebt
	5	180	" "	"
3 Tage	7	170	" "	"
	8	170	" "	"

Versuch III.

Weitere Versuche in derselben Anordnung wurden mit einer Mischung von 1 Teil Tuberkulin und 9 Teilen Serum ausgeführt.

Versuch III, 1. Es wurde zunächst eine Mischung von Tuberkulin und Normalpferdeserum (1:9) in Mengen von 2,0, 2,5, 3,0 je 2 Meerschweinchen sofort nach der Herstellung eingespritzt, und alle waren munter.

Versuch III, 2. Hier wurde eine Mischung von Alttuberkulin und Tuberkuloseserum (1:9) in Dosis von 1,0, 1,5, 2,0 und 2,5 je 2 Meerschweinchen gleich nach der Herstellung eingespritzt. Zwei Meerschweinchen, welche 2,5 eingespritzt erhielten, starben sofort, während alle andern munter blieben.

Versuch III, 3. Zur Ergänzung der obigen Versuche wurde wieder eine Mischung von Alttuberkulin und Tuberkuloseserum (1:9) in 1,5 nach 24 Stunden bei Bruttemperatur 3 Meerschweinchen (1 tot, 2 munter), nach 2, nach 3, nach 4 Tagen je 2 Meerschweinchen eingespritzt; sie alle waren munter. Daraus ergibt sich, daß die Mischung durch die Einwirkung mehrtägiger Bruttemperatur nicht befähigt wurde, in 1,5 Meerschweinchen zu töten.

Versuch III, 4. Deshalb wurde die genannte Mischung wieder in 2,0 nach 24 Stunden 3 Meerschweinchen (alle munter), nach 2 Tagen 2 Meerschweinchen (1 tot), nach 3 Tagen 2 Meerschweinchen (1 tot) eingespritzt.

Versuch III, 5. Aus den erwähnten Versuchen geht hervor, daß die Mischung von Tuberkulin und Tuberkuloseserum in Dosis unter 2,0 selbst nach mehrtägiger Einwirkung von Bruttemperatur nicht sicher Meerschweinchen töten kann, während aber mit 2,5 das Tier sofort nach der Mischung schon getötet wird (s. Versuch III, 1). Deshalb wurde hier die Mischung in Dosis von 2,5

nach 24 Stunden	(1 tot)
" 2 Tagen	(1 ")
" 3 "	(alle tot)
" 4 "	(" ")
" 5 "	(" ")
" 6 "	(" munter)
" 7 "	(" ")

je 2 Meerschweinchen eingespritzt. Es ergibt sich, daß die Mischung durch das Stehenlassen von 24 Stunden bis 5 Tagen bei Bruttemperatur eine giftige Eigenschaft erwirbt, welche aber nach 6–7 Tagen wieder vernichtet wird.

Versuch III, 5 (16 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Alt-Tb. und Tb.-Serum No. 48 (1,0:9,0).

Einwirkungsdauer: von sofort bis nach 7 Tagen.

Injektionsweise und -dosis: intravenöse in 2,5 ccm.

Aufenth. im Brutofen	Tier No.	Körper- Gewicht	Reaktion	Aus- gang	Zeitraum bis zum Tod	Sektionsbefund
sofort n. Mischung	1	180	sofort Krämpfe und Dyspnoë.	tot		Lungenblähung u. -ekchymose.
	2	170	sofort Krämpfe und Dyspnoë.	„		Lungenblähung u. -ekchymose.
1 Tag	1	170	sofort Krämpfe und Dyspnoë in 3' nach der Injektion.	„	10'	Kontrakt. der Herz- kammer. Lungen- bläh. u. -ekchym.
	2	170	Nach der Injekt. 2' Krämpfe, Dyspnoë nach 20' Wiederh.	lebt		
2 Tage	3	170	nach der Injekt. 2' Krämpfe u. Dyspn.	tot	5'	Kontrakt. der Herz- kammer, Lungen- bläh. u. -ekchym.
	4	170	nach der Injekt. 2' Krämpfe, Dyspnoë nach 20' Wiederh.	lebt		
3 Tage	5	170	sofort Krämpfe und Dyspnoë.	tot	10'	Kontrakt. der Herz- kammer, Lungen- bläh. u. -ekchym.
	6	170	nach der Injekt. 2' Krämpfe u. Dyspn.	„	15'	Kontrakt. der Herz- kammer, Lungen- bläh. u. -ekchym.
4 Tage	7	180	nach der Injekt. 3' Krämpfe u. Dyspn.	„	10'	Kontrakt. der linken Herzkamm.; Stau- ung d. Lunge; Lun- genekchymose.
	8	180	nach der Injekt. 2' Krämpfe u. Dyspn.	„		Kontrakt. der Herz- kammer, Stauung d. Lunge, Lungen- ekchymose.
5 Tage	9	180	nach der Injekt. 2' Krämpfe u. Dyspn.	„	10'	Kontrakt. der Herz- kammer, Blutung d. Nebenniere, Stau- ung der Lunge.
	10	180	sofort Krämpfe und Dyspnoë.	„	5'	Kontrakt. der Herz- kammer, Lungen- blähung.
6 Tage	11	180	nach der Injekt. 3' Krämpfe, Dyspnoë nach 10' Wiederh.	lebt		
	12	170	sofort Krämpfe und Dyspnoë nach der Inj.; 15' Wiederh.	„		
7 Tage	13	180				
	14	180				

Versuch III, 6. Zur Kontrolle der letzten Versuche wurde hier eine Mischung von Alttuberkulin und Normalpferdeserum (1:9) in Dosis von 2,5 nach 24 Stunden und 2, 3, 4, 5, 7 Tagen eingespritzt; alle Tiere waren munter.

Versuch III, 6 (13 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Alt-Tb. und Normalpferdeserum (1,0:9,0).

Einwirkungsdauer: von sofort bis nach 6 Tagen.

Injektionsweise und Dosis. intravenös in 2,5 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang
sofort nach Mischung	1	170	} keine Besonderheiten	lebt
	2	170		„
nach 1 Tage	1	180		„
	2	170		„
nach 2 Tagen	3	180		„
	4	170		„
nach 3 Tagen	5	170		„
	6	180		„
nach 4 Tagen	7	180		„
	8	180		„
nach 5 Tagen	9	180		„
	10	180		„
nach 6 Tagen	11	180		„

Versuch IV.

Nachdem die bestimmten Einflüsse des Tuberkuloseserums gegen Alttuberkulin durch die erwähnten Versuche festgestellt worden sind, schien es mir noch wichtig, weiter zu prüfen, ob das Tuberkulosegift in Pulvern von Tuberkelbacillen auch durch Immunserum beeinflusst wird. Zu diesem Zwecke wurden die 30-tägigen Agarkulturen von Tuberkelbacillen zwischen einer reichlichen Lage von Fließpapier gedrückt und mehrere Tage im Brutofen getrocknet, dann einige Wochen hindurch in Kugelmühlen gerieben, so daß darin mikroskopisch keine geformten Tuberkelbacillen mehr gefunden werden konnten. Dieses Pulver von Tuberkelbacillen wurde präzise abgewogen, in bestimmten Quantitäten Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sofort oder nach mehrtägigem Stehenlassen bei Bruttemperatur, gesunden Meerschweinchen injiziert.

Versuch IV, 1. Die so hergestellten Tuberkelbacillenpulver von 0,001 g wurden in 1,0 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 1,0 ccm Tuberkuloseserum hinzugefügt und gut verrieben und sofort die gesamte Menge (also 2,0 ccm) je einem von 2 Meerschweinchen intravenös injiziert; beide blieben lebend. Es wurde noch dieselbe Mischung nach 24-stündigen, nach 2- und

3-tägigem Aufenthalt im Brutofen je 2 Meerschweinchen (also 6 im ganzen) injiziert, aber alle blieben lebend.

Versuch IV, 2. Dieselben Versuche wurden mit einer Vermehrung des Tuberkelbacillenpulvers nochmals wiederholt, derart, daß 0,01 g in 1,0 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 1,0 ccm Tuberkuloseserum versetzt und je einem Meerschweinchen injiziert wurde. 2 Meerschweinchen, deren jedem 2,0 ccm genannter Aufschwemmung sofort nach der Herstellung eingespritzt wurde, blieben am Leben. Die Mischung wurde nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutofen je 2 Meerschweinchen (beide tot), nach 2 Tagen (eins tot), nach 3 Tagen (beide tot), nach 4 Tagen (beide lebend), nach 5 Tagen (beide tot), nach 6 Tagen (beide tot), nach 7 Tagen (beide tot), nach 8 Tagen (beide lebend), nach 9 Tagen (beide munter), nach 10 Tagen (beide munter), injiziert.

Es ist also nachgewiesen, daß die Mischung, welche erst gleich nach der Herstellung ungiftig war, nach einem Aufenthalt im Brutofen von einigen Tagen eine Giftigkeit erhielt, welche aber nach längerem Aufenthalt von 8—10 Tagen wieder verschwindet.

Versuch IV, 2 (22 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Tuberkelbacillenpulver in Kochsalzlösung und Tuberkuloseserum No. 48 (0,01 T.-B.-P. in 1,0 ClNa-Lösung und Tb.-S. 1.0).
Injektionsweise und -dosis: intravenös in 2,0 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang	Zeitraum bis z. Tod	Sektionsbefund
sof. n. Misch.	1	170		lebt		
	2	170		"		
nach 1 Tage	1	170		tot	8 Std.	Lungenblähung und -ekchym.
	2	180		"	11 Std.	Lungenblähung und Blutung
nach 2 Tagen	3	180		lebt		
	4	180		tot	24 Std.	Lungenbläh. u. Blut.
nach 3 Tagen	5	180		"	7—18 Std.	
	6	180		"	7—20 Std.	Lungenblähung, ekchymos. u. Stauung, Kontraktion der Herzkammer, Blut. der Nebenniere
nach 4 Tagen	7	170		lebt		
	8	170		"		
nach 5 Tagen	9	170		tot	6 Std.	Lungenekchymose, Blut. d. Nebenniere
	10	170		"	3 Std. 45'	Lungenblutung
nach 6 Tagen	11	170		"	10 Std. 45'	Stauung der Lunge Blut. d. Nebenniere
	12	180		"	10 Std.	Lungenblähung und -blutung. Blutung der Nebenniere

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang	Zeitraum bis z. Tod	Sektionsbefund
nach 7 Tagen	13	190		tot	7—21 Std.	Lungenblähung und -ekchym. Lungenblähung und -ekchym, Blutung der Nebenniere
	14	190		„	7—21 Std.	
nach 8 Tagen	15	180				
	16	180				
nach 9 Tagen	17	185				
	18	180				
nach 10 Tagen	19	190				
	20	195				

Versuch IV, 3. Zur Kontrolle der obigen Versuche wurde eine Mischung von Tuberkelbacillenpulver-Kochsalzaufschwemmung und Normalpferdeserum hergestellt und in genau derselben Anordnung sofort nach der Mischung, nach 24 Stunden, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 Tagen je 2 Meerschweinchen injiziert und die sämtlichen Tiere blieben lebend mit einer einzigen Ausnahme von einem Meerschweinchen, welches nach 24 Stunden injiziert worden war und dann starb. Es ergibt sich also, daß das Normalserum nicht imstande ist, das Tuberkulosegift in Pulverform auf irgendeine Weise zu beeinflussen, wie folgt:

Versuch IV, 3 (18 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Tuberkelbacillenpulver in Kochsalzlösung und Normalpferdeserum (0.01 T.-B.-P. in NaC.-Lösung und N.-P.-S. 1,0).

Einwirkungsdauer: von sofort bis nach 8 Tagen.

Injektionsweise und -dosis: intravenöse in 2,0 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang	Zeitraum bis z. Tod	Sektionsfund
sof. nach Misch.	1	180		lebt		Lungenekchymose u. Stauung
	2	180		„		
nach 1 Tage	1	180		„		
	2	180		tot		
nach 2 Tagen	3	180		lebt		
	4	180		„		
nach 3 Tagen	5	185		„		
	6	180		„		
nach 4 Tagen	7	185		„		
	8	180		„		
nach 5 Tagen	9	190		„		
	10	185		„		
nach 6 Tagen	11	180		„		
	12	190		„		
nach 6 Tagen	13	190		„		
	14	185		„		
nach 8 Tagen	15	190		„		
	16	190		„		

Versuch V.

Versuch V, 1. Um die genannten Versuche mit einer Mischung eines anderen Beimengungsverhältnisses nochmals zu wiederholen, wurde das Tuberkelbacillenpulver von 0,001 g in 0,2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 1,8 ccm Tuberkuloseserum hinzugefügt und nach 24-stündigem, nach 2- und 3-tägigem Aufenthalt je 2 Meerschweinchen injiziert. Alle Tiere blieben aber am Leben.

Versuch V, 2. Hier wurde das Tuberkelbacillenpulver von 0,01 g in sonst demselben Verhältnisse beigemischt und ebenfalls nach 24-stündigem, nach 2-, 3- und 4-tägigem Aufenthalt je 2 Meerschweinchen injiziert. Alle Tiere blieben wieder lebend.

Versuch V, 3. Das Tuberkelbacillenpulver von 0,01 g wurde in 0,5 ccm Kochsalzlösung und 1,4 ccm Tuberkuloseserum aufgeschwemmt und nach 24-stündigem, 2- und 3-tägigem Stehenlassen je 2 Meerschweinchen injiziert. Alle überlebten.

Versuch V, 4. Die Versuche wurden mit einer größeren Menge von Tuberkelbacillenpulver wiederholt, so daß die Mischung aus 1,4 ccm Kochsalzlösung mit 0,01 Tuberkelbacillenpulver und 0,6 ccm Tuberkuloseserum besteht. Die Mischung wurde sofort nach der Herstellung injiziert, so daß jedes Tier 2,0 ccm der genannten Mischung erhielt. Beide blieben lebend.

Die Mischung wurde nun je 2 Meerschweinchen nach 24-stündigem, (beide Tiere tot), nach 2-tägigem (eins tot), nach 3-tägigem (beide lebend), nach 4-tägigem (beide tot), nach 5-tägigem (beide lebend), nach 6-tägigem Aufenthalt im Brutofen (beide munter) injiziert. Es beweist diese Versuchsreihe, daß das Tuberkuloseserum in genannten Mischungsverhältnissen das Tuberkelbacillenpulver nach einigen Tagen giftig macht, daß das entstandene Gift aber nach 5—6 Tagen wieder zerstört wird.

Versuch V, 4 (14 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnis: Tuberkelbacillenpulver in Kochsalzlösung und Tuberkuloseserum No. 48 (0,01 T.-B.-P. in 1,4 ClNa-Lösung und Tb.-S. 0,6).

Einwirkungsdauer: von sofort bis zu 8 Tagen.

Injektionsweise und -dosis: intravenös in 2,0 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang	Zeitraum bis z. Tod	Sektionsbefund
sofort n. Misch.	1	180		lebt		
	2	180		„		
1 Tag	1	170		tot	30'	Lungenekchymose, Kontraktion d. link. Herzkammer
	2	180		„	8'	Lungenekchymose, Kontraktion d. link. Herzkammer
2 Tage	3	170		„	24'	Lungenekchymose, Stauung in d. Lunge
	4	180		lebt		

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang	Zeitraum bis z. Tod	Sektionsbefund
3 Tage	5	170		lebt		
	6	170		"		
4 Tage	7	180		tot	8'—20'	Lungenblähung und -ekchymose, Kontraktion der linken Herzkammer
	8	170		"	8'—20'	Lungenblähung und -ekchymose
5 Tage	9	180		lebt		
	10	185		"		
6 Tage	11	195		"		
	12	200		"		

Versuch V, 5. Zur Kontrolle wurden dieselben Versuche in genau derselben Anordnung, nur mit Normalpferdeserum ausgeführt. Die Mischung wurde nach 24 Stunden, nach 2 und 3 Tagen je 2 Meerschweinchen injiziert und alle Tiere blieben ganz munter. Es beweist also, daß das Normalserum hier das Tuberkelgift nicht beeinflussen kann.

Versuch V, 5 (10 Meerschweinchen).

Mischungsverhältnisse: Tuberkelbacillenpulver in Kochsalzlösung und Normalpferdeserum (0,01 T.-B.-P. in 1,4 NaCl-Lösung und N.-P.-S. 0,6).

Einwirkungsdauer: von sofort bis nach 4 Tagen.

Injektionsweise und -dosis: intravenös in 2,0 ccm.

Aufenthalt im Brutofen	Tier No.	Körpergewicht	Reaktion	Ausgang
sofort nach Mischung	1	180	keine Besonderheiten	lebt
	2	180		"
nach 1 Tage	1	180		"
	2	180		"
nach 2 Tagen	3	185		"
	4	185		"
nach 3 Tagen	5	190		"
	6	190		"
nach 4 Tagen	7	195		"
	8	195		"

Durch die erwähnten 5 verschiedenen Versuche wurde festgestellt:

1) Eine Mischung, welche aus Alttuberkulin und Tuberkuloseserum zu gleichen Teilen oder zu 1 gegen 9 besteht und gleich nach ihrer Herstellung für das gesunde Meerschweinchen ungiftig ist, erhält bei Temperatur von 38° C

nach 24 Stunden bis 5 Tagen eine allmählich zunehmende Giftigkeit, welche durch intravenöse oder subkutane Injektion an gesunde Tiere eine typische Tuberkulinreaktion mit einer Temperatursteigerung hervorzurufen imstande ist. Diese Reaktion tritt anfangs langsam zutage, während dieselbe später rasch eintritt, wenn die Mischung einige Tage (1—5) im Brutofen gehalten wird.

2) Wenn die Mischung in noch größerer Dosis intravenös eingespritzt wird, so geht das gesunde Meerschweinchen unter typischer Reaktion rasch zugrunde. Eine solche Giftigkeit erhält die Mischung erst nach einigen Tagen bei Bruttemperatur; sie verliert aber diese giftige Eigenschaft bald wieder, wenn sie noch mehrere Tage darin gehalten wird. Es handelt sich hier ohne Zweifel um zwei verschiedene Stufen eines Umsetzungsvorganges; Giftabspaltung und Giftzerstörung aus Antigen und Ambozeptor.

3) Eine solche Umwandlung des Antigens durch das Immunserum ist sowohl bei Alt-Tuberkulin als auch bei Tuberkelbacillenpulver nachweisbar.

4) Eine Giftigkeit, durch welche gesunde Meerschweinchen plötzlich getötet werden können, erhält die Mischung von Alt-Tuberkulin mit Immunserum zu gleichen Teilen binnen 1—8 Tagen und dieselbe zu einem gegen 9 Teile binnen 1—5 Tagen, während diese Giftigkeit bei der ersteren Mischung nach 8—9 Tagen und bei der letzteren nach 6—7 Tagen verschwindet.

5) Die eben erwähnten Verhältnisse sind bei der Mischung von Tuberkelbacillenpulver und Immunserum ähnlich; nämlich eine Mischung, welche aus 0,01 g Tuberkelbacillenpulver in 1,0 ccm Kochsalzlösung und 1,0 ccm Immunserum besteht und erst ungiftig ist, erhält nach 1—8 Tagen die bezeichnete Giftigkeit und die andere Mischung von 0,01 g Tuberkelbacillenpulver in 1,4 ccm Kochsalzlösung und 0,6 ccm Immunserum erhält die Giftigkeit binnen 1—4 Tagen, während die erstere Mischung nach 8—10 Tagen und die letztere nach 5—6 Tagen wieder ungiftig wird.

6) Bei allen Kontrollversuchen wurde festgestellt, daß das Normalpferdeserum niemals imstande ist, das Antigen auf die genannte Weise zu beeinflussen.

Aus alledem geht hervor, daß das Alttuberkulin oder das Tuberkelbacillenpulver durch das Tuberkuloseserum in bestimmten Beimengungs- und Zeitverhältnissen bei der Temperatur von 38° C in vitro derart umgewandelt wird, daß es bei gesunden Meerschweinchen erst typische Tuberkulinreaktion hervorruft, dann aber die entstandene Giftigkeit wieder verliert. Es handelt sich hier offenbar um eine Giftabspaltung und eine Giftzerstörung. Die entstandene Giftigkeit zeichnet sich bei den gesunden Tieren sowohl durch eine typische Temperatursteigerung, als auch durch einen anaphylaktischen Tod nebst anderen Reaktionen aus. Diese Giftigkeit tritt wahrscheinlich durch die Mitwirkung von Komplement im gesunden Organismus erst zutage, während das mit Immunambozeptor stark beladene Gift im Organismus durch seine Komplementwirkung plötzlich zerstört wird.

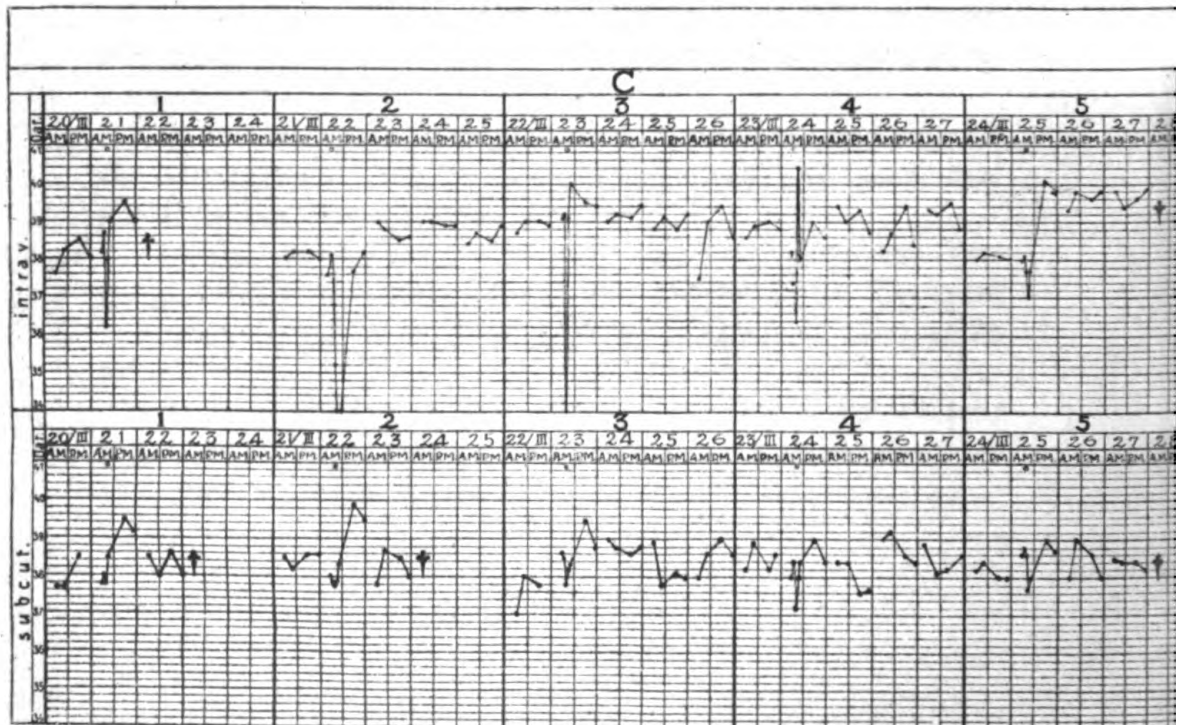
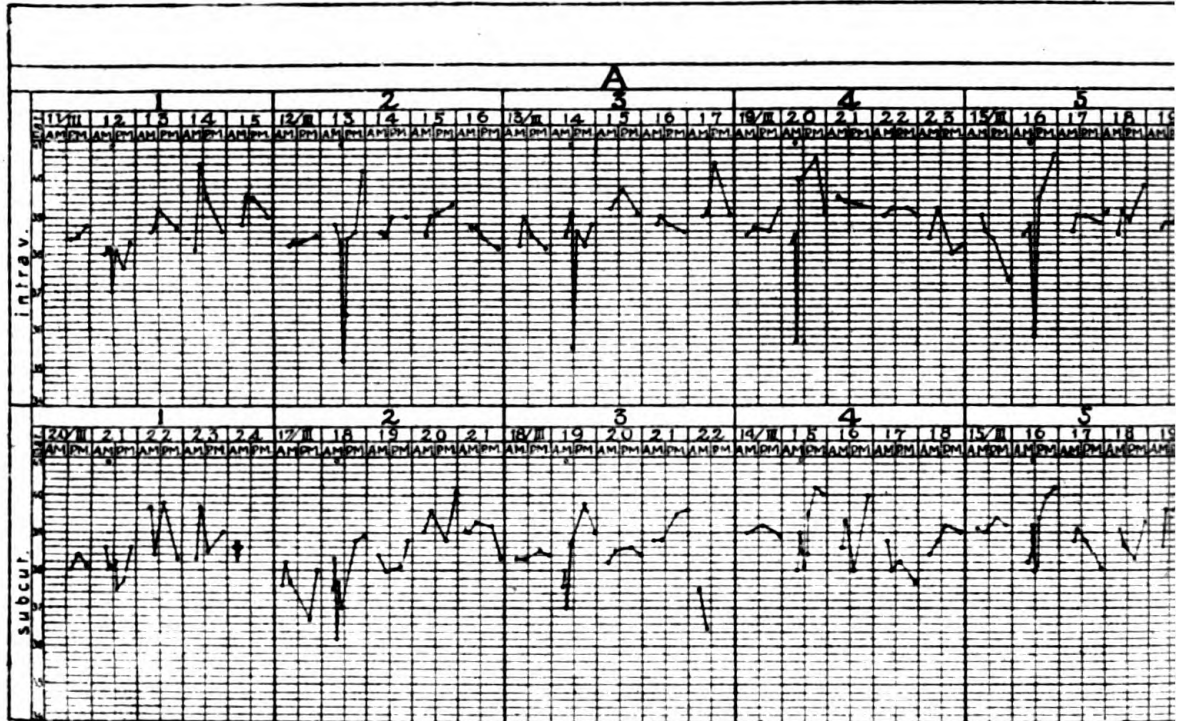
Zusammenfassung.

1) Es ist möglich, durch eine einfache Mischung von Tuberkelgift (Alttuberkulin und Tuberkelbacillenpulver) und Tuberkuloseserum unter gewissen optimalen, quantitativen und zeitlichen Bedingungen bei einer bestimmten Temperatur (38° C) ein Gift in vitro herzustellen, welches bei gesunden Meerschweinchen die bekannten Tuberkulinreaktionen hervorzurufen imstande ist.

2) Die dadurch hervorgerufenen Reaktionen zeichnen sich vor allem durch eine Temperatursteigerung und einen anaphylaktischen Tod typischer Art aus.

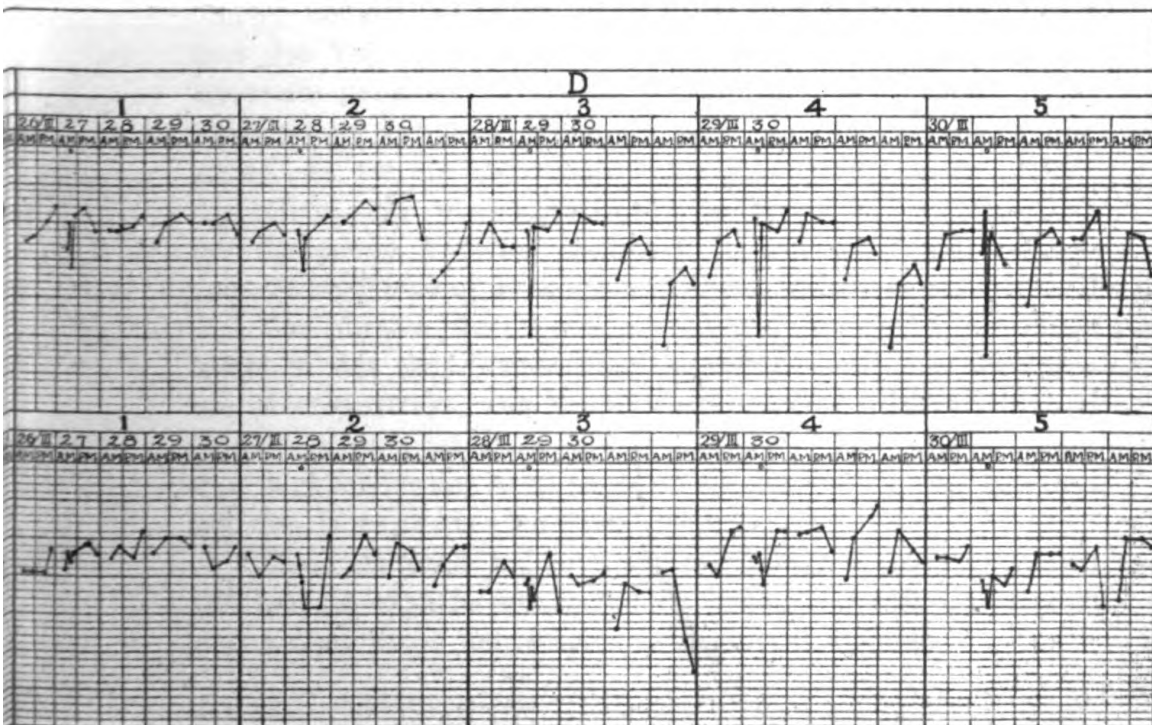
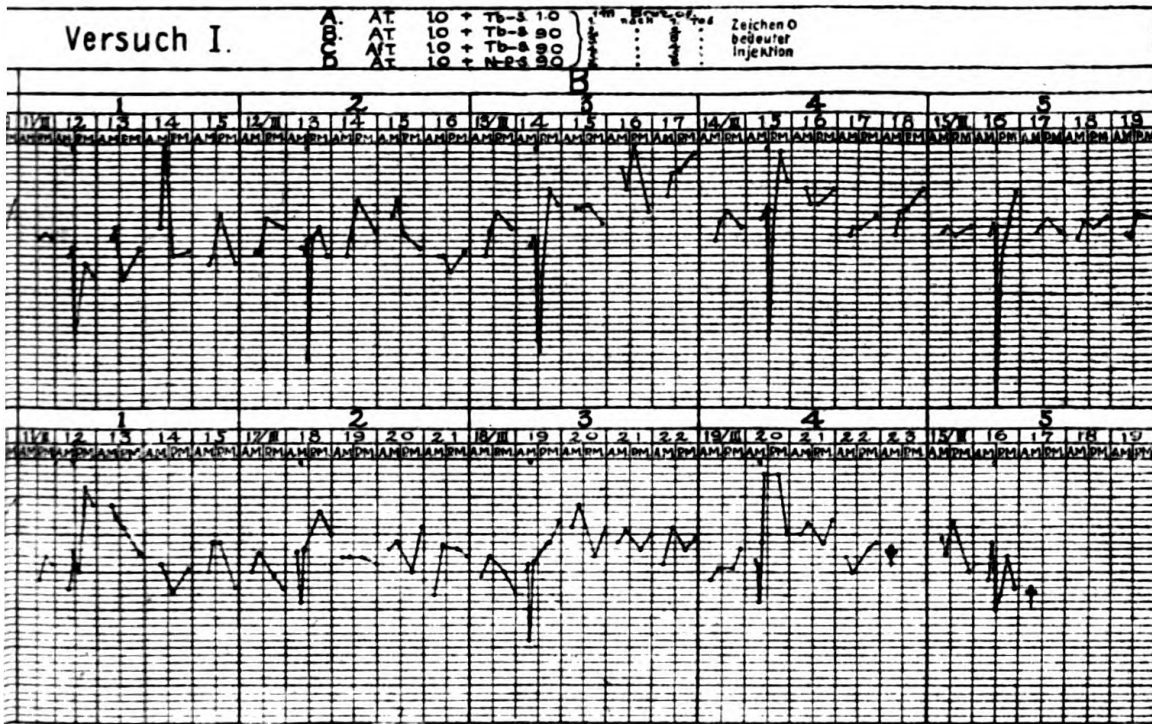
3) Das entstandene Gift wird aber nach weiterem Vorgange wieder zerstört, so daß die Mischung bei gesunden Meerschweinchen nicht mehr typische Reaktionen verursachen kann.

4) Es handelt sich hier offenbar um eine Giftabspaltung und Giftzerstörung, welche zwei Stufen ein und desselben Abspaltungsvorganges darstellt.



Verlag von Gustav F

A.Sata, Tuberkulin und Tuberkuloseserum.



ischer in Jena.

Photolith. v. A. Giltsch, Jena.

Nachdruck verboten.

[Aus der pathologisch-anatomischen Abteilung des Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.]

Eine neue Methode zur Gewinnung des Antigens für die Wassermannsche Reaktion.

Von Dr. W. J. Goss.

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Dezember 1912.)

Wie bekannt, wurde anfangs für die Wassermannsche Reaktion das wässerige Extrakt aus syphilitischer Leber vorgeschlagen. Später stellte es sich heraus, daß nicht nur wässerige, sondern auch alkoholische Extrakte aus syphilitischen, aber auch aus normalen Organen als Antigen für die Wassermannsche Reaktion dienen können. Die Natur dieser extrahierten Stoffe blieb jedoch unbekannt. Ihre Lösbarkeit weist auf ihren lipoiden Charakter hin. Weiter kennen wir aber nichts über die Reagentien bei der Wassermannschen Reaktion.

Als man die alkoholischen Antigene in die Praxis einführte, tauchte natürlich die Frage auf, welchen Antigenen man den Vorzug geben sollte, welche von ihnen die sichersten Resultate geben? Es stellte sich heraus, daß, obwohl die alkoholischen Antigene große Vorzüge vor den wässerigen besitzen, da sie ein mehr konstantes, unveränderliches Reaktiv darstellen, die wässerigen Reaktive trotzdem, wie es viele hervorragende Forscher gefunden haben, eine viel stärkere spezifische Wirkung ausüben und daher viel zuverlässiger sind.

Vor kurzem wurde von Kolle und Stiner¹⁾ eine neue Methode der Antigenbereitung vorgeschlagen: sie benutzten ein Acetonextrakt aus syphilitischer Leber. Diese Autoren empfehlen aufs wärmste ihre Methode der Antigengewinnung, und wirklich ist das Acetonantigen ein ausgezeichnetes Reagens bei der Wassermannschen Reaktion.

Diese Autoren haben auch mit anderen Lösungsmitteln für Lipide experimentiert, jedoch ließen sich mit Chloroform und Aether keine befriedigenden Resultate erzielen.

1) W. Kolle und Stiner, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 21.

In dieser kurzen Mitteilung möchte ich auf eine andere Methode der Antigengewinnung für die Wassermannsche Reaktion aufmerksam zu machen, eine Methode, deren ich mich in letzter Zeit bedient habe.

Das Glycerin ist, wie bekannt, ein vorzügliches Extraktionsmittel für verschiedene Fermente. Ich habe den Versuch gemacht, diese Eigenschaft des Glycerins für diejenigen Stoffe zu verwenden, welche bei dem Wassermannschen Verfahren in Reaktion treten. Und in der Tat hat es sich erwiesen, daß das Glycerin aus syphilitischen Organen (Leber) diejenigen Stoffe extrahiert, die bei der Wassermannschen Reaktion eine Rolle spielen.

Ich habe das Glycerinantigen in folgender Weise zubereitet: frische oder getrocknete Leber einer syphilitischen Frucht wurde sorgfältig in einem Mörser mit 5—10-facher Menge (für getrocknete Leber mit 15—30-facher Menge) Glycerins verrieben, dann für einige Tage in den Thermostaten bei 37° C gestellt, wobei dieses Gemisch von Zeit zu Zeit geschüttelt wurde, darauf zentrifugiert. Die dicke bräunliche Flüssigkeit, die sich über dem Bodensatz ansammelte, wurde als Antigen verwendet.

Die wirksame Dosis belief sich gewöhnlich auf 0,05—0,1 cm, aber zuweilen schwankte sie zwischen 0,02—0,2. Diejenige Dosis, die an und für sich die Hämolyse hemmte, war verschieden bei verschiedenem Ausgangsmaterial; gewöhnlich überstieg sie 0,5 cm, oft sogar 1,0 cm. Also war diejenige Dosis, die eine selbständige Hemmung der Hämolyse bewirkte, bedeutend größer (manchmal mehr als ums 10-fache) als die für die Reaktion gebrauchte Dosis. Ebenso waren diejenigen Dosen, die eine Hemmung der Hämolyse beim Titrieren mit Normalserum gaben, ums Mehrfache größer, als diejenigen Dosen, die spezifisch reagierten.

Was die Beständigkeit des Glycerinantigens anbetrifft, so bin ich mit der Prüfung dieser Frage noch nicht zu Ende. Jedenfalls ist die Beständigkeit des Glycerinantigens bedeutend höher als diejenige des wässerigen Antigens: es behält bei Zimmertemperatur seine wirkende Kraft zirka einen Monat.

Das mit Wasser verdünnte Glycerin extrahiert ebenso gut die für die Wassermannsche Reaktion charakteristischen Stoffe, jedoch ist die Beständigkeit eines solchen Antigens bedeutend geringer.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ich habe das Glycerinantigen bei kranken und gesunden Seris geprüft und gefunden, daß die Resultate bei der Anwendung von Acetonantigenen und Glycerinantigenen fast völlig übereinstimmten.

Die hier von mir angeführte Methode der Gewinnung des Antigens für die Wassermannsche Reaktion weist auf einen neuen Strich hin, der das in Reaktion mit dem Blut von Syphilitikern eintretende „x“ charakterisiert. Das Glycerin steht als Lösungsmittel dem Wasser viel näher als Spiritus oder Aceton. Im Gegensatz zum Spiritus und Aceton löst es weder die Fette, noch die Lipoide. Es scheint auch, daß die für das Antigen spezifischen Stoffe weder in Wasser, noch in Glycerin eigentlich gelöst werden; sie befinden sich dort in suspendiertem (kolloidalen) Zustande und in diesem Zustande scheinen sie sich in Glycerin länger als in Wasser zu halten. Dank dieser Eigenschaft unterscheiden sich die Glycerinextrakte vorteilhaft von den wässerigen Antigenen.

Gewiß kann ein näheres Urteil über das Glycerinantigen nur nach ausführlichen vergleichenden Untersuchungen mit diesem Antigen und dessen Prüfung an einem zahlreichen klinischen Material gefällt werden.

Zusammenfassung.

Glycerinextrakt aus syphilitischer Leber ist ein gutes Antigen für die Wassermannsche Reaktion.

Nachdruck verboten.

Ueber Proteotoxikosen.

Ergänzungen zu den Bemerkungen Hermann Pfeiffers,
Bd. 16, No. 1 dieser Zeitschrift.

Von Prof. Dr. Wolfgang Weichardt.

Auf p. 44 dieser Zeitschrift bekämpft Hermann Pfeiffer in einer scharfen polemischen „Anmerkung“ die Feststellungen in meinen Ermüdungsstoffen, daß durch sein fleißiges Vorgehen Anschauungen verifiziert worden sind, die klipp und klar von meinen Mitarbeitern und mir auf Grund unserer Studien mit Eiweißspaltprodukten von Ermüdungstoxincharakter niedergelegt waren.

Daran wird Hermann Pfeiffer nicht das geringste ändern. Wenn durch seine Arbeiten Befunde und Anschauungen, die zum Teil mit anderen Methoden gewonnen wurden, sich nunmehr als richtig erweisen, so ist das meines Erachtens nur erfreulich und liegt im Interesse wissenschaftlicher Erkenntnis und wir selbst sind der Ansicht, daß erregte Debatten ebenso wie Prioritätsstreitigkeiten dem Fortschritte selten dienen.

Deshalb lagen sie mir ganz ferne, wohl aber wird uns Hermann Pfeiffer weder jetzt noch in Zukunft daran hindern können, bereits früher Festgestelltes mit neuen Erungenschaften zu vergleichen und erfreuliche Uebereinstimmungen zu konstatieren.

Bekanntlich arbeiteten wir selbst jahrelang mit hochmolekularen Eiweißspaltprodukten und den sie entgiftenden anti-körperartig wirkenden Präparaten. Daß Forscher, welche anfangen sich mit Eiweißzerfallstoxikosen zu beschäftigen, mitunter auf ähnliche Befunde stoßen, wie wir selbst, ist nur zu erklärlich, und Hermann Pfeiffers Verwunderung darüber, daß schnelles Fallen der Körpertemperatur nach Einführung von hochmolekularen Eiweißspaltprodukten mit dem Temperatursturz anaphylaktisch gemachter Versuchstiere in Parallele gestellt wird, ist nicht recht verständlich.

Uebrigens veranlaßt mich der Hermann Pfeiffersche Angriff, der nur beweist, daß er die frühere Literatur auf diesem Gebiete nicht kennt, auch in dieser Zeitschrift die betreffenden Feststellungen kurz niederzulegen.

Es war festgestellt:

1) Vorher indifferente Eiweiße werden durch leichte Aufspaltung mit verschiedenen Agentien (Elektrolyse, NaOH, H₂O₂ usf.) so verändert, daß sie nach Wegdialysieren der weniger hochmolekularen Spaltprodukte, parenteral einverleibt, Temperaturerniedrigung, Sopor und Atemverlangsamung hervorrufen, Erscheinungen, die bei Kontrolltieren, welche mit unseren antikörperartig wirkenden acetonlöslichen Hemmungskörpern (Retardinen) behandelt sind, nicht auftreten.

2) Es konnte ferner gezeigt werden, daß die gleichen Erscheinungen: Temperaturerniedrigung, Sopor und Atemverlangsamung, auftreten, wenn die allerverschiedensten

chemisch different wirkenden Stoffe in minimalen Dosen in kurzen Zwischenräumen injiziert werden. Dagegen bleiben Tiere, welche mit unseren Antikörpern behandelt sind, auch nach wiederholter Injektion kleiner Dosen von Chemikalien munter.

Ich schloß daraus, daß auch bei wiederholter Einverleibung chemisch different wirkender Stoffe im Tierkörper sekundär Eiweißspaltprodukte entstehen, da wir ja nur diese, nicht die Chemikalien, mit unseren Retardinen entgiften können. Alle diese Befunde, also die parenterale Einverleibung primär entstandener Eiweißspaltprodukte und die dadurch hervorgerufenen Erscheinungen, sowie die sekundäre Entstehung von Eiweißspaltprodukten im Tierkörper nach Injektion different wirkender Stoffe, waren also klipp und klar niedergelegt und nach den verschiedensten Richtungen hin studiert.

Gellhorn z. B. untersuchte das vermehrte Auftreten unserer die Temperatur erniedrigenden Eiweißspaltprodukte in den Exkreten (Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 16).

Auch wurde Herr Hermann Pfeiffer bei uns in Erlangen nicht ein Thermometer und dessen Anwendung gezeigt, wie es nach seiner Schilderung den Anschein haben könnte, sondern mittels biologischer Versuche der Temperaturabfall nach parenteraler Einverleibung der beschriebenen, aus Eiweiß hergestellten Spaltprodukte.

Nachdem ich den Endotoxinbegriff auf ungeformtes, nicht bakterielles Eiweiß übertragen hatte und nachdem durch zahlreiche Arbeiten der verschiedensten Autoren der Zerfall des vorher ungiftigen Eiweißes in eine Reihe von Spaltprodukten erhöhtes Interesse gewonnen hatte, lag ein Vergleich mit unseren früheren Injektionen von künstlich in vitro aufgespaltenen Eiweißen und ihrer die Temperatur erniedrigenden Eigenschaften nahe, und wir können nur wiederholen, daß es sehr erfreulich ist, wenn Hermann Pfeiffer, besonders was die sekundäre Entstehung von Eiweißspaltprodukten im Tierkörper anbetrifft, jetzt Anschauungen gewinnt, die sich von meinen früheren nicht mehr wesentlich unterscheiden.

Was endlich die Frage der Kenopräzipitation anbetrifft, so ist sie längst in meinem Sinne entschieden; denn es war nach dem Pfeifferschen Hinweis bald gelungen, absolut Ca-freie Retardine herzustellen, die dennoch mit höhermolekularen Eiweißspaltprodukten von Kenotoxincharakter Niederschläge gaben.

Jetzt, nachdem es geglückt ist, aus den Retardingemischen einzelne Substanzen chemisch zu isolieren, kann eine ganze Reihe von organischen Präparaten angegeben werden, die Kenopräzipitate veranlassen, obschon bei ihnen jede Ca-Beimengung ausgeschlossen ist. Das seit langem bekannte Clupeinsulfat Kossels, das Buschsche Nitronsulfat u. a. haben die ausgesprochene Eigenschaft, mit unseren Eiweißprodukten Fällungen zu geben.

Hermann Pfeiffer wird derartige Präparate selbst herzustellen leicht in der Lage sein.

Schließlich beklagt sich der Autor ganz zu Unrecht, daß ihm in meinem Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforschung eine Meinungsäußerung abgeschnitten sei.

Es ist jederzeit mein Ziel gewesen, daß in diesem Jahresbericht die aktuellen Fragen von den verschiedensten Standpunkten aus behandelt werden. Auch Hermann Pfeiffer stehen die Spalten unseres Jahresberichtes zu einer gemäßigten, sachlichen und vor allem unpersönlichen Behandlung des Stoffes jederzeit offen.

Literatur.

Weichardt, W., Ueber Ermüdungsstoffe, 2. Aufl. Stuttgart, Ferd. Enke, 1911 (s. daselbst das ausführliche Literaturverzeichnis).

Nachdruck verboten.

[From the Pharmacological Laboratory, University of Michigan.]

**The action of the Protein Poison on Dogs:
A Study in Anaphylaxis.**

By **Charles W. Edmunds,**
Professor of Materia Medica and Therapeutics, University of Michigan,
Ann Arbor.

With 4 Curves in text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. November 1912.)

For some years Vaughan and his pupils have been engaged in the study of protein poisons.

Employing a large number of proteins obtained from different sources, bacterial and others, they were able to show that all true proteins could be split into two parts — one of which was toxic while the other was non-toxic. This cleavage of the protein molecule was secured by subjecting it to the action of 2% sodium hydrate in absolute alcohol, at 78 degrees, for a number of hours. The toxic portion of the molecule which was split off remained in solution in the alcohol, while the non-poisonous constituent formed a residue which was insoluble in alcohol. With the non-poisonous body I am not concerned at the present time, for a study of its nature and properties reference may be made to the various papers of Vaughan and his co-workers.

As stated, the toxic portion is soluble in alcohol, less freely in water, and insoluble in chloroform, benzene, ether, etc. It responds to the biuret and Millon tests, and is therefore regarded at present as still a protein, but of comparatively simple structure.

When a fatal dose of the free poison is administered to a guinea-pig the symptoms resulting therefrom may be divided into three stages — that of peripheral irritation, as shown by restlessness and itching — a stage of partial paralysis, and finally, failure of the respiration, accompanied by violent clonic convulsions. As the heart beats for a time after the respiration has stopped the cause of the death was at first ascribed to an action of the poison upon the cells of the respiratory center.

A comparison of the effects produced in guinea-pigs by an injection of this protein poison with those seen in sensitized animals when the second or intoxicating dose of the protein is given led Vaughan¹⁾ to formulate

1) Vaughan and Wheeler, Journ. Infect. Dis., May, 1907.

his well known theory of anaphylaxis or allergy. Briefly stated, this explanation is as follows: When a foreign protein is introduced into the blood and is not taken care of by the ordinary proteolytic ferments it is deposited in some tissue the cells of which develop a specific ferment which splits up this foreign protein. This ferment, being specific, only reacts when brought into contact at some later time with the same kind of protein which originally caused its formation. When this takes place it splits up the protein and frees the toxic portion of the molecule, giving rise to the symptoms peculiar to anaphylactic shock.

On account therefore of their suggested relation to anaphylaxis these split protein products have gained an increased importance, and it was thought that a more detailed study of their physiological action would be of value not only for their own sakes but also for the possible light it might throw on the much disputed question of the mechanism of anaphylaxis itself. It was of course understood from the beginning of the work that it was not necessary that the symptoms produced by the protein poison and those seen in anaphylaxis should be identical, because the poisons are produced in quite different ways — one by simple chemical manipulations, while the other is presumably due to ferment action. The end products therefore would quite likely differ in certain respects, and accordingly produce more or less dissimilar symptoms. However, a comparison of the effects must be of great interest.

I therefore undertook such a study, being able through the kindness of Vaughan to secure from him a supply of the toxic portion of the protein molecule — the protein in this case being casein. The different chemical reactions which it possesses have been described fully in the various papers published by Vaughan, and so need not be given again here.

The substance was a light brown powder and possessed a penetrating, unpleasant odor. For use I prepared a solution in distilled water in which the poison is quite freely soluble, forming a clear, dark yellow solution, with a reaction quite strongly acid to litmus. As this acid reaction interfered with its intravenous administration I added to it a sodium carbonate solution until the reaction was neutral, when tested with red or blue litmus paper. During the process of neutralization carbonic acid was given off and a heavy precipitate was formed. When the neutral point was reached this precipitate was filtered off and the filtrate diluted with water until it was of such a strength that 1 c. c. contained the soluble portion from 100 mgr. of the original toxic part of the casein molecule. The solutions were made up at short intervals, rarely being kept more than two or three

days, but were made up fresh, usually in amounts of 2 gr., which, as stated, gave a solution ready for use, measuring 20 c. c.

In the course of this paper the doses referred to will mean the amounts of the toxic substance which were used, no deduction being made for the precipitate which was filtered off, the loss of which did not lessen the toxicity of the solution.

In the present work I used dogs as experimental animals almost exclusively, for the reason that the effects of the poison had scarcely been studied in these animals at all, and also because the mechanism of anaphylaxis is not so well understood in dogs as it is in guinea-pigs, thanks especially to the important researches of Auer and Lewis. I hope to study the effects of the poison on guinea-pigs a little later.

My first experiments were carried out upon the intact animal, to which the drug was given intravenously.

Under local anaesthesia a short cut was made through the skin over a superficial vein, and then the drug injected into the vein by means of a hypodermic needle.

The symptoms can be given best by the reproduction of the following typical protocol:

March 25, 1912. Small dog. — Very active.

- 3⁴⁰ Respiration 60.
- 3⁴⁶ 150 mgr. casein poison intravenously.
- 3⁴⁷ Respiration 56. Dog stands quiet, with lowered head.
- 3⁴⁸ Vomits.
- 3⁵⁰ Eyes closed. Attempts at defecation.
- 3⁵² Respiration 68. Irregular.
- 3⁵³ Defecates.
- 3⁵⁵ Lies down. Little attention to surroundings. Some difficulty in control of legs.
- 4^b Respiration 68. Labored expiration.
- 4²⁰ Respiration 52. Labored expiration. Gradual return to normal.

The most prominent symptoms were therefore a marked depression, disturbance of the alimentary canal, and some respiratory disturbances, the latter consisting of slight acceleration with a slightly labored expiration. In some animals the respiratory symptoms, with the exception of the slight acceleration, were scarcely noticeable. A study of these symptoms shows that they resemble very closely those exhibited by dogs which are suffering from anaphylactic shock,

8*

although they are milder than those described by Pearce and Eisenbrey and others.

Effect on the Circulatory System.

The action of the poison upon the circulatory system was examined in a small dog which was anaesthetized with morphine and paraldehyde, the former being given by hypodermic two hours before the animal was to be used, and 8 c. c. paraldehyde by the stomach tube at the time of the experiment. The blood pressure was measured from the carotid artery and the respiration recorded by a tambour resting against the chest wall and connected with a second tambour which registered the movements upon the blackened paper.

An injection into the jugular vein of the filtrate obtained, as described earlier from 100 mgr. of the casein poison, produced the following changes in blood pressure, viz. immediately following the injection and lasting about 20 seconds, there was a very slow decline in pressure, amounting to 6 or 8 mm Hg, and this passed on into a sudden and rapid fall, during which from a normal height of 72 mm the pressure reached about 20 mm Hg.

During these changes in pressure the heart rate was altered also. From a normal rate of 138 to 140 it was slightly accelerated (144) during the stage of slow decline, but it was considerably slowed during the stage of low pressure, the rate dropping to 92 per minute.

The respiration showed little change in rate beyond a slight slowing during the progress of the blood pressure fall, the main change being in the strength which was considerably decreased, neither inspiration nor expiration being as complete as normal.

The blood pressure showed very little tendency to recover, this depending somewhat upon the dose given the individual animal. In some cases there was a slow rise, while in others an interval of 30 minutes or more only saw an increase of a few millimeters.

During this stage of low pressure I stimulated the central end of the cut sciatic, but secured a rise of only three or four millimeters Hg, demonstrating an almost complete paralysis of the vasomotor system at some point. After a

further injection of 100 mgr. of the poison, sciatic stimulation produced no effect upon the blood pressure. I now dissected free the great splanchnic nerve and stimulated it with the induced current, but got no response, showing there was a peripheral paralysis of the vasomotors.

In order to confirm the view that the fall in pressure was peripheral in origin experiments were carried out on other dogs in which the central nervous systems had been completely destroyed by pithing. This was done under complete anaesthesia, destroying the cerebrum and then passing a wire down the spinal canal, and manipulating it so as to completely disorganize the structure of the cord. In such animals the results following injection of the poison were essentially the same as in normal animals. The fall in pressure was smaller on account of the low initial pressure of 30 mm which after the injection fell to 24 mm.

That the action was peripheral to the ganglia along the course of the constrictor fibres was proved by the use of large doses of nicotine, sufficient being given to paralyze them. When this stage was reached the injection of the casein poison still produced its characteristic fall.

The localization of the point of action of the drug upon nerve ending, receptive substance, or muscle wall was studied with the aid of nicotine, epinephrin and digitalis. The action of nicotine was greatly weakened by the previous injection of casein poison. Where before the poisoning, nicotine had given a marked increase in pressure in the characteristic manner, following 300 mgr. of the poison 5 mgr. nicotine raised the pressure from 16 mm Hg, to only 62 mm. The heart rate was increased by the nicotine in the usual manner, from 120 per minute to 216. The pressure curve from the nicotine was not only lower than that usually seen with such doses but was much altered in shape, there being a very slow rise in place of the precipitous increase commonly obtained. The injection of nicotine was followed after a short time by a dose of epinephrin which raised the pressure from 18 mm. to 225 mm. These experiments seemed to point conclusively to the nerve endings as being the structures primarily acted upon by the poison, as evidently the receptive

substance which is stimulated by the epinephrin had not been paralyzed by the poison.

In addition to epinephrin both digitalis and barium chlorid raised the lowered blood pressure very satisfactorily, demonstrating that the muscle cell in these cases was not affected by the doses of poison given.

In some animals, however, the use of large doses of the poison was followed by a lessened response to epinephrin and digitalis, thus showing that while the nerve ends are first affected, the effect of large doses is not necessarily confined to these structures, but may spread to the receptive substance and contractile substance proper.

The following protocols will illustrate the action described. The dogs were anaesthetized in the usual manner, and the vagi paralyzed by atropine. The figures given are obtained by averaging three or four readings, the dose of epinephrin being 1 c. c. of a 1—20 M. solution.

Nov. 28, 1911.	Dog	Epinephrin	
	Normal blood pressure	blood pressure	Increase
	91	211	132 %
	Injected 600 mgr. casein poison		
	36	86	139 %

In this experiment, figured on the percentage basis the epinephrin response was a little greater after the poison than it was before.

Nov. 27, 1911.	Dog	Epinephrin	
	Normal blood pressure	blood pressure	Increase
	98	149	52 %
	Injected 800 mgr. casein poison		
	57	76	33 %

In this animal the poison apparently produced some change in the receptive substance as well as in the nerve ending, as the adrenalin response was considerably weakened. In connection with this animal it may be pointed out that the blood pressure after the casein was not lowered as markedly as was usually the case. It only reached 57 mm. after 100 mgr. of the poison had been given and showed a marked tendency toward recovery, the pressure beginning to rise almost at once, to be lowered again slowly by the subsequent larger doses.

Several other points in relation to the action of the casein poison upon the circulation were also examined, viz the effect produced by the paralysis of the splanchnics upon the volume of the internal organs; the effect of the poison upon the vessels of perfused isolated organs and also its effect upon the heart.

The effect upon the volume of the kidney and intestine was first studied, employing plethysmographs in the usual manner and registering the changes with piston recorders. The results obtained from each organ coincided exactly, viz. with the fall in blood pressure occurring as soon as the casein was injected the volume of the organ diminished.

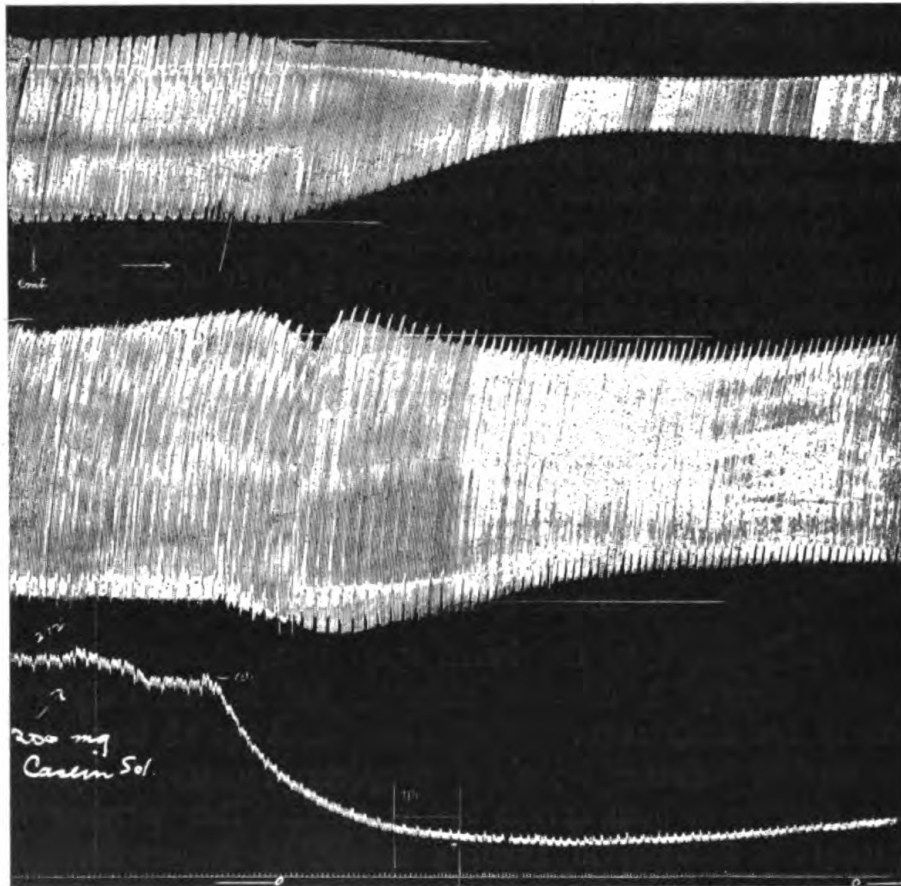
This decrease in volume which was encountered in both kidney and intestine was surprising, as a fall in blood pressure associated with paralysis of the splanchnic nerves would certainly lead an observer to connect the two phenomena, and also to ascribe the fall to the paralysis and consequent loss of tone in the vessels of the abdominal organs. Evidently, however, in this case there must be other factors such as possibly an action upon the heart.

Action upon the Heart.

The action upon the heart, apart from changes in rate differs slightly in different animals, but in the main the effects are much alike. Small doses, such as 25 mgr., had no marked influence beyond a temporary increase in systole and diastole in both auricle and ventricle. This increase in strength is followed in about a minute by some weakening in both chambers, but most marked in the auricle, both systole and diastole being decreased. The weakening with such doses is not sufficient to lower the blood pressure, as the latter may be found to retain its normal height.

With larger doses, such as 100 to 150 mgr. the same changes are produced as with the smaller amounts, the only difference being one of degree (Tracing 1). The increase in systole in both auricle and ventricle is quite marked in some cases, while the change in the extent of dilatation is not so great, but is present in almost every case. These

changes lead to an increased amplitude of beat which usually lasts for from one to two minutes — that is, until the blood pressure has reached its lowest limits. The fall in blood pressure coming on therefore while the strength of the heart is increased finds no explanation of its origin in this organ. Likewise these heart changes do not explain why the kidneys



Tracing 1. Jan. 24, 1912. Dog. Heart exposed. Upper tracing — Rt. auricle; middle — Rt. ventricle; lower — carotid blood pressure. Time in seconds. 200 mgr. casein poison injected. No atropine had been given.

and intestine become smaller, while the blood pressure is dropping. The diminution in volume is certainly not due to cardiac weakness.

The changes which the heart undergoes, following the increase in systole described, consist in a weakening in both chambers, while the extent of dilatation may be still further

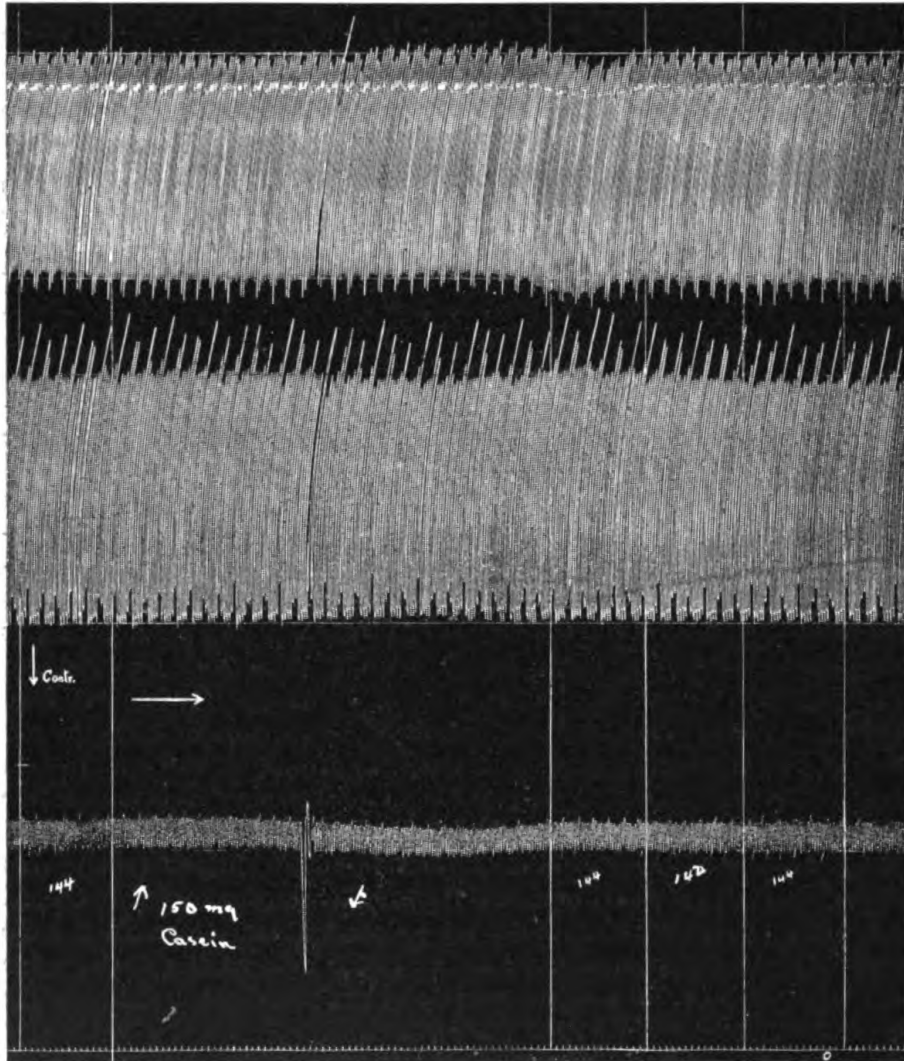
increased, or it may show little change. Two factors come in to complicate the changes produced by the poison. First, the great fall in blood pressure produced by it decreases the resistance against which the heart has to contract; and second, the changes in the respiration which at times produced a mild degree of asphyxia. It happened that in some cases where before the poison was given, the artificial respiration had seemed entirely adequate, after its administration the lungs did not inflate so well and the blood showed signs of deficient aeration. The heart changes were therefore studied further in animals in which all the other organs were excluded from the circulation except the lungs.

This experiment was carried out on a large bull dog anaesthetized in the usual way. Under artificial respiration the sternum was cut lengthwise, the two halves of the chest pulled apart, and the heart exposed. The large vessels at the base of the heart were dissected free and a clamp placed in position on the aorta just below the origin of the left subclavian artery, the latter artery being tied, as was also the right subclavian. A loose clamp was also placed on the inferior vena cava just above the diaphragm. Cannulas were now placed in both common carotids and in both external jugular veins. The cannula in the left carotid and right jugular were paraffined and connected by a short piece of paraffined rubber tube, thus providing a channel for the blood to flow from the left to the right heart. The cannula in the right carotid was connected with the mercury manometer to record the blood pressure, and that in the left jugular was used to inject the poison. The clamps on the aorta and vena cava were now closed, thus shutting off the circulation to all parts of the body except the heart and lungs. The pericardium was opened and sewn to the sides of the chest to form a sort of cradle for the heart. The myocardiograph was attached to the right auricle and ventricle in the usual manner, and arranged to record their movements on the kymograph.

The blood pressure which had been very high following the closure of the clamps had undergone some readjustment, and was averaging 106 mm Hg. The heart was greatly dilated.

Injection now of 150 mgr. casein poison produced a transient weakening of the heart and a fall of 2 or 3 mm Hg. but these slight effects were very quickly recovered from, and were followed by a return to conditions which closely resembled normal, the only noticeable difference being an in-

crease in auricular systole and slight decrease in diastole in both chambers (Tracing 2).



Tracing 2. June 3, 1912. Bull dog. Heart-Lung circulation. Vagi cut. Aorta clamped just beyond origin of left subclavian artery which was tied. Inf. vena cava clamped above diaphragm. Branches of innominate artery tied except carotids. Left carotid joined to jugular vein by tubing.

Lower tracing — blood pressure; middle — Rt. ventricle; upper — Rt. auricle. Lever moves down in systole. Time in seconds.

The blood pressure after its slight primary fall due to the injection also returned to normal and remained there, thus excluding the heart and lungs from responsibility for

the great fall usually seen in experiments where the entire animal is used.

In general, then, the action upon the heart is primarily an increase in systole and diastole of both chambers, this increase being followed later by a weakening which is possibly due not so much to the action of the poison itself as to the low blood pressure and perhaps to some asphyxia. It is less marked in those animals in which the circulation is confined to the heart and lungs alone.

Effect on Heart Rate.

In animals with vagi intact the injection of a dose of casein poison is followed by slowing, as the following figures show:

	Rate before	Dose of poison	Rate after
Exp. 1/11/12	186	200 mgr.	174
„ 1/24/12	212	200 „	176

If the vagi are cut or paralyzed before the poison is injected a slight acceleration occurs instead of slowing.

	Rate before	Dose of poison	Rate after
Exp. 11/3/11	112	25 mgr.	116
„ 11/27/11	144	100 „	150

In dogs with the spinal cord and brain pithed the injection of the poison is not followed by any change in rate, nor does any change occur in the dogs in which the heart-lung circulation is used, showing clearly that the acceleration is of central origin and probably a reflex resulting from the lowered blood pressure. This action is obscured in non-atropinized animals by the stimulation of the vagi.

On account of the close relationship found to exist between the action of this poison and the symptoms seen in anaphylactic shock I studied further the effect of the poison upon the circulation in the lungs because in sensitized cats the fall in blood pressure following the second injection of protein is said to be due to the fact that the pulmonary arteries are constricted and form an obstruction which prevents the blood from reaching the left auricle. As the phenomena in both cat and dog are much alike it became of interest to

see whether such a change could be found in the latter animal when the protein poison was injected.

The fact that the pulmonary vessels may be constricted receives some support from the fact that the right heart frequently shows some dilatation, as has been described earlier, but on the other hand the experiments upon the dog with "heart-lung" circulation speak against the view, as in these animals no fall in aortic pressure was found, which should follow if the blood was prevented from reaching the left heart by encountering an obstruction in the lung vessels. Nevertheless I measured the changes in the pulmonary blood pressure, carrying out the work in the following manner:

A dog was prepared with the chest opened and heart exposed as usual. The heart was pulled to the right somewhat, so as to leave as much room as possible between it and the left chest wall. The pulmonary artery was now traced from the right ventricle until the large branch given off to the left upper lobe of the lungs was found. After freeing this branch for a sufficient distance a paraffined glass cannula was inserted into it pointing toward the heart. This cannula was connected by rubber tubing with a Hürthle membrane manometer. One of the pulmonary veins from the lower left lobe was then isolated, and a cannula inserted into it and connected with a water manometer.

When these cannulas were inserted all the connections made and the clamps on the vessels removed the heart was allowed to return to its normal position and secured in the usual manner by sewing the split pericardium to the sides of the chest. The myocardiograph was now attached to the right ventricle so as to record its movements. A record of the carotid blood pressure was also taken. If the view is correct that the systemic blood pressure falls because less blood reaches the left side of the heart this should be shown by a fall in pulmonary venous pressure, as less blood would pass through the supposedly constricted pulmonary arteries. The changes found in the heart and systemic pressure agreed, of course, with those described earlier.

In the pulmonary artery following the injection there was an increase in pressure, but this increase was slight and limited to the time during which the systole of the ventricle was strengthened. When the stage of lessened systole came in the pressure fell to normal, or slightly below the normal level. In all the tracings taken the pressure changes in the artery seemed to be very closely connected with the strength of the systole — with increased systole an increased pressure, and vice versa.

The changes taking place in the pulmonary arterial pressure would not point to any constriction in the pulmonary vessels as the increase in pressure found after the injection was very slight, and may be easily explained by the strengthened beat of the ventricle. Even allowing for distention of the pulmonary vessels it would seem that a constriction of the arterioles sufficient to prevent the blood entering the left auricle in adequate quantities should also show a considerable increase in the pulmonary arterial pressure, which certainly was not present.

The pulmonary venous tracing showed the following changes, viz. an increase in pressure which lasted for the entire time during which the systemic pressure was falling, and even for a short time after the general pressure had reached its lowest point. These changes were synchronous with those found in the pulmonary arterial pressure, and it would seem that they could be referred back to the same source, that is, to the heart itself. In other words, the pulmonary vessels apparently play a passive part, and the changes in the lung circulation are due to the heart alone, for with an increased ventricular action we find a slight increase in pulmonary arterial pressure and a heightened venous pressure. When the heart weakens, the pulmonary arterial pressure falls, and as a result of this the venous pressure falls also.

- The important point is that the systematic pressure falls and remains at a low level, while the left auricle is receiving an increased amount of blood, as is shown by the heightened pulmonary venous pressure. A comparison of these changes produced by the protein poison with those seen in anaphylactic shock will be given a little later.

Casein Poison on Isolated Perfused Organs.

The action of the poison upon the isolated organs was now examined.

These experiments were carried out in the usual way, by inserting a cannula in the artery of the organ under examination, and washing the blood out of its vessels with Ringer's solution, and then under constant pressure perfusing it first with Ringer's solution, and then with Ringer's to which 2 c.c. of casein poison solution (100 mgr. to 1 c.c.) had been added for each 100 c.c. of Ringer's.

Jan. 31/12. Dog's kidney perfused. Time recorded indicates time required for successive amounts of 10 c.c. to flow from the veins.

Ringer's solution	Pure Ringer's
3 min. 50 sec.	1 min. 37 sec.
3 " 27 "	1 " 45 "
3 " 16 "	2 " 1 "
Casein poison 200 mgr. to	2 " 3 "
100 c.c. Ringer's	1 " 58 "
2 min. 35 sec.	1 " 58 "
2 " 13 "	Ringer's plus
1 " 40 "	epinephrin
1 " 38 "	2 min. 4 sec.
	2 " 15 "

Febr. 1/12. Hind leg of dog. Amounts of fluid flowing from veins in 90 second periods.

Ringer's solution.	
Time	Amount
3:10 to 3:11:30	77 c.c.
3:11-30 to 3:13	81 "
3:13 to 3:14-30	81 "
Casein 2 c.c. to 100 c.c. Ringer's solution.	
3:14:30 to 3:16	95 c.c.
3:16 to 3:17:30	94 "
3:17:30 to 3:19	94 "

These results which were confirmed by experiments upon other organs point to the same action, namely a dilatation of the vessels, probably due to a paralysis of the vasomotor nervous mechanism.

The isolated vessels after paralysis by the casein did not show any very decided improvement when subsequently washed out with Ringer's solution, but they responded promptly to epinephrin. For instance, from the veins of a perfused hind leg of a cat from 25 to 28 c.c. of fluid were obtained every two minutes. Under casein poison this amount was increased to 40 c.c., 44 c.c., and finally 57 c.c. This amount was not reduced by Ringer's, but the addition of epinephrin promptly contracted the vessels, decreasing the amount to 35 c.c., and finally to 6.5 c.c. in 2 minutes. It would appear therefore that the receptive substance was not strongly affected by the poison.

All the perfusion experiments therefore point to a local paralyzing effect upon the vessel walls.

The question as to the distribution of the blood as the systemic pressure is falling, however, still remained unsettled.

An action on part of the heart or lungs is eliminated by the experiments in which these organs were utilized alone. It does not appear that the intestine or kidneys store the blood, as the volume of these organs lessens as the pressure is dropping. The condition of the liver and the part it might play remained to be investigated. That this organ might be involved was made the more likely by the fact that Pearce and Eisenbrey¹⁾ say that in acute anaphylactic shock they observed an accumulation of blood in the liver and large veins of the abdomen, and a slight increase of pressure in the inferior vena cava. Pearce and Eisenbrey apparently made no graphic records of the volume of the liver, relying upon inspection of the organ, which in such a case might not be very conclusive. Doubt is also cast upon the answer to the question by the work and views of Schultz²⁾ who it would seem appears almost to doubt that the splanchnic paralysis plays any part in the fall in pressure. On the other hand, the view of Pearce and Eisenbrey receives support from the researches of Manwaring³⁾, and still later Voegtlin and Bernheim⁴⁾ who found that in dogs with the liver excluded from the circulation no typical picture of acute shock appeared.

I accordingly studied the changes in volume in the liver produced by an injection of the poison, and then compared them with those seen in sensitized animals. The technic was as follows, and consisted principally in devising an oncometer for the organ:

Following the example of Thomson⁵⁾ I utilized the left lobe of the dog's liver, as this is well suited for the purpose by reason of the ease with which it can be separated from outside connections — the only vessel it is necessary to tie is one passing from the diaphragm to the liver lobe at its posterior angle. When this is ligated and cut the lobe is free, only being connected with the main part of the organ at the hilus of the lobe

1) Pearce and Eisenbrey, *Journ. Inf. Dis.*, Vol. 7, 1910, p. 571.

2) Schultz, *Journ. Pharm. and exp. Ther.*, Vol. 3, 1912, p. 299.

3) Manwaring, *Bull. John Hopkins Hosp.*, Vol. 21, 1910, p. 275.
— *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 8, 1910, H. 1.

4) Voegtlin and Bernheim, *Journ. Pharm. a. exp. Ther.*, Vol. 2, 1911, p. 507.

5) Thomson, *Journ. Phys.*, Vol. 25, 1899, 1.

which is perhaps 3 cm. wide by 1.5 cm. thick. Taking now this lobe from an animal I had used for other purposes I hammered out of lead sheeting two discs with flanges which when placed together roughly enclosed the lobe. Over these plates I moulded dental impression material which becomes soft in hot water, but hardens on cooling. Stout copper wire was bent into the form of an ellipse so as to fit the outer edge of each disc, and over these wire rings was stretched loosely peritoneal membrane fastened in place with shellac. After this had dried these peritoneal plates were embedded in the discs and made air tight by melting the waxy material around them with a hot wire. Each disc consisted now of a double walled chamber after the manner of the well known Roy kidney oncometer. The interior of each chamber was reached by means of a glass tube which was embedded in the wax. This tube served to fill the chambers with warm salt solution when the apparatus was desired for use, after which rubber tubes were placed on each glass tube, and these were connected by means of a tube which in turn was connected with a piston recorder. The flanges of the two halves were spread apart at the point where the hilus of the lobe was located, so that there was no pressure on the vessels. During the experiments the piston recorder showed a well marked pulse.

When the apparatus was to be used all operative procedures in regard to insertion of tracheal, arterial and venous cannulas were carried out first. A longitudinal incision was then made in the abdominal wall in the epigastric region, and a transverse cut along the left costal margin — in some cases the lower ribs on the left side were cut away. The remains of the costal border were pulled out of the way and the stomach and intestines pulled down and covered with warm, moist towels. The lobe was freed and then the two discs which had meantime been filled with warm water were fitted on either side of it and fastened together with rubber bands. Connections were now made with the piston recorder. Trial tests made with epinephrin injections showed a well marked constriction of the organ. The casein solution was now injected and the record showed that at the time the blood pressure was falling the volume of the liver underwent an increase.

This change would seem then to settle the question of the distribution of the blood at the time of the fall in systemic pressure. This fall is due primarily to a peripheral paralysis of the vasomotors running in the splanchnic nerves. It is not due to heart weakness, as the cardiac contractions are more powerful at this stage than under normal conditions; neither is it due to failure of the left side of the heart to receive

blood, as the pulmonary venous pressure is increased, showing more blood is supplied to the left auricle.

The spleen, kidneys and intestine do not show an increased volume for the reason that (doubtless due to the anatomical arrangement of the hepatic vessels) the blood is drained from these organs into the capacious blood channels of the liver. The conditions appear to be identical with those described by Thomson, as following an injection of Witte's peptone. Doubtless other factors come in which play a part in lowering the blood pressure, or in keeping it down. For instance, the weakening of the heart which I have described aids, and in itself is probably a result of low pressure and not the cause. Then other vascular areas are also affected than those innervated by the splanchnics. This has been shown very clearly in the case of several white dogs I have used. Before the injection of casein poison the skin over the ventral side of the body was white, or perhaps faintly pink. After the poison had been given it was noticed in every case that the skin over the abdomen and even extending well up over the thorax and down on the legs was a bright pink, a very marked change from the normal. If an injection of epinephrin was given, a blanching over this area took place, which was easily discernable even to untrained observers.

The fact that other areas than that of the liver are concerned is shown also by the injection of the poison when the liver is excluded from the general circulation.

This was carried out in a dog in the following manner.

An incision was made along the edge of the right rectus muscle. The intestines were pulled to the left and the portal vein isolated, and a paraffined cannula inserted into it. This was connected by a paraffined tube with a cannula in the right external jugular vein. The hepatic artery was now clamped and the blood pressure being measured from the carotid the poison was injected into the left jugular vein.

This was followed by the usual fall in pressure, the main difference being that the descent was more gradual, as it took about 90 seconds to reach 48 mm. from a normal height of 88 mm. Evidently in this animal the abdominal organs other than the liver, together with the skin vessels, accommodated

the blood, and the same fall in pressure took place but coming on more slowly, which difference would be expected as the blood channels of the liver in the other animals could fill with blood very quickly.

Respiration.

The respiratory changes produced by the poison were not very marked even where the blood pressure had undergone a fall of 75 or 100 mm. Hg. The usual effect was a weakening and some acceleration. It sometimes happened that just as the pressure was dropping there might be a temporary slowing in rate, to be followed by the weakened, rapid breathing. In one lightly anaesthetized dog a normal rate of 17 to the minute gave way to 24 after the poison was given.

In the normal non-anaesthetized dog described in the protocol given earlier the respiration increased in rate from 56 to 68 per minute, and became irregular in strength, and later on the respiratory movements were labored and it seemed to be the expiratory phase which was concerned.

In animals with the chests open and the lungs exposed and responding rhythmically to artificial respiration the blood meantime being well aerated, after the poison was injected the animals frequently began to show signs of beginning asphyxia, and upon examining the lungs it would be found that they were not responding so well to the movements of the bellows as before. A slightly stronger stroke of the latter would usually remedy the trouble.

This disturbance of the lungs is very interesting not only because it explains the slightly labored respiration in the un-anaesthetized dog and because it may explain some of the weakening of the heart which is seen rather late, but also because the respiratory system shows the most marked symptoms in the guinea-pig in acute anaphylactic shock. Respiratory disturbance of this sort has also been described by Schultz as occurring in cats.

Blood.

Among the characteristic symptoms produced in dogs by the anaphylactic poison is a lack of coagulability of the blood

which may remain fluid for hours, or even days. Also the blood picture changes, the polynuclears are decreased in number, while the mononuclears and blood platelets appear more numerous. Much the same effects are produced by the injection of Witte's peptone.

I accordingly examined the blood in several animals, taking specimens both before and after the casein poison was injected, to see if there was any change in the coagulation time, but I was unable to detect any difference. Even after large doses of the poison the drawn blood clotted as quickly as the control specimens.

Blood counts were made in the animal that had been injected intravenously — the protocol of which was given earlier:

March 25, 1912.	Small dog.
3:00 P.M.	Total leucocytes, 28 520
3:46 "	150 casein poison intravenously
3:58 "	Total leucocytes, 26 737

The differential count showed the following:

	Polynuclear		Lymphocytes		Eosinophile		Mononuclear and Transitional	
	%	Number	%	Number	%	Number	%	Number
3:00	67	19 128	15.2	4350	8.4	2415	9	2566
3:46	150 mgr. casein poison.							
3:58	72	19 253	19.2	5137	1.4	374	7	1871

As is seen by the above figures, the changes in the blood picture were not very great, although the animal had shown well marked symptoms of intoxication. Accordingly, a week later the same animal was used again, with the following result:

April 3, 1912.	Dog.
2:45 P.M.	Total leucocytes, 33 867
4:02 "	350 mgr. casein poison intravenously
4:25 "	Total leucocytes, 23 937

The differential count showed the following:

	Polynuclear		Lymphocytes		Eosinophile		Mononuclear and Transitional	
	%	Number	%	Number	%	Number	%	Number
2:45	69.2	23 435	14.6	4944	8.4	2846	7.4	2506
4:02	350 mgr. casein poison.							
4:25	78.6	18 744	15.2	3638	0.8	191	5.0	1196

9*

In this instance the changes were more distinct, but while polynuclears and lymphocytes were decreased in total number yet their relative percentages did not alter greatly. The most marked change was in the eosinophiles which were greatly diminished not only in number but also in relative percentages.

Effect on the Pancreas.

As is well known, Popielski¹⁾ has shown that Witte's peptone will call forth a secretion of the pancreas which begins in about one minute and lasts for from four to six minutes. Likewise Modrakowski²⁾ has recently shown that in sensitized dogs when the second or intoxicating injection was given a secretion of the pancreas also occurred. This secretion began in about a minute and according to the protocols given lasted for more than ten minutes. As I had found that the action of the casein product resembled in many respects both peptone and the anaphylactic poison I examined its effect upon the pancreas in the usual way. A dog was anaesthetized and through an abdominal incision a cannula was inserted into the pancreatic duct. This cannula was connected with a graduated glass tube. The injection of the usual doses of casein poison, however, failed entirely to have any effect upon the activity of the gland. Control injections of secretin given both before and after the poison were followed by the usual secretion. This experiment which was carried out on more than one animal but always with the same negative results was of considerable interest and importance, as it proved to be one of the ways in which the action of the protein poison differed from that of the poison of anaphylaxis.

Effect of a second Injection of Casein Solution.

The effect of a second dose of casein solution was in striking contrast to that of the original, as it had no effect upon blood pressure, or did not lower it more than two or three millimeters.

1) Popielski, Pflügers Arch., Bd. 126, 1909, p. 483.

2) Modrakowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 69, 1912, p. 67.

It might accelerate the heart for a brief period, but with moderate doses (100 mgr.) its effect on the respiration was nil. In other words, if the initial dose had been adequate (75 to 125 mgr.) secondary injections of moderate amounts produced no changes beyond some transient cardiac acceleration. This fact and the action of small doses were well shown in the following protocol:

Nov. 3, 1911. Dog. Weight 4 kg. Morphine and Paraldehyde. Canulae in carotid artery, jugular vein and trachea. Atropin 2 mgr. Vagus stimulation had no effect on heart.

	Blood Pressure	Heart Rate	Respiration rate per min.
3:20	56	112	5 $\frac{1}{2}$
3:21	25 mgr. casein poison		
3:22	54	116	5 $\frac{1}{2}$
3:23	50 mgr. casein poison		
3:23 ²	44	112	6
3:24	20	112	8
3:25	25	120	
3:27 ²	26	124	10
3:31	100 mgr. casein poison		
3:32	30	128	

As is seen, the poison is relatively non-toxic. After a sufficient amount has been given to paralyze the vasomotors, further doses have little effect even when quite large amounts are given.

Summary of Casein Poison Action.

The action of the protein product then is mainly that of a poison which paralyzes the vasomotor endings in the blood vessels. This paralysis results in a dilatation of the blood vessels, with consequent marked fall in blood pressure. Failure of the heart, or obstruction in the pulmonary circuit is not responsible for the fall in pressure, as the heart may be beating more strongly and the pulmonary venous pressure raised at this stage, showing that the left auricle is getting sufficient blood.

The organ mainly responsible for the fall in pressure is the liver which on account of the anatomical arrangement of its vessels allows the blood to accumulate in its interior, thus increasing its volume at the expense of the kidney and intestine, which it drains of blood thus reducing their size even though their vasomotor nerves are paralyzed also. The poison does not prevent coagulation of the blood. It produces some

acceleration of the respiration which probably is secondary to the circulatory disturbance, and it also interferes to a limited degree with the rhythmic movements of the lungs.

**Relation of Protein Poison Symptoms to those
of anaphylactic Shock.**

In considering now the relation of the action of this split protein poison to the symptoms of acute anaphylactic shock in dogs it is not necessary to abstract the very abundant literature concerning the various views held upon the physiological mechanism by which it is brought about, as this has been done very completely recently by Anderson¹), Schultz and others. It is sufficient to point out that there are two main views upon the question. One held by Biedl and Kraus, and also by Pearce and Eisenbrey, and the other upheld by Schultz himself.

The former view is that the fall in blood pressure which is characteristic of this condition is produced by a high grade peripheral vasodilatation due to an action probably upon the nerve endings in the blood vessels. This affects principally the splanchnic area and these nerves are found to be paralyzed. Some believe the action is upon nerve end proper, while others locate the point of attack as being upon the myoneural junctions.

The other view which is put forward by Schultz applies primarily to the cat, but as he says, the reaction in this animal resembles that of the dog, differing chiefly in intensity. His idea is that the circulatory disturbance is not primarily due to the splanchnic paralysis, but that there is a block in that part of the circulation occupied by the right heart and pulmonary arteries. This block is brought about by a constriction of the pulmonary arteries which prevents the blood from reaching the left side of the heart in sufficient quantities to supply the general vascular areas. A second factor is the effect of over distention and the action of the serum upon the

1) Anderson, Harvey Lectures, 1908—09, p. 117.

right ventricle. He says further that the vascular dilatation is not an important factor in causing the preliminary fall in pressure.

Before discussing further these opposing views I will give the results of my experiments, and then try to offer some explanation for this difference in views.

Experimental Work.

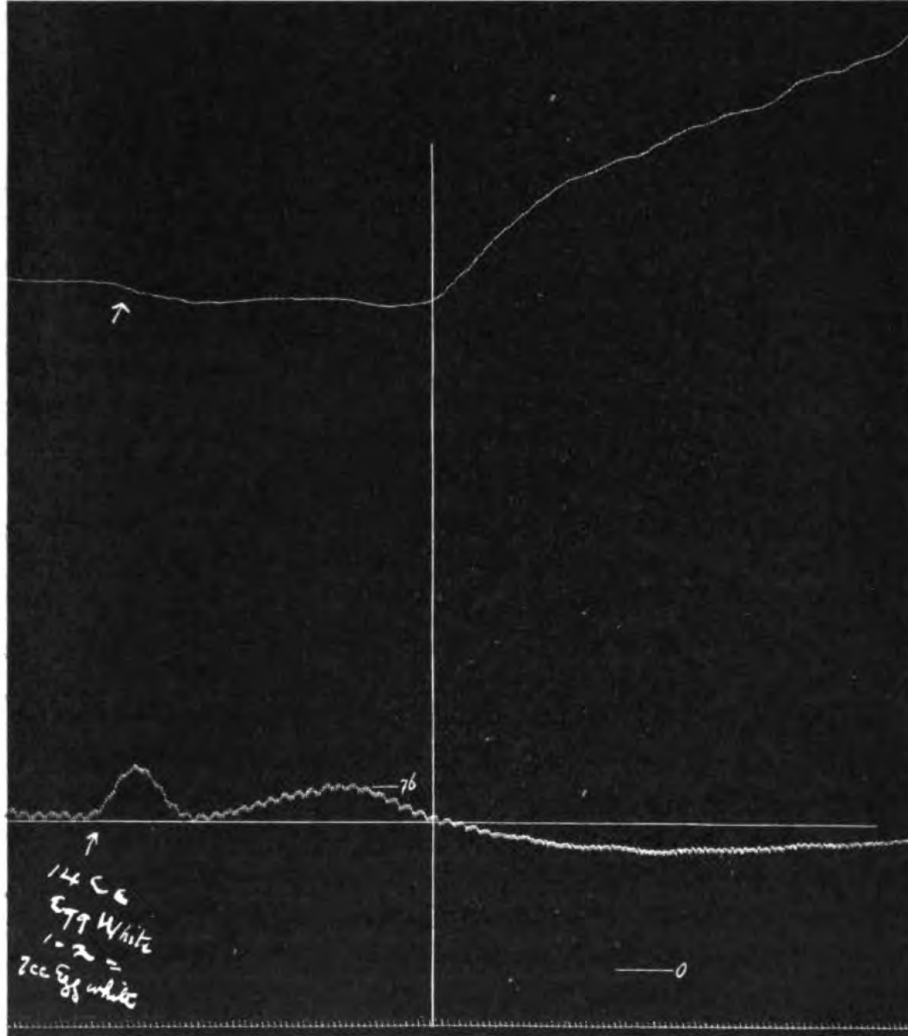
After I had obtained the results with the casein poison which I have outlined earlier in this paper I employed the same methods in studying the changes in acute shock in sensitized dogs.

These animals were sensitized with egg-white, diluted one half with water, three subcutaneous injections of 5 c. c. egg-white being given at intervals of about a week. The animals were anaesthetized and prepared in the same way as were those used in the earlier work on the casein product.

The part played by the liver as shown by changes in its volume was first investigated to see whether the observations described by Pearce and Eisenbrey without the aid of graphic methods could be demonstrated by means of the oncometer. The result obtained is shown in tracing No. 3. Here, after an injection of epinephrin to see if the apparatus was in good recording condition 7 c. c. of egg-white diluted with an equal amount of water were injected into the jugular vein. An increase in systemic blood pressure due to the bulk of fluid injected was followed by a return to normal in 15 seconds. This was followed by a second slow rise of 12 mm. as is frequently seen before the characteristic fall in blood pressure which began 45 seconds later. The fall in this animal was not very marked, from a normal of 66 it fell to 46, but as is seen in the tracing, at the moment the blood pressure passed the normal height on its downward path the volume of the liver began to increase and it continued to do so during the entire time the pressure was falling and even for a short time beyond this stage.

It is clear therefore that we have here a similar condition to that found with the casein poison and that Pearce and

Eisenbrey's observations made upon the liver are confirmed by the graphic method. Here too the kidney and other organs do not increase in volume with splanchnic paralysis



Tracing 3. May 24, 1912. Dog. Sensitized to egg-white by three injections of 5 c. c. each. Carotid blood pressure. Liver in oncometer. Cross lines are drawn to show when blood pressure started on its anaphylactic fall and its relation to the liver tracing. 7 c. c. egg-white diluted with equal volume of water injected. Time in seconds.

because the blood is drained off into the liver. Doubtless the large veins of the abdominal cavity are also concerned as Pearce and Eisenbrey state in their writings.

Following the injection of egg-white a second control injection of epinephrin was given, with the typical rise in blood pressure and marked constriction of the liver.

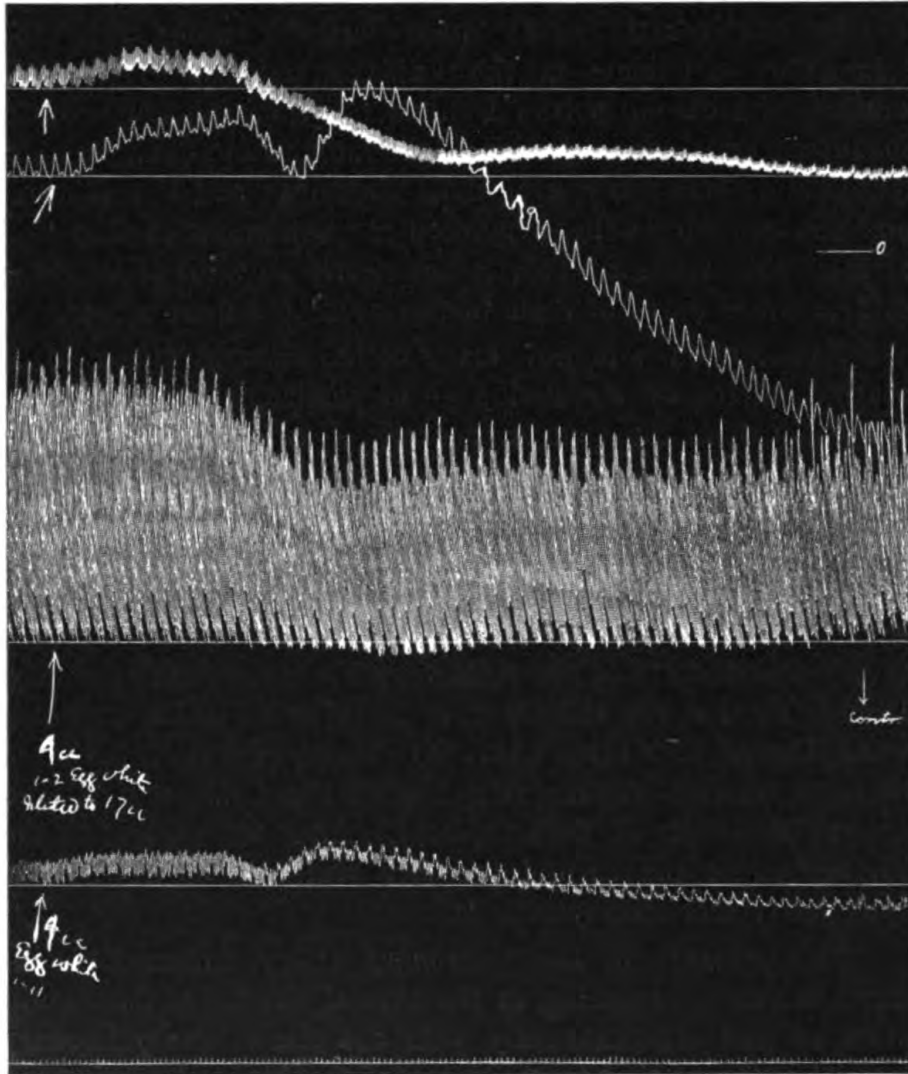
In anaphylactic shock other vascular areas than the splanchnic participate in the vascular paresis. Even as I showed with casein poison I found the same phenomenon in sensitized dogs upon injection of the intoxicating dose, namely, that white dogs show over their abdomens and the adjacent portions of their bodies a marked congestion due to dilatation of their skin vessels. This is not nearly so marked over the skin in other parts of their bodies as in the area named.

Examination was now made of the changes taking place in the pulmonary circulation — of particular interest being the changes in the venous pressure — to see whether there was evidence of a deficient blood supply to the left side of the heart.

Here too the order of the experiment was the same as has been described earlier in this paper. Cannulas were inserted in the carotid, pulmonary artery and vein, and a record of the contractions of the right ventricle taken simultaneously. Tracing No. 4 shows the result of the injection of 4 c. c. of egg-white diluted with three times its volume of water. All three pressure tracings show a rise, lasting about 30 seconds, and due to the bulk of fluid injected. After its return to the normal height the carotid pressure continued on downwards upon its typical anaphylactic fall.

The pressure in the pulmonary artery underwent a distinct increase, beginning at the time of the fall of the carotid pressure and simultaneously with the rise in the pulmonary arterial pressure that in the veins of the lungs also increased and remained considerably above normal all the time the carotid pressure was falling. During this phase which lasted about 30 seconds the heart changes were important. The extent of dilatation might be lessened, but the systole was increased. This agreement in time between the heart changes and the increase in pulmonary arterial and venous pressure would point to a connection between them, and it would look as if the increase in venous pressure following as it does the

rise in pulmonary arterial pressure depended upon it and the arterial pressure in turn upon the increased contraction of



Tracing 4. April 30, 1912. Dog sensitized to egg-white by three injections of 5 c. c. each.

Upper tracing — carotid blood pressure recorded by mercury manometer;

Second tracing — pulmonary venous pressure recorded by water manometer.

Third tracing — Rt. ventricle. Lever moves down in systole.

Fourth tracing — pulmonary arterial pressure recorded by Hürthle membrane manometer.

Time in seconds. Parallel lines are drawn to show normal height of each tracing. All pointers were in line except that of the venous tracing which was 0.5 cm. to right of others.

4 c. c. egg-white diluted 1—4 were injected into the jugular vein.

the right ventricle, the blood vessels of the lungs meantime being merely passive. With the weakening of the ventricular systole the pulmonary arterial pressure dropped below normal and following it exactly the venous pressure came down too, but this was after the carotid pressure had reached its minimum. It is clear therefore that in anaphylaxis in dogs, at least, an obstruction in the pulmonary vessels is not responsible for the fall in systemic pressure, as at the time the fall is taking place the pulmonary venous pressure is considerably above the normal height, and there is no evidence of any scarcity of blood reaching the left auricle.

My results then confirm the views advanced by Biedl and Kraus and by Pearce and Eisenbrey and speak against those of Schultz¹). It is important therefore to see if any explanation can be found for this discrepancy, and it would seem that the trouble is not far to seek. A careful study of Schultz's paper shows several sources of error, some of which are of fundamental importance. He says that in spite of the contentions of Biedl and Kraus and nearly every other worker that horse serum causes vaso dilatation, it can be shown not to do so, but to cause constriction. He proves this by testing its effect upon various organs by perfusion and otherwise getting in each case contraction of the tissue affected. Since all smooth muscle then contracts, the systemic blood pressure, he says, should rise were the blood not prevented from reaching the left auricle by failure to pass the lung capillaries. The error seems to lie in Schultz carrying over the results obtained with horse serum and applying them to the explanation of the symptoms of acute anaphylactic shock. Neither Biedl and Kraus, Pearce or the others ever said, as far as I know, that horse serum per se caused dilatation in this condition, but that in a-

1) I want to emphasize again that I realize that Schultz's work was carried out on cats while Biedl and Kraus and Pearce and Eisenbrey and I all worked with dogs, and that there is great danger in carrying over results obtained in one animal to explain the symptoms seen in the other, and this is one thing which it seems to me has been done, but in the remarks I have to make I believe this criticism will not be valid, as they would hold good whichever animal Schultz had worked upon.

phylaxis dilatation occurred with a resulting fall in pressure. But this dilatation is not caused by the horse serum itself, but by the anaphylactic poison (anaphylatoxin) whatever that may be, and this toxin is quite a different substance from horse serum. The reaction to horse serum itself in such a case has nothing to do with it, and yet Schultz seems to think they are identical. The identity of this anaphylactic poison is not known. It may be an enzyme, antibody, or something else. It seems to be contained in the casein product I worked with, but I realize that the casein product is not a pure substance, and some of the impurities may be partially responsible for vascular dilatation I obtained. However this may be the poison in anaphylaxis certainly is not horse serum itself, and results obtained with it while interesting and important in themselves may miss the mark widely when they come to solve the anaphylactic question.

Then again, the perfusion experiments of Schultz are far from conclusive and convincing; at least the only protocols which he gives of such an experiment are. For instance, the lungs of a cat were perfused with Ringer's solution, and then with a solution composed of horse serum, 1 part and Ringer's 4 parts, with a result that the out-flow was diminished, which he ascribes to constriction of the vessels. But he does not take into account the difference in viscosity of the two fluids, which as Wiggers¹⁾ has shown, may play a considerable part even to the extent of obscuring a constriction of vessels by epinephrin.

Again after using this diluted serum he changes to Ringer's, plus sodium nitrite, and gets an increase in rate of outflow. The question arises whether the slightly increased rate of flow is due to true vascular dilatation or to lessened viscosity. Also in records of perfusion experiments he draws conclusions from results obtained from tissues perfused until they are "decidedly oedematous and the abdominal wall is bulged with retained fluid". Results obtained from such experiments would need very careful control.

1) Wiggers, J. Pharm. and Exp. Therap., Vol. 1, 1909, p. 341.

Further, Schultz working with cats devotes some little space to a consideration of the antidotal action of atropine against acute anaphylactic shock, and concludes that it is only of academic interest and of little practical value in treating such cases. Here again he seems to overlook the fact that Auer and Lewis introduced the alkaloid for the treatment of affected guinea-pigs because the drug paralyzed the nerves in the constricted bronchial muscles. Atropine, however, could not be expected to have any effect in anaphylaxis of cats, as it has no influence on the vasomotor endings which are paralyzed in this animal. There is evidence in both the cat and dog of some action on the lungs, as they do not dilate so well after the poison (or horse serum) has been given, and it is possible that this phase of the poisoning in these animals may be influenced by atropine, but up to the present time this has not been demonstrated, although such an action is rather probable; but an action in the lungs is quite different from one against the circulatory disturbance, which is the characteristic difficulty in anaphylactic dogs and cats.

The main cause therefore for the difference in views concerning the essential physiological changes undergone in acute anaphylactic shock seems to me to lie in the fact that Schultz assumed apparently the identity of action of horse serum and the hypothetical substance, anaphylatoxin.

Finally, the great difference which it seems to me exists between my results with the split casein product and the symptoms and changes seen in sensitized dogs lies in the necessity for the presence of the liver in the latter case, in order possibly for it to free in some way the toxin responsible for the anaphylactic phenomena. With the protein product, however, the poison is already in a free state and can immediately attack the vasomotor endings without the necessity of any preliminary action upon it by the liver. Possibly this lack of participation on the part of the liver is responsible for the absence of any deleterious action upon the coagulation of the blood which is seen in anaphylactic shock.

Zusammenfassung.

Das in dem Spaltprodukte der Proteinmoleküle enthaltene Toxin Vaughans bringt, intravenös gegeben, in der Hauptsache dieselben Symptome bei Hunden hervor, die bei ihnen im Zustande des akuten anaphylaktischen Shocks beobachtet sind.

Eine Analyse der Zirkulationsstörungen ergab denselben äußerst schnellen Fall des Blutdruckes, hauptsächlich infolge einer Paralyse der Enden der „Nervi splanchnici“. Zur Zeit des Druckabfalls staut sich das Blut nicht im Darm und in den Nieren, sondern fließt von da in die Leber und die großen Bauchvenen ab; weder Konstriktion der Pulmonalgefäße, noch ungenügende Blutzufuhr zur linken Herzkammer wurden beobachtet.

In dieser Hinsicht stimmt die Wirkung des Proteintoxins mit den Phänomenen überein, die unter dem Namen „anaphylaktischer Shok“ beschrieben sind; jedoch mit dem Unterschiede, daß im letzteren Falle das Blut seine Koagulationsfähigkeit verlieren kann, was bei den Spaltprodukten nicht der Fall ist.

Since the above was written the paper by Pearce and Eisenbrey¹⁾ regarding the action of the dog's heart in anaphylactic shock has appeared, and a perusal of their results shows that they agree in practically every detail with those I obtained with the casein product and in anaphylaxis itself. Some of my tracings show early more dilatation of the heart chambers, but I believe this is mainly a question of arrangement of tension in the recording levers. The late weakening is the same in all cases, and an important factor in the causation of this weakness they believe is the difficulty the heart experiences in getting enough blood from the dilated veins in order that it may fill itself satisfactorily.

1) Pearce and Eisenbrey, Journ. Pharm. and exp. Therap., Vol. 4, 1912, p. 21.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Serumlaboratorium der Kgl. Veterinär- und Landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen (Direktor: Prof. Dr. med. C. O. Jensen).]

Ueber die angebliche Tetanustoxin neutralisierende Wirkung des Neurins und des Betaïns.

Von Tierarzt **Vald. Adersen**, Assistenten am Laboratorium.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. November 1912.)

Im 18. Jahrgang von „La semaine médicale“ veröffentlichten Roger und Josué¹⁾ das Ergebnis einiger Untersuchungen, wonach sie dem Neurin eine neutralisierende Wirkung auf Tetanustoxin zuschreiben zu können meinten.

Bei ihren Versuchen tötete das Neurin allein bei Injektion unter die Haut in einer Dosis von 12 mg im Laufe von einigen Stunden ein Meerschweinchen von 400 g, während eine Dosis von 6 mg nur einen heftigen, schnell vorübergehenden lokalen Schmerz verursachte und die Tiere nicht erkrankten. Ein bestimmtes Tetanustoxin ergab in einer Dosis von 0,05 bis 0,1 ccm subkutan an Meerschweinchen von 400—500 g injiziert im Laufe von 48 Stunden tetanische Kontraktionen und tötete die Tiere am 3.—4. Tag; ein Gemisch von 0,1—0,15 ccm dieses Toxins und 6 mg Neurin verursachte keine Kontraktionen, und alle damit behandelten Tiere überlebten die Injektion. Wurde aber ein Gemisch von 0,25 ccm des Toxins und 6 mg Neurin injiziert, so starben die Versuchstiere, jedoch später als die mit einer 4—5mal kleineren Toxindosis behandelten Kontrolltiere. Daraus schließen die Verfasser, daß das Neurin eine neutralisierende Wirkung auf Tetanustoxin ausübt.

Etwas später teilten dieselben Verfasser mit²⁾, daß sie eine Reihe chemischer Verbindungen gegenüber Tetanustoxin geprüft und daß sie darunter eine mit besonders intensivem Neutralisationsvermögen gefunden hatten, nämlich das Chlorhydrat von Betaïn. So überlebte ein Meerschweinchen von 370 g die Injektion eines Gemisches von 12 cg Betaïnium hydrochloricum und 15 Tropfen Toxin von einer solchen Giftigkeit, daß $\frac{3}{4}$ Tropfen davon ein Meerschweinchen von 550 g im Laufe von 7 Tagen töteten. Es wird angegeben, daß genauere Untersuchungen zeigten, daß 1 Tropfen Toxin sich von 1 cg Betaïn neutralisieren ließ.

1) Roger et Josué, Action neutralisante de la nevrine sur la toxine tétanique. La semaine médicale 1898, p. 141.

2) Roger et Josué, Action neutralisante du chlorhydrate de bêtaïne sur la toxine tétanique. La semaine médicale 1898, p. 486.

Während in Betreff des Neurins mitgeteilt wird, daß die neutralisierende Wirkung nur durch eine Mischung außerhalb des tierischen Organismus erzielt wird, wird über das Betaïn in der Beziehung keine Mitteilung gegeben, und die Möglichkeit wäre somit nicht ausgeschlossen, daß dieser Stoff therapeutische Anwendung gegenüber Tetanus finden könnte.

In der humanen Therapie sind denn auch Versuche in der Richtung angestellt worden; so teilt Pelicaud¹⁾ einen heftigen Fall von Tetanus mit, der durch Anwendung von subkutanen Injektionen von Betaïnum hydrochloricum (Dosis 0,2—1,0 g pro die) in Verbindung mit Tetanusantitoxin und Chloral geheilt wurde. Verf. scheint jedoch a priori für das Betaïn stark eingenommen, da er trotz großer Dosen Antitoxin und Chloral (16—24 g pro die) dennoch dem Betaïn allein die Ehre für den glücklichen Erfolg beimißt.

Um für eine etwaige therapeutische Verwendung des Betaïns eine experimentelle Grundlage zu finden, wurde es mir übertragen, die französischen Untersuchungen zu wiederholen und sie eventuell fortzusetzen und zu erweitern. Als Versuchstiere wurden zu Anfang weiße Mäuse angewandt, und es war daher notwendig, die Wirkung des Betaïns an ihnen zu untersuchen, weshalb eine Reihe Mäuse subkutan mit verschiedenen Dosen einer 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum²⁾ geimpft wurden. Nur die Minderzahl davon überlebte die Injektion bei Dosen von 0,1 ccm und darüber, während die Mehrzahl im Laufe von wenig Tagen zugrunde ging. Ferner bekamen alle Mäuse an der Injektionsstelle größere oder kleinere Aetzungen. Die genauere Untersuchung der Lösung ergab, daß diese stark sauer war; 1 ccm derselben erforderte 3,3 ccm $\frac{1}{10}$ n. NaOH zur Neutralisation (mit Phenolphthaleïn als Indikator). Bei Anwendung einer 5-proz. Lösung, zu der so viel Natriumhydrat gesetzt war, daß die Lösung neutral reagierte, ertrugen die Mäuse sogar eine Dosis von 1 ccm ohne jegliche Reaktion.

Das angewandte Tetanustoxin war dem Laboratorium von „Statens Seruminstitut“ in Kopenhagen überlassen worden und hatte eine solche Stärke, daß 0,01 ccm, weißen Mäusen à 20 g injiziert, im Laufe von 48 Stunden Kontraktionen ver-

1) Presse médicale, 1905, p. 485.

2) Betaïnum hydrochloricum von E. Merck, Darmstadt.

ursachte und die Tiere am 3.—4. Tage tötete. Durch die eben genannte Beobachtung der stark sauren Reaktion der Betaïnlösung¹⁾ war die Aufmerksamkeit ganz natürlich auf die Möglichkeit hingelenkt worden, daß es sich um eine Säurewirkung handeln könnte, da die Toxine bekanntlich gegenüber Säuren sehr empfindlich sind, und es wurden daher 3 Reihen von weißen Mäusen in verschiedener Weise behandelt.

I. Reihe.

- Maus a. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,4 ccm neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum
„ b. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,3 ccm neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum
„ c. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,2 ccm neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum
„ d. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,1 ccm neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum

Die Mischung von Toxin und Betaïnlösung fand statt ca. $\frac{1}{4}$ Stunde vor der Injektion.

Nach ca. 2 Tagen wiesen alle Mäuse Symptome von Tetanus auf, und sie starben im Laufe von $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ Tagen. Die neutralisierte Betaïnlösung gewährt also den Mäusen nicht den geringsten Schutz.

2. Reihe.

- Maus a. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,4 ccm nicht neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum
„ b. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,3 ccm nicht neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum
„ c. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,2 ccm nicht neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum
„ d. Inj. subk. 0,02 ccm Tetanustoxin + 0,1 ccm nicht neutralisierte 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum

Die Mischung von Toxin und Betaïnlösung fand statt ca. $\frac{1}{4}$ Stunde vor der Injektion.

Maus a und b erkrankten nicht, bekamen aber beide um die Injektionsstelle ca. einpfenniggroße Hautnekrosen, die im Laufe von ca. 14 Tagen abgestoßen wurden. Maus c starb nach 4 Tagen, ohne Symptome von Tetanus aufgewiesen zu haben, wahrscheinlich an Säurevergiftung. Maus d starb nach 10 Tagen, aber nicht an Tetanus.

1) Betaïnlösung hier und im folgenden = 5-proz. Lösung von Betaïnum hydrochloricum.

3. Reihe.

Diese Reihe war eine genaue Wiederholung der 2. Reihe; nachdem die saure Betaïnlösung ca. $\frac{1}{4}$ Stunde mit dem Toxin vermischt gewesen war, wurden die Mischungen aber vor der Injektion neutralisiert, um die Aetzungen an den Impfstellen sowie die Komplikationen der Säurewirkung zu verhüten.

Das Resultat war, daß alle Mäuse vollkommen gesund blieben.

Die Versuche wurden an Meerschweinchen wiederholt.

4. Reihe.

2 Meerschweinchen von ca. 450 g bekamen bzw.

0,1 ccm Tetanustoxin, gemischt mit 0,7 ccm neutral. 5-proz. Betaïnlös.
0,075 „ „ „ „ 0,5 „ „ „ „

Im Laufe von 2 Tagen waren sie heftig von Tetanus angegriffen, und sie starben fast zur selben Zeit wie ein Kontrolltier, das 0,08 ccm Tetanustoxin erhalten hatte.

5. Reihe.

2 Meerschweinchen von ca. 400 g bekamen bzw.

0,1 ccm Tetanustoxin, gemischt mit 0,7 ccm nicht neutral. 5-proz. Betaïnlös.
0,075 „ „ „ „ 0,5 „ „ „ „

Beide Tiere blieben gesund.

Es zeigt sich also, daß, während eine neutralisierte Betaïnlösung dem Tetanustoxin gegenüber ohne Wirkung ist, eine saure Lösung bei ca. 15 Minuten dauernder Einwirkung *in vitro* auf das Toxin dies zu zerstören vermag, so daß alle Versuchstiere die Injektion überleben.

Durch diese Ergebnisse war es in überwiegendem Grade wahrscheinlich geworden, daß die angebliche Toxinneutralisation eine Säurewirkung sei; um dies endgültig zu entscheiden, war nur noch erforderlich, daß man auch mit derselben Wirkung imstande war, bei den „Neutralisationsversuchen“ die Betaïnlösung durch eine Chlorwasserstofflösung derselben Azidität zu ersetzen. Wie oben angeführt, erforderte 1 ccm Betaïnlösung zur Neutralisation 3,3 ccm $\frac{1}{10}$ n. NaOH; aber diese titrimetrische Bestimmung teilt nichts mit über die „wahre Azidität“ der Lösung, ihre Wasserstoffionenkonzentration; durch elektrometrische Messung ergab sich diese als $10^{-1,3}$

$= 5 \times 10^{-2}$. Es wurde deswegen folgende Versuchsreihe an-
gestellt.

6. Reihe.

2 Meerschweinchen à 450 g erhielten bzw.

0,1 ccm Tetanustoxin, mit 0,5 ccm $\frac{1}{20}$ n. Chlorwasserstofflösung gemischt
0,05 " " " 0,5 " $\frac{1}{20}$ n. " "

Beide Meerschweinchen blieben gesund, während ein Kon-
trolltier, das 0,05 ccm Toxin allein erhielt, nach $4\frac{1}{2}$ Tagen starb.

Da $[H^{\cdot}]$ von $\frac{1}{20}$ n. HCl $= 0,94 \times 5 \times 10^{-2}$ ($0,94 =$ dem
Dissoziationsgrad von $\frac{1}{20}$ n. HCl) ist, d. h. etwas kleiner als
 $[H^{\cdot}]$ der Betaïnlösung ist, so ist hiermit nachgewiesen, daß
die angebliche Neutralisation als einfache Säure-
wirkung erklärt werden kann.

Wenn Rehns¹⁾ nach einer Besprechung von Roger und
Josué's Beobachtungen über Betaïn diese durch die Annahme
zu erklären sucht, daß das Betaïn das Toxin im Verhältnis
zum Nervensystem aufgelöst halten sollte, so ist diese An-
nahme also überflüssig, und sein negatives Resultat des Ver-
suches, im Blute von Tieren, die mit der Betaïn-Toxinmischung
vorbehandelt worden waren, Antitoxin nachzuweisen, ist eine
einfache Folge davon, daß das Toxin vor der Injektion vom
Chlorwasserstoff destruiert war.

Das Neurin²⁾ ist eine starke Base. Die Wasserstoff-
ionenkonzentration der beim Versuche verwendeten 2,5-proz.
Neurinlösung wurde nicht gemessen; aber aus Bredigs³⁾
Angaben über das Leitungsvermögen der Neurinlösungen,
mit Kohlrausch und Holborns⁴⁾ Zahlen über das der
Natriumhydroxydlösungen verglichen, geht hervor, daß Neurin
in wässriger Lösung am stärksten dissoziiert ist, mit anderen
Worten, daß Neurin eine stärkere Base ist als Natrium-
hydroxyd, und die Annahme lag somit nahe, daß die Ein-
wirkung auf das Toxin eine Alkaliwirkung sei; dies wurde
denn auch durch Versuche bestätigt.

1) C. R. Soc. Biol., 1904, p. 693.

2) Neurin in Lösung von 25 Proz. von E. Merck, Darmstadt.

3) G. Bredig, Ueber die Affinitätsgrößen der Basen. Zeitschr. f.
physikal. Chemie, Bd. 13, p. 300.

4) F. Kohlrausch und L. Holborn, Das Leitvermögen der Elektro-
lyte, p. 160.

7. Reihe.

- Meerschw. a (Gew. 400 g). Inj. subk. 0,05 ccm Tetanustoxin + 0,25 ccm
2,5-proz. Neurinlösung = $6\frac{1}{4}$ mg Neurin
„ b (Gew. 410 g). Inj. subk. 0,07 ccm Tetanustoxin + 0,25 ccm
2,5-proz. Neurinlösung = $6\frac{1}{4}$ mg Neurin
„ c (Gew. 400 g). Inj. subk. 0,1 ccm Tetanustoxin + 0,25 ccm
2,5-proz. Neurinlösung = $6\frac{1}{4}$ mg Neurin

Keines der Tiere erkrankte, während die Kontrolltiere, die 0,03—0,07 ccm Toxin erhalten hatten, im Laufe von 4 bis 5 Tagen starben. Derselbe Schutz ließ sich allerdings auch erzielen, wenn man die Neurinlösung durch eine äquimolekulare Lösung von Natriumhydroxyd, wie folgt, ersetzte:

8. Reihe.

- Meerschw. a (Gew. 370 g). Inj. subkutan 0,07 ccm Tetanustoxin + 0,25 ccm
äquimolek. Natriumhydroxyd
„ b (Gew. 380 g). Inj. subkutan 0,1 ccm Tetanustoxin + 0,25 ccm
äquimolek. Natriumhydroxyd

Beide Tiere blieben gesund.

Setzt man aber zu der Neurinlösung verdünnten Chlorwasserstoff bis zu neutraler Reaktion, so kann man mit dieser Lösung die Wirkung des Toxins nicht aufheben:

9. Reihe.

- Meerschw. a (Gew. 450 g). Inj. subk. 0,05 ccm Tetanustoxin + neutralis.
Neurinlösung, 6 mg Neurin entsprechend
„ b (Gew. 440 g). Inj. subk. 0,07 ccm Tetanustoxin + neutralis.
Neurinlösung, 6 mg Neurin entsprechend

Beide Tiere waren nach ca. 48 Stunden heftig von Tetanus angegriffen und starben bzw. 5 und 3 Tage nach der Injektion.

Zusammenfassung.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß man wohl imstande ist, das Tetanustoxin durch Zusatz von Lösungen von Neurin oder Betaïnum hydrochloricum zu „neutralisieren“; es handelt sich aber hier um keine spezifische Wirkung der betreffenden chemischen Verbindungen, dagegen bzw. um eine Alkali- und Säurewirkung, indem einerseits die „Neutralisation“ bei Anwendung neutraler Lösungen unterbleibt, während andererseits dieselbe Wirkung bei Anwendung von Säure- und Alkalilösungen entsprechender Azidität bzw. Alkalinität erzielt wird.

Nachdruck verboten.

[From the Departments of Experimental Therapeutics and of Experimental Pathology in the Medical College of Cornell University, New York.]

The nature of Anti-Anaphylaxis.

By **Richard Weil** and **Arthur F. Coca.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Dezember 1912.)

„Anti-anaphylaxis“ is the term, first used by **Besredka**, that designates that condition of lost hypersensitiveness to the so-called „second injection“ of a foreign proteid, which is produced in the anaphylactic animal by the injection, into any part of the body, of sublethal quantities of the proteid. Anaphylactic animals have been rendered anti-anaphylactic, also, by the administration of the proteid per os or per rectum. The application of the term was later extended to the non-sensitiveness of animals in which the development of the anaphylactic condition has been interfered with by repeated injection of the proteid during the so-called preanaphylactic period; that is, during the 10 or 12 days immediately following the primary injection. It was further extended to the relative non-sensitiveness that is produced in sensitized animals by the injection of substances other than the proteid used for the sensitizing injection, such as **Witte's** peptone and concentrated salt solution.

Among the various theories that have been proposed to explain the mechanism by which the condition of „anti-anaphylaxis“, using the word in its original sense, is brought about in sensitized animals, that of **Friedberger** has been received with most favor. **Friedberger** at first (following **Besredka**) explained „anti-anaphylaxis“ as due to a gradual neutralization of „sessile“ antibodies, which he thought were identical with the precipitins. Upon giving up his idea that the anaphylactic reaction takes place in the cells, he modified his explanation of anti-anaphylaxis only by changing the site of the gradual neutralization, that is, from the cells to the

body fluids. Later, in order to explain the observation of Gay and Southard¹⁾ and of Otto²⁾ that the serum of „refractory“ animals can be used passively to sensitize normal animals, Friedberger again modified his explanation by assuming a partial neutralization of the antibodies. For this theory there exists, at the present time, no published experimental verification.

Several objections have been brought against Friedberger's explanation, the most important of which is the repeatedly published and experimentally supported statement that sensitized animals can be made „anti-anaphylactic“ by injections of heterologous proteids and even by the injection of Witte's peptons. This objection is, in part, disposed of by some experiments of Rosenau and Anderson³⁾ and of H. G. Wells⁴⁾, who demonstrated clearly the specificity of the anaphylactic state. Wells found, also, that the injection into a sensitized guinea-pig of a heterologous proteid could diminish the severity of the anaphylactic shock produced by the subsequent injection of the homologous proteid.

Bessau⁵⁾ (apparently unaware of this earlier work) on the basis of some experiments in simultaneous, double sensitization, reached the conclusion that the condition of „anti-anaphylaxis“ is not due to antibody absorption, but is an aspecific condition due to lowered sensitiveness to „anaphylaktisches Gift“. Bessau injected normal guinea-pigs simultaneously with horse-serum and ox-serum (0.5 c. c. subcutaneously) and after 16 days introduced a sublethal quantity (1 c. c.) of ox-serum by intraperitoneal injection into the same animals. After another interval of several days, the intravenous injection of a multiple lethal quantity (0.5 c. c.) of horse-serum caused only slight symptoms.

Our own experience with double sensitization in guinea-pigs leads us to conclusions that do not agree with those of Bessau. We sensitized a series of guinea-pigs simultaneously

1) Journal of Med. Res., Vol. 16, 1907, p. 152.

2) Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 34, p. 1667.

3) Journal of Infect. Dis., Vol. 4, 1907.

4) Journal of Infect. Dis., Vol. 6, 1909.

5) Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 1911.

to horse-serum and to crystalline egg-albumen and found that then, after a sublethal injection of egg-albumen, whereas the animals were insusceptible to the intravenous injection of 10 lethal quantities of that antigen, they were still highly hypersensitive to the injection of horse-serum. The results of this experiment are shown in Table I.

Technical considerations.

The whites of fresh eggs (laid on the previous day) were shaken vigorously with two volumes of distilled water and the resulting solution was filtered through absorbent cotton. The filtrate was mixed with an equal volume of a saturated solution of ammonium sulphate and the precipitated globulin was separated by filtration through hardened filter-paper. The globulin fraction was freed from albumen by repeated precipitation with $\frac{1}{3}$ saturated ammonium sulphate, and the ammonium sulphate was finally removed by dialysis against 0.4 % NaCl solution. To the albumen fraction was added just sufficient ammonium sulphate to cause beginning precipitation. The precipitate was redissolved by the addition of a little distilled water and 10 % acetic acid was added drop by drop until a permanent precipitate was again produced. After standing for an hour or more, this precipitate (in which we were unable to find any crystalline bodies) was collected upon a hardened filter paper and reprecipitated four times out of distilled water with ammonium sulphate. At the second precipitation and thereafter, the substance was typically crystalline in form. The ammonium sulphate was removed by dialysis against running tap-water and the resulting cloudy fluid centrifugalized. After the addition of 0.9 % of NaCl, the solution was sterilized by passing it through a Berkefeld filter.

Whenever, in the following experiments, egg-albumen is mentioned a 2 % solution of the crystalline albumen of the hen's egg is meant. 4.0 c.c. of this solution produced no symptoms when injected into normal or anti-anaphylactic guinea-pigs. For the active sensitization of guinea-pigs we have always used 0.05 c.c. of the solution injected subcutaneously. The minimal lethal dose for sensitized guinea-pigs was found to be about 0.1 c.c. when injected intravenously. For rendering sensitized animals anti-anaphylactic we have always injected 0.05 c.c. of the solution subcutaneously. The relative purity of the albumen and globulin preparations is demonstrated in Table II a. Guinea-pig 888, which had been actively sensitized to egg globulin, was not hypersusceptible to our egg albumen preparation (10 lethal doses). Guinea-pig 145, which had been passively sensitized to egg albumen, was not hypersensitive to egg globulin (40 lethal doses).

For convenience of description, especially in arranging the tables, the following abbreviations have been employed:

E.A. = a 2 % solution of crystalline albumen of hen's egg in 0.9 % NaCl,

E.G. = a solution of hen's egg globulin (concentration unknown) in 4% NaCl,

H.S. = horse-serum,

i.v. = intravenously,

i.p. = intraperitoneally,

s.c. = subcutaneously.

By "typical anaphylactic death" we mean death within a few minutes following more or less violent convulsions, together with characteristic post-mortem findings.

Table I.
Showing the specificity of anti-anaphylaxis.

Normal guinea-pig	April 10	April 29	May 1	Result
876	0.02 c.c. H.S. and 0.05 c.c. E.A. s.c.	0.4 c.c. E.A. i.v.	—	typical anaphylactic death.
870	idem	0.1 c.c. H.S. i.v.	—	idem
868	"	0.05 c.c. H.S. i.v.	—	"
848	"	0.05 c.c. E.A. s.c.	4.0 c.c. E.A. i.v.	no symptoms.
883	"	idem	1.0 c.c. E.A. i.v.	twitchings; not sick.
878	"	"	0.05 c.c. H.S. i.v.	typical anaphylactic death.
866	"	"	0.03 c.c. H.S. i.v.	idem
877	"	"	0.02 c.c. H.S. i.v.	"
873	"	"	0.018 c.c. H.S. i.v.	"
874	"	"	0.018 c.c. H.S. i.v.	slight symptoms.

Analysis.

It was shown with guinea-pig No. 876 that the series had been sensitized to egg-albumen; with No. 870 and 868, that the series had been sensitized, also, to horse-serum; with No. 848 and 883, that the second subcutaneous injection of 0.05 c.c. of egg albumen had rendered the remainder of the series anti-anaphylactic to egg-albumen; and with No. 878, 866, 877, 873, that those animals that had been made anti-anaphylactic to egg-albumen were still highly hypersensitive to injections of horse-serum. We did not make a complete quantitative comparison in this experiment, hence the experiment does not show whether or not in rendering the doubly sensitized animals anti-anaphylactic to the one antigen we diminished their sensitiveness to the other. However, it is demonstrated that the animals can be made quite unsusceptible to ten lethal doses of one antigen and yet remain to such a degree hypersensitive to the other antigen that they succumb to about two minimal lethal doses of it¹).

1) According to Lewis the minimal lethal dose of horse-serum for actively sensitized guinea-pigs is 0.01 c.c. injected intravenously.

A similar experiment, the results of which are given Table II, was carried out with the crystalline albumen and the globulin of the hen's egg. In this experiment it can be seen that in rendering doubly sensitized guinea-pigs anti-anaphylactic to one antigen the lethal dose of the other antigen for those animals is actually though only slightly increased¹).

Table II a.

Normal guinea-pig	April 10	April 30	Result
888	0.1 c. c. E.G. s.c.	1.0 c. c. E.A. i.v.	twitchings; not sick.
886	idem	0.2 c. c. E.G. i.v.	typical anaphylactic death.
	May 11	May 14	Result
145	0.3 c. c. serum rabbit No. 965 ²) i.p.	2.0 c. c. E.G. i.v.	no symptoms.
146	idem	1.0 c. c. E.A. i.v.	typical anaphylactic death.

Analysis.

Guinea-pigs No. 888 and 886 were actively sensitized to egg-globulin, as shown by the typical result of the intravenous injection of a small quantity of the egg-globulin solution in No. 886. Guinea-pig No. 888, however, was not affected by the intravenous injection of a relatively large amount of the egg-albumen preparation — ten lethal doses. Guinea-pigs No. 145 and 146 were passively sensitized to egg-albumen as seen by the typical result of the intravenous injection of egg-albumen in No. 146. Guinea-pigs No. 145, however, was not affected by the intravenous injection of a large quantity — 40 lethal doses — of the egg-globulin solution.

The two foregoing experiments are introduced here to show that the preparations of globulin and albumen which were used in the experiment that follows, represented these two proteids in a degree of isolation sufficient for the purpose of the experiment.

1) The independent investigations of Friedberger and Szymanski (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 14, 1912) have produced results that are identical with ours.

2) Rabbit No. 965 had received three intraperitoneal injections of 1.0 c. c. of E.A. Last injection April 24.

Table II b.
Showing the specificity of anti-anaphylaxis.

Normal guinea-pig	May 7	May 27	May 29	Result
131	0.1 c. c. E.G. and 0.05 c. c. E.A. s.c.	0.05 c. c. E.G. i.v.	—	typical anaphylactic death.
128	id.	id.	—	idem
137	”	”	—	”
130	”	0.03 c. c. E.G. i.v.	—	marked anaphylactic sympt.; recovered.
138	”	0.025 c. c. E.G. i.v.	—	slight symptoms.
141	”	0.5 c. c. E.A. i.v.	—	typical anaphylactic death.
142	”	id.	—	idem
133	”	0.05 c. c. ¹⁾ E.A. s.c.	0.05 c. c. E.G. i.v.	very sick; no convulsions; recovered.
136	”	id.	id.	slightly sick.
132	”	”	”	convulsions; dead after one hour.
135	”	”	0.075 c. c. E.G. i.v.	typical anaphylactic death.

Analysis.

With guinea-pigs No. 131, 128, 137, 130 and 138, it was shown that the minimal lethal quantity of egg-globulin for the animals of this series on the 20th day after the primary or sensitizing injection was 0.05 c. c. of our egg-globulin preparation. With guinea-pigs No. 141 and 142, it was shown that the same series were sensitized also to egg-albumen. With guinea-pigs No. 133, 136 and 132, it was shown that after these animals had been made anti-anaphylactic to egg-albumen, the minimal lethal quantity of the egg-globulin, as determined with the first five animals of the series, was not always sufficient to kill them. Finally with guinea-pig No. 135, it was shown that after these animals were made anti-anaphylactic to egg-albumen they were still highly hypersensitive to egg-globulin. In short, by rendering the doubly sensitized animals specifically anti-anaphylactic to one antigen, we had slightly increased the minimal lethal dose of the other antigen.

The experiments of Wells and of Friedberger and Szymanowski, Kumagai and Odaira²⁾ as well as those that we have just described illustrate a non-specific and also a specific interference with the anaphylactic reaction. The intermediate injection of heterologous proteids causes a

1) In many series of experiments 0.05 c. c. of the egg albumen preparation has never failed to render actively sensitized guinea-pigs “anti-anaphylactic” to that proteid.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912.

non-specific interference with the reaction, whereas the injection of the homologous proteid interferes specifically with the production of the anaphylactic shock. The non-specific interference merely increases slightly the minimal lethal dose of the proteid that was used for the sensitization; the specific interference results in a complete abolishment of the hypersensitiveness.

It was not our purpose to investigate the mechanism of the non-specific interference with the anaphylactic reaction; the purpose of our experiments was to investigate further the nature of specific "anti-anaphylaxis".

If, as is postulated by the theory of Besredka-Friedberger, specific anti-anaphylaxis is produced by a neutralization of the "anaphylactic antibodies", it should be possible, immediately after an animal has been made specifically anti-anaphylactic, to resensitize it to the same antigen by passively restoring the sensitizing antibodies.

Our experiments, which follow, show, in fact, that passive resensitization is possible in antianaphylactic animals that have been primarily sensitized either by the active or by the passive method; they indicate, also, that the sensitized animals, in being rendered anti-anaphylactic, are not affected by that process in such a manner as specifically to interfere with the passive restoration of a hypersensitiveness to the same proteid.

A preliminary experiment with horse-serum seemed to show that it is possible passively to resensitize an animal that recently has been made anti-anaphylactic to the same antigen. However, since horse-serum represents a mixture of several antigenic bodies, we could not be certain that the "resensitization" was made against the identical antigen against which the animal had been primarily sensitized. In order, therefore, to obviate this objection, we have used, for the subsequent experiments, the isolated crystalline albumen of the hen's egg.

Anti-anaphylaxis after active sensitization.

In resensitizing actively sensitized guinea-pigs after they have been made specifically anti-anaphylactic, three modes of passive sensitization have been employed; that is, the serum that

was used for the purpose was obtained, first from an immunized animal of a foreign species; secondly, from an immunized animal of the same species, and thirdly, from an actively sensitized animal of the same species.

In the experiment shown in Table III the serum used for the resensitization was obtained from an immunized rabbit.

Table III.

Resensitization with immune rabbit's serum in anti-anaphylactic guinea-pigs that primarily had been actively sensitized.

Normal guinea-pig	Sept. 27	Oct. 11	Oct. 12	Oct. 14	Result
237	0.1 c. c. E.A. s.c.	0.4 c. c. E.A. i.v.	—	—	typical anaphylactic death.
209	id.	0.05 c. c. E.A. s.c.	4.0 c. c. E.A. i.v.	—	twitchings; not sick.
228	"	id.	0.2 c. c. serum No. 513 ¹⁾ , i.p.	0.8 c. c. E.A. i.v.	typical anaphylactic death.
207	"	"	0.3 c. c. serum No. 513, i.p.	id.	very sick at once; dead after 1/3 hour.
218	"	"	0.4 c. c. serum No. 513, i.p.	"	typical anaphylactic death.
240	"	"	0.6 c. c. serum No. 513, i.p.	"	id.
300	—	—	0.15 c. c. serum No. 513, i.p.	"	"
302	—	—	0.2 c. c. serum No. 513, i.p.	"	"
303	—	—	0.3 c. c. serum No. 513, i.p.	"	"

Analysis.

On Sept. 27th guinea-pigs No. 237, 209, 228, 207, 218 and 240 received each 0.1 c. c. of the egg-albumen preparation by subcutaneous injection. Two weeks later they were found to be actively sensitized — guinea-pig No. 237. The remaining guinea-pigs were then rendered anti-anaphylactic by the subcutaneous injection of 0.05 c. c. of the egg-albumen solution, the lost hypersensitiveness being demonstrated on the following day — guinea-pig No. 209. Guinea-pig No. 228, 207, 218 and 240 then received different amount of the serum of rabbit No. 513 which had been immunized against egg-albumen with repeated large injections of egg-white. On the day following these last injections all of the animals were found to have been resensitized.

1) Serum No. 513 was obtained on Oct. 12 from a rabbit that had received six intraperitoneal injections of the white of hen's egg, four of 1 c. c. and the last two of 7 c. c. each. The last injection had been given on Oct. 1.

The attempt to determine the minimal sensitizing quantity of serum No. 513 for normal guinea-pigs — guinea-pigs No. 300, 302 and 303.— and for the anti-anaphylactic guinea-pigs failed, since the sensitizing strength of the serum was much greater than was anticipated.

In the experiment shown in Table IV the serum used for the resensitization was obtained from immunized guinea-pigs.

Table IV.

Resensitization with immune guinea-pig's serum in anti-anaphylactic guinea-pigs that primarily had been actively sensitized.

Normal guinea-pig	May 11 to June 12	June 18	June 20	June 21	Result
780	{ 0.4—0.7 c. c. E.A. 4 times i.p. }	—	bled to death.	—	—
869		—	idem	—	—
249	—	—	0.1 c. c. mixed sera 780 a. 869 i.p.	0.5 c. c. E.A. i.v	convulsions; recovered.
252	—	—	idem	id.	no symptoms.
251	—	—	0.2 c. c. id.	"	typical anaphylactic death.
253	—	—	idem	"	idem
254	—	—	0.4 c. c. id.	"	"
	May 29				
225	0.05 c. c. E.A. s.c.	0.5 c. c. E.A. s.c.	0.1 " "	"	no symptoms.
226	idem	idem	0.2 " "	"	"
227	"	"	0.4 " "	"	" typical " anaphylactic death.
229	"	"	0.6 " "	"	idem

Analysis.

Within a period of one month, guinea-pigs No. 780 and 869 had received four injections of from 0.4 c. c. to 0.7 c. c. of the egg-albumen preparation. Eight days after the last injection both animals were bled to death and the mixed serum was tested upon normal guinea-pigs No. 249, 252, 251, 253 and 254 as to its sensitizing strength. It was found that 0.2 c. c. was the minimal sensitizing dose of the mixed serum. On May 29th, guinea-pigs No. 225, 226, 227 and 229 received, for the purpose of active sensitization, 0.05 c. c. of the egg-albumen solution. Twenty days later they were rendered anti-anaphylactic by the subcutaneous injection of 0.05 c. c. of the same solution. After another interval of 48 hours, the minimal sensitizing dose of the mixed serum of the immunized guinea-pigs No. 780 and 869 was determined for these anti-anaphylactic animals, and was found to be greater than the dose for normal animals, i. e., 0.4 c. c. instead of 0.2 c. c.

In the experiment shown in Table V the serum used for the resensitization was obtained from actively sensitized guinea-pigs.

Table V.

Resensitization with sensitized guinea-pig's serum in anti-anaphylactic guinea-pigs that primarily had been actively sensitized.

Normal guinea pig	First day	24th day	26th day	27th day	Result
119	0.5 c. c. E.A. s.c.	0.5 c. c. E.A. i.v.	—	—	typical anaphylactic death.
122	idem	idem	—	—	idem
825	"	"	—	—	"
846	"	0.05 " c. c. E.A. s.c.	2.0 c. c. E.A. i.v.	—	twitchings; not sick.
861	"	idem	idem	—	no symptoms.
849	"	—	bled to death.	—	—
865	"	—	idem	—	—
827	"	0.05 c. c. E.A. s.c.	4.5 c. c. mixed sera 849 and 865 i.p.	2.0 c. c. E.A. i.v.	typical anaphylactic death.
832	"	idem	5.0 c. c. serum 849, i.p.	idem	idem
862	"	"	4.5 c. c. normal guinea-pig serum i.p.	"	no symptoms.

Analysis.

All the animals of this series received a primary sensitizing injection of 0.05 c. c. of the egg-albumen preparation and 24 days later were shown to be actively sensitized, — guinea-pigs 119, 122 and 825. On the 24th day guinea-pigs 846, 861, 827, 832 and 862 were made anti-anaphylactic in the usual manner, the lost hypersensitiveness being demonstrated two days later (26th day) in guinea-pigs 846 and 861. On the 26th day the actively sensitized guinea-pigs mixed 849 and 865 were bled to death and their serum injected into the anti-anaphylactic guinea-pigs 827 and 832. After another interval of 24 hours, both of these animals were shown to have been resensitized. The injection of 4.5 c. c. of normal guinea-pig's serum into guinea-pig 862, after this animal had been made anti-anaphylactic to egg-albumen, failed to restore the condition of hypersensitiveness.

Anti-anaphylaxis after passive sensitization.

In Table VI are given the results of an experiment in which guinea-pigs that had been rendered anti-anaphylactic after passive sensitization with the serum of an immunized rabbit, were resensitized with the serum of the same immunized rabbit.

Table VI.

Resensitization with immune rabbit's serum in anti-anaphylactic guinea-pigs that primarily had been passively sensitized with the same immune rabbit's serum.

Normal guinea-pig	May 11	May 13	May 14	May 15	May 16	Result
146	0.3 c.c. ser. 965 ¹⁾ i.p.	—	—	1.0 c. c. E.A. i.v.	—	typical anaphylactic death.
155	idem	0.05 c. c. E.A. s.c.	0.5 c.c. ser. 965 i.p.	2.0 c. c. E.A. i.v.	—	no symptoms.
156	„	idem	idem	0.5 c. c. E.A. i.v.	—	idem
158	„	„	1.0 c.c. ser. 965 i.p.	1.0 c. c. E.A. i.v.	—	typical anaphylactic death.
160	„	„	idem	1.0 c. c. E.A. i.v.	—	idem
161	—	—	—	0.3 c.c. ser. 965 i.p.	0.5 c. c. E.A. i.v.	slight symptoms.
162	—	—	—	0.5 c.c. ser. 965 i.p.	idem	very sick; recovered.

Analysis.

Guinea-pigs 146, 155, 156, 158 and 160 were passively sensitized to egg-albumen by the intraperitoneal injection of 0.3 c. c. of the serum of rabbit 965, which had been immunized against egg albumen. The success of this primary sensitization was demonstrated four days later — guinea-pig 146. Two days after the primary sensitization the remaining four animals were made anti-anaphylactic in the usual manner and after another interval of 24 hours they received injections of different quantities of serum 965, which meanwhile had been kept in the ice-box. On the following day the two animals that had received the larger reinjection of the immune rabbit's serum were found to have been resensitized — guinea-pigs 158 and 160. In view of the fact that the serum No. 965 that was used for the injections of May 14 had been obtained one week previously, it was believed probable that its sensitizing power had diminished since May 11. It was, therefore, tested again on May 15. The result of that test is given in the table (guinea-pigs No. 161 and 162). Whereas, on May 11, 0.3 c. c. of the serum was sufficient fully to sensitize a normal guinea-pig, on May 15 the same degree of sensitization was not produced with nearly twice that quantity. It is evident, then, that the considerable increase in the amount of serum No. 965 required for the resensitization of the anti-anaphylactic animals (as compared with the minimal sensitizing dose for normal animals) was due, in part, to a deterioration of the sensitizing power of the serum.

In order to see whether the process, by which passively sensitized animals are rendered anti-anaphylactic, interferes speci-

1) Serum 965 was obtained on May 7th from rabbit No. 965.

fically with the replacement of the sensitizing substances of the immune serum, the following experiment was carried out. The minimal sensitizing quantity of the immune (rabbit's) serum was determined for passively sensitized guinea-pigs that had been rendered anti-anaphylactic, and also for control animals whose preliminary treatment differed from that of the anti-anaphylactic guinea-pigs only in the substitution of normal rabbit's serum for the immune rabbit's serum used for the primary sensitization. The results of this experiment are shown in Table VII.

Table VII.

Resensitization with immunized rabbit's serum in anti-anaphylactic guinea-pigs that primarily had been passively sensitized with the serum of a different immunized rabbit.

Normal guinea-pig	Sept. 16	Sept. 17	Sept. 18	Sept. 19	Resultat
242	—	0.1 c.c. ser. No. 3, i.p.	0.8 c. c. E.A. i.v.	—	very slight sym- ptoms.
256	—	0.3 c.c. ser. No. 3, i.p.	idem	—	typical anaphylac- tic death.
291	0.5 c. c. normal rabbit's ser. i.p.	0.05 c. c. E.A. s.c.	0.2 c.c. ser. No. 3, i.p.	0.8 c. c. E.A. i.v.	no symptoms.
292	idem	idem	0.3 c.c. ser. No. 3, i.p.	idem	sick; recovered.
293	"	"	idem	"	idem
294	"	"	0.4 c.c. ser. No. 3, i.p.	"	typical anaphylac- tic death.
295	"	"	idem	"	very sick; recovered
296	"	"	0.6 c.c. ser. No. 3, i.p.	"	typical anaphylac- tic death.
270	0.5 c. c. serum No. 4, ip.	0.8 c. c. E.A. s.c.	—	—	idem
271	idem	0.05 c. c. E.A. s.c.	1.5 c. c. E.A. i.v.	—	no symptoms.
278	"	idem	0.3 c.c. ser. No. 3, i.p.	0.8 c. c. E.A. i.v.	sick; recovered.
279	"	"	idem	idem	idem
280	"	"	0.4 c.c. ser. No. 3, i.p.	"	typical anaphylac- tic death.
281	"	"	idem	"	idem
282	"	"	0.6 c.c. ser. No. 3, i.p.	"	"

1) Rabbits No. 3 and 4 had received intraperitoneal injections of one cubic centimeter of the white of hen's egg on August 15th, 22nd and 30th, and on September 9th.

Analysis.

Guinea-pigs 270, 271, 278, 279, 280, 281 and 282 each received 0.5 c. c. of the serum of immunized rabbit No. 4 by intraperitoneal injection. At the same time the control animals No. 291, 292, 293, 294, 295 and 296 each received an equal amount of the serum of a normal rabbit by the same route. On the following day the guinea-pigs that had received the immune serum were shown to be sensitized to egg-albumen — guinea-pig No. 270 — and the remaining animals of that group as well as all of the animals of the control group then received 0.05 c. c. of the egg-albumen preparation by subcutaneous injection. After a second interval of 24 hours, the sensitized animals were shown to have become anti-anaphylactic to the egg-albumen — guinea-pig No. 271 — and the remaining animals of both groups were then given different quantities of the serum of immunized rabbit No. 3 by intraperitoneal injection. By a preliminary test 0.3 c. c. of serum No. 3 had been found to be sufficient passively to sensitize normal guinea-pigs — guinea-pigs No. 242 and 256. The final test carried out after a third interval of 24 hours showed that the minimal sensitizing dose of the immune serum No. 3 was identical for the two groups of animals; that is, 0.4 c. c. which is slightly greater than the minimal sensitizing dose for untreated guinea-pigs.

This experiment shows, first, that by their previous treatment the control animals have been influenced in such a way as to make necessary for their passive sensitization a larger quantity of the immune serum than is required for the sensitization of untreated animals; and secondly, that for animals that recently have been rendered anti-anaphylactic after passive sensitization the sensitizing dose of the immune serum is also increased, but not more than it is for the control animals.

We are justified, therefore, in concluding that the process by which passively sensitized animals are rendered anti-anaphylactic does not interfere specifically with the subsequent passive restoration of hypersensitiveness to the same proteid.

Having found that in the condition of anti-anaphylaxis after both forms of sensitization it was necessary, in order to resensitize the animals, only to introduce into them the minimal sensitizing amount of the specific antibodies, we are forced to the conclusion that the condition of specific "anti-anaphylaxis" is due solely to a neutralization of the "anaphylactic antibodies".

We have already referred to the observations of Otto and of Gay and Southard that the blood of "refractory" animals contains substances capable of passively sensitizing other animals. The observation would seem to contradict the assumption that the condition of anti-anaphylaxis, in which animals have become "refractory" to injections of the proteid against which they were sensitized, is due to a neutralization of the sensitizing antibodies.

The difficulty presented by this observation is, however, only an apparent one and it is dissipated by an analysis of the protocols of the experiments referred to. It appears, namely, that both Otto, and Gay and Southard used, as "refractory" animals, not sensitized animals that recently had been rendered anti-anaphylactic, but animals that had been immunized with repeated injections. It is hardly necessary to point out that those experiments did not throw any light on the nature of anti-anaphylaxis in the sense in which we have used that term.

As a matter of fact, it has been shown by Rosenau and Anderson¹⁾ and by Anderson and Frost²⁾ that for several days after actively sensitized guinea-pigs have been made anti-anaphylactic their blood does not contain substances capable of passively sensitizing other guinea-pigs.

In one experiment, in which actively sensitized guinea-pigs were made anti-anaphylactic with a very small subcutaneous injection (0.1 c. c.) of the proteid (egg-albumen), we were able to confirm these observations. According to this experiment, whereas, after an interval of 18 days following the primary sensitizing injection, the passive transference of the hypersensitiveness was completely successful in three out of six animals, the same method of transference from animals of the same series that had been rendered specifically "anti-anaphylactic" resulted in a partial sensitization in only one out of six animals. While we are not in a position to

1) Bulletin No. 45. Hygienic Laboratory, U. S. Publ. Health and Marine Hosp. Service, Washington, June 1908, p. 65.

2) Bulletin No. 64. Hyg. Lab., U. S. Publ. Health and Mar. Hosp. Serv., June 1910. Table 17.

offer an explanation for the result of the experiment in this one animal, we believe that the experiment, as a whole, lends support to the assumption that the state of specific "anti-anaphylaxis" is due to a lack of the necessary immune substances.

Since it has been shown that "anti-anaphylaxis" is due to a neutralization of the "anaphylactic antibodies", the term by which the condition has been known must be recognized as an inappropriate designation.

An accurate name for the condition has already been suggested by Besredka; namely, a condition of "desensitization".

Zusammenfassung.

1) Durch quantitative Experimente wird gezeigt, daß die „Antianaphylaxie“, in Uebereinstimmung mit Rosenau und Anderson, Wells, Friedberger und Szymanowski, streng spezifisch ist.

2) Meerschweinchen, welche entweder nach aktiver oder passiver Sensibilisation „antianaphylaktisch“ gemacht worden sind, können mit voller Sicherheit sofort passiv resensibilisiert werden; und zwar gelingt dies mit allen Methoden, die zur passiven Sensibilisation erforderlich sind.

3) Um „antianaphylaktische“ Meerschweinchen zu resensibilisieren, braucht man genau dieselbe Menge des Antiserums, welche nötig gefunden wurde, um die Kontrolltiere primär zu sensibilisieren.

4) Es wird gefolgert, daß die „Antianaphylaxie“ ausschließlich durch die Neutralisation der spezifischen Antikörper bedingt ist; und, da die „antianaphylaktischen“ Tiere sich gegen die passive Resensibilisation quantitativ genau wie die Kontrolltiere verhalten, daß irgendwelche andere Faktoren (Komplementverbrauch, „Umstimmung“) keine Rolle spielen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem dänischen Staats-Seruminstitut zu Kopenhagen.]

Das Verhalten des Kaninchenserums zu der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. O. v. Hellens,

Dozenten der Hygiene an der Universität Helsingfors.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Dezember 1912.)

In einem kürzlich veröffentlichten Aufsätze gibt Halberstädter¹⁾ an, daß, den Ergebnissen seiner Untersuchungen zufolge, Kaninchensera, bei Anwendung eines alkoholischen Extraktes von syphilitischer Leber als Antigen, im aktiven Zustande in der Regel keine Wassermannsche Reaktion, nach Inaktivierung dagegen gewöhnlich eine ausgesprochene positive geben. Die gleiche Beobachtung ist schon früher von Hessberg²⁾ sowie von Browning und M'Kenzie³⁾ erwähnt worden, indes verschiedene Forscher, wie Michaelis⁴⁾, Fleischmann⁵⁾, Landsteiner und Müller⁶⁾, Blumenthal⁷⁾, Friedemann⁸⁾ u. a. die Eigenschaft der Kaninchensera, im inaktivierten Zustande positive Wassermann-Reaktion zu geben, hervorgehoben haben.

Um das Verhalten des Kaninchenserums zu der genannten Reaktion näher zu studieren, habe ich im dänischen Staats-Seruminstitut zu Kopenhagen sowohl mit aktivem als auch mit während $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° C inaktiviertem Serum von 80 Kaninchen eine Reihe von Untersuchungen angestellt. Von zweien der Tiere wurden je zwei verschiedene Male mit zweitägiger Zwischenzeit Blutproben entnommen, so daß die Zahl der untersuchten Serumproben 82 betrug.

Die Versuche wurden stets an demselben Tage ausgeführt, an dem die betreffende Blutprobe entnommen worden war. Eine Ausnahme bildeten nur gewisse Versuche mit inaktiviertem Serum bei Anwendung eines alkoholischen Extraktes

-
- 1) Berliner klin. Wochenschr., 1912, p. 594.
 - 2) Biochem. Zeitschr., Bd. 20, 1909, p. 349.
 - 3) Journ. of Pathol. and Bact., Vol. 15, 1910, p. 127, 182.
 - 4) Berliner klin. Wochenschr., 1907, p. 1103.
 - 5) Berliner klin. Wochenschr., 1908, p. 490.
 - 6) Wiener klin. Wochenschr., 1908, p. 230.
 - 7) Berliner klin. Wochenschr., 1908, p. 618 und 1911, p. 1462.
 - 8) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 67, 1910, p. 279.

von syphilitischer Leber als Antigen, bei welchen Versuchen das inaktivierte Serum während einiger Tage im Eiskeller (+ 4° C) aufbewahrt blieb, ehe die Untersuchung vorgenommen wurde.

Bei den Untersuchungen habe ich das in dem genannten Institut übliche Verfahren befolgt, so wie dieses von O. Thomsen¹⁾ ausführlich beschrieben worden ist.

Das Resultat wurde kolorimetrisch vermittelt einer je von der betreffenden Blutkörperchenaufschwemmung bereiteten Skala abgelesen, auf welcher die Zahl 100 eine totale Hämolyse (100 Proz.), der Nullpunkt dagegen das vollständige Ausbleiben der Hämolyse anzeigte. Den im Seruminstitut gewonnenen Erfahrungen gemäß habe ich die Reaktion als positiv betrachtet, wenn der Grad der Hämolyse weniger als 70 Proz. betrug. Falls dagegen die die Hämolyse ausdrückende Prozentzahl 70 oder mehr betrug, so hat, der von mir befolgten Aufstellung gemäß, keine Reaktion stattgefunden.

Als eine mögliche Ursache dafür, daß aktive Kaninchensera keine positive Wassermann-Reaktion geben, während bei denselben Sera, wenn sie inaktiviert werden, die genannte Reaktion eintritt, nehmen Browning und M'Kenzie²⁾ das im Kaninchenserum enthaltene Komplement an, welches etwa genügen könnte, um eine Hämolyse herbeizuführen. Um in Erfahrung zu bringen, ob dies tatsächlich der Fall ist, habe ich für jede einzelne Serumprobe durch genaues Titrieren besonders festgestellt, welcher Quantität des bei den resp. Versuchen benutzten Meerschweinchenkomplementes die in 0,1 ccm des betreffenden aktiven Kaninchenserums vorhandene Komplementmenge entsprach. Mit jeder Probe von aktivem Serum habe ich alsdann Parallelversuche angestellt, sowohl mit Zusatz der ganzen, für jedes Mal durch Titration ermittelten Dosis des Meerschweinchenkomplements als auch mit Zusatz einer um so viel geringeren Dosis des letzteren, als, der vorhin erwähnten Vorprobe zufolge, der Gehalt des angegebenen Quantums des betreffenden Kaninchenserums an Komplement betrug. Bei Versuchen mit inaktiviertem Serum habe ich stets die volle Dosis Meerschweinchenkomplement angewandt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 7, 1910, p. 389.

2) l. c.

Sämtliche 82 Serumproben wurden sowohl im aktiven als auch im inaktivierten Zustande, unter Anwendung eines alkoholischen Extraktes von normalem Menschenherzen als Antigen, untersucht. Außerdem wurden 50 von ihnen in inaktiviertem und von diesen wiederum 30 auch im aktiven Zustande, unter Anwendung eines alkoholischen Extraktes von syphilitischer Leber als Antigen, geprüft.

Von den 32 sowohl im aktiven als im inaktivierten Zustande nur mit Herzextrakt als Antigen untersuchten Serumproben ergaben 29, unter 20 in inaktiviertem Zustande auch mit syphilitischem Leberextrakt als Antigen untersuchten Proben 5, und von den übrigen 30 im aktiven und im inaktivierten Zustande sowohl mit Herz- als auch mit Leberextrakt als Antigen untersuchten Proben 2 ein vollständiges Ausbleiben der Wassermannschen Reaktion.

Die auf die übrigen 46 Proben bezüglichen Versuchsergebnisse habe ich in den Tabellen I—III zusammengestellt, welche die bei je einer der oben angeführten 3 Versuchsgruppen erhaltenen positiven Resultate umfassen. In diesen Tabellen zeigt 0 an, daß keine Wassermann-Reaktion eingetreten ist (100—70 Proz. Hämolyse), + (= 70—50 Proz. Hämolyse)

Tabelle I.

No. des Versuches	Serum-dosis	Alkoholischer Herzextrakt als Antigen			Bemerkungen
		Aktives Serum		Inaktiviertes Serum	
		Berechnete Dosis Komplement	Volle Dosis Komplement		
5	0,25	=	=	0	Serum von demselben Kaninchen wie im Versuch No. 20, Tab. II.
	0,1	++	0	+	
	0,05	+++	=	0	
	0,025	0	=	0	
8	0,25	=	=	+	Serum von demselben Kaninchen wie im Versuch No. 21, Tab. II.
	0,1	0	0	++	
	0,05	0	=	++	
	0,025	+++	=	0	
15	0,25	=	=	0	
	0,1	+++	0	0	
	0,05	0	0	0	
	0,025	0	0	0	

Tabelle II.

Serumdosis	No. des Versuches			Alkoholischer Herz-extrakt als Antigen			Alkoholischer Fxtrakt von sypthilitischer Leber als Antigen.			No. des Versuches			Alkoholischer Herz-extrakt als Antigen			Alkoholischer Fxtrakt von sypthilitischer Leber als Antigen.			No. des Versuches			
	Berechnete Dosis	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum	Komplement	Volle Dosis	Inaktiviertes Serum
0,25	++			0			0			0			0			0			0			0
0,1	0			+			+			+			+			+			+			+
0,05	0			+			+			+			+			+			+			+
0,025	0			+			+			+			+			+			+			+
0,25	0			+			+			+			+			+			+			+
0,1	0			+			+			+			+			+			+			+
0,05	0			+			+			+			+			+			+			+
0,025	0			+			+			+			+			+			+			+
0,25	0			+			+			+			+			+			+			+
0,1	0			+			+			+			+			+			+			+
0,05	0			+			+			+			+			+			+			+
0,025	0			+			+			+			+			+			+			+
0,25	0			+			+			+			+			+			+			+
0,1	0			+			+			+			+			+			+			+
0,05	0			+			+			+			+			+			+			+
0,025	0			+			+			+			+			+			+			+

Tabelle III.

No. des Versuches	Serum-dosis	Alkoholischer Herzextrakt als Antigen			Alkoholischer Extrakt von syphilitischer Leber als Antigen		
		Aktives Serum		In-aktiviertes Serum	Aktives Serum		In-aktiviertes Serum
		Be-rechnete Dosis Kompl.	Volle Dosis Kom-plement		Be-rechnete Dosis Kompl.	Volle Dosis Kom-plement	
53	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	+	++	+
	0,025	0	0	0	+++	++	0
54	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	+++
	0,05	0	0	0	+++	++	+++
	0,025	0	0	0	+++	+++	+++
55	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	0	0	++
	0,025	0	0	0	+++	++	++
56	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	0	0	++
	0,025	0	0	0	++	0	0
57	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	++
	0,05	0	0	0	++	++	+++
	0,025	0	0	0	+++	+++	++
58	0,25	=	=	0	=	=	++
	0,1	0	0	++	0	0	+++
	0,05	0	0	++	0	0	+++
	0,025	0	0	0	+++	+++	+++
59	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	+++
	0,05	0	0	0	0	0	+++
	0,025	0	0	0	+++	+++	+++
61	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	0	0	0
	0,025	0	0	0	+++	++	++
62	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	0	0	+
	0,025	0	0	0	+	+	++
63	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	+++
	0,05	0	0	0	+	0	+++
	0,025	+	0	0	+++	+++	+++

Verhalten des Kaninchens. zu der Wassermanschen Reaktion. 161

No. des Versuches	Serum-dosis	Alkoholischer Herzextrakt als Antigen			Alkoholischer Extrakt von syphilitischer Leber als Antigen		
		Aktives Serum		In-aktiviertes Serum	Aktives Serum		In-aktiviertes Serum
		Be-rechnete Dosis Kompl.	Volle Dosis Kom-plement		Be-rechnete Dosis Kompl.	Volle Dosis Kom-plement	
64	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	+++	0	0	0	0	+++
	0,05	++	0	0	0	0	+++
	0,025	0	0	0	++	++	++
65	0,25	=	=	0	=	=	++
	0,1	0	0	0	0	0	+++
	0,05	0	0	0	++	0	+++
	0,025	+	0	0	++	+++	++
66	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	0	0	0
	0,025	0	0	0	++	0	0
67	0,25	=	=	0	=	=	++
	0,1	0	0	+	0	0	+++
	0,05	0	0	0	++	0	+++
	0,025	0	0	0	+++	++	+++
68	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	++
	0,05	0	0	0	++	0	++
	0,025	0	0	0	+++	+++	++
69	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	++	0	0
	0,025	0	0	0	++	+	+
70	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	+	0	0
	0,025	0	0	0	++	0	0
71	0,25	=	=	++	=	=	++
	0,1	0	0	0	0	0	+++
	0,05	0	0	0	0	0	++
	0,025	0	0	0	0	0	0
72	0,25	=	=	++	=	=	++
	0,1	0	0	++	0	0	+++
	0,05	0	0	++	+	0	0
	0,025	++	0	0	0	0	0
73	0,25	=	=	++	=	=	++
	0,1	0	0	++	0	0	+++
	0,05	0	0	++	0	0	0
	0,025	++	0	0	0	0	0
75	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	++
	0,05	0	0	0	0	0	0
	0,025	0	0	0	0	0	0

No. des Versuches	Serum-dosis	Alkoholischer Herzextrakt als Antigen			Alkoholischer Extrakt von syphilitischer Leber als Antigen		
		Aktives Serum		In-aktiviertes Serum	Aktives Serum		In-aktiviertes Serum
		Be-rechnete Dosis Kompl.	Volle Dosis Kom-plement		Be-rechnete Dosis Kompl.	Volle Dosis Kom-plement	
76	0,25	=	=	++	=	=	++
	0,1	0	0	++	0	0	+++
	0,05	0	0	0	++	0	+++
	0,025	0	0	0	0	0	0
77	0,25	=	=	0	=	=	++
	0,1	0	0	++	0	0	+++
	0,05	0	0	0	0	0	++
	0,025	0	0	0	0	0	0
78	0,25	=	=	0	=	=	+++
	0,1	0	0	0	++	0	+++
	0,05	0	0	0	+	0	0
	0,025	++	0	0	0	0	0
79	0,25	=	=	0	=	=	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	0	++	+	0
	0,025	0	0	0	0	0	0
80	0,25	=	=	++	=	=	++
	0,1	0	0	+++	0	0	+++
	0,05	0	0	+++	++	++	++
	0,025	++	++	+++	0	0	0
81	0,25	=	=	++	=	=	+++
	0,1	0	0	+++	0	0	+++
	0,05	0	0	+++	+++	+++	++
	0,025	+++	++	++	0	0	0
82	0,25	=	=	++	=	=	++
	0,1	0	0	0	0	0	++
	0,05	0	0	0	++	+	++
	0,025	0	0	0	0	0	0

bezeichnet eine schwache, ++ (= 50—20 Proz. Hämolyse) eine mittelstarke, +++ (= 20—0 Proz. Hämolyse) eine starke positive Reaktion, und =, daß mit der betreffenden Serumdosis kein Versuch stattgefunden hat. „Volle Dosis Komplement“ ist die für jedesmal durch Titrieren ermittelte kleinste lösende Dosis Meerschweinchenkomplement und „Berechnete Dosis Komplement“ eine um so viel geringere Dosis Meerschweinchenkomplement als, der vorhin erwähnten Vorprobe zufolge, der Gehalt des angegebenen Quantum des betreffenden Kaninchen-serums an Komplement betrug.

Die Anzahl der bei den verschiedenen Versuchsserien beobachteten Reaktionen ergibt sich aus der Tabelle IV. Unter die Rubrik starke positive Reaktion habe ich hier diejenigen Serumproben zusammengeführt, von denen wenigstens eine der angewandten Dosen eine starke positive Reaktion ergeben hat, unter die Rubrik mittelstarke positive Reaktion wiederum diejenigen Proben, welche wenigstens in irgend einer Dosis eine mittelstarke, dagegen in keiner Dosis eine starke Reaktion ergaben; endlich fallen unter die Rubrik schwach positive Reaktion alle übrigen, positiv reagierenden Proben.

Tabelle IV.

Reaktion	Alkoholischer Herzextrakt als Antigen			Alkoholischer Extrakt von syphilitischer Leber als Antigen		
	Aktives Serum		Inaktiviertes Serum	Aktives Serum		Inaktiviertes Serum
	Berechnete DosisKomplement	Volle DosisKomplement		Berechnete DosisKomplement	Volle DosisKomplement	
Starke positive	6	—	2	11	8	24
Mittelstarke positive	7	2	8	11	6	15
Schwache positive	2	—	2	2	4	1
Summe	15	2	12	24	18	40
Keine	67	80	70	6	12	10
Summe der Proben	82	82	82	30	30	50

Wie aus den Tabellen I—III hervorgeht, haben 46 — also über 50 Proz. — der untersuchten Serumproben entweder im aktiven oder im inaktivierten Zustande bei Versuchen mit dem einen oder anderen der von mir angewandten Antigene eine mehr oder weniger starke positive Wassermann-Reaktion ergeben. Indessen bieten diese Reaktionen durchaus nicht die gleiche Regelmäßigkeit dar wie die bei Syphilis zu beobachtenden Reaktionen. So hat z. B. nach Thomsen und Bjarnehjerson¹⁾ die im Staats-Seruminstitut zu Kopenhagen auf Grund von ca. 6000 Reaktionen gewonnene Erfahrung gelehrt, daß die Intensität der Reaktion bei Syphilis stets, bei Anwendung inaktivierten Serums und alkoholischen Herzextrakts, der angewandten Serummenge proportional ist. Bei den hier

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 7, 1910, p. 414.

in Rede stehenden Versuchen dagegen wurde sehr oft, sowohl bei aktivem als auch bei inaktiviertem Serum, mit einer kleineren Serumdosis eine ebenso starke oder stärkere Reaktion erzielt als mit einer größeren Dosis. Nur in einzelnen Fällen trat das entgegengesetzte Verhältnis ein.

Bei Versuchen mit inaktiviertem Serum machte sich das eigentümliche Verhalten geltend, daß mit 0,1 ccm oder einer noch geringeren Dosis Serum eine stärkere Reaktion eintrat als mit 0,25 ccm. Unter 40 mit Leberextrakt als Antigen positiv reagierenden inaktivierten Serumproben ergaben 23 bei Anwendung von 0,25 ccm Serum keine Reaktion, und in 12 von den übrigen 17 Fällen war die Reaktion bei Anwendung einer kleineren Serumdosis stärker als mit 0,25 ccm. Nur in einem von diesen 40 Fällen wurde mit 0,25 ccm Serum positive Reaktion erhalten, indes die anderen versuchten Serumdosen negatives Resultat ergaben. In 4 Fällen endlich war die Reaktion mit 0,25 ccm Serum ebenso stark, wie mit 0,1 ccm.

Auch bei Anwendung von Herzextrakt als Antigen trat, wenngleich weniger regelmäßig, dieselbe Eigentümlichkeit hervor. Die Ursache dieses Verhaltens habe ich nicht näher ermittelt.

Ein ähnliches Verhalten haben Madsen und Walbum¹⁾ bei Hämolyseversuchen mit Saponin beobachtet, indem kleinere Dosen manchmal stärker hämolysierend wirkten als größere.

Ein konstanter Unterschied zwischen der Intensität der Reaktion bei Versuchen mit aktivem und mit inaktiviertem Serum hat sich nicht feststellen lassen. In einem Teil der Fälle war die Reaktion bei Versuchen mit aktivem Serum stärker oder die positive Reaktion trat hier bei Anwendung einer kleineren Serumdosis ein als bei Versuchen mit inaktiviertem Serum; indessen war ungefähr ebenso oft das Gegenteil der Fall, und in verschiedenen Fällen konnte kein nennenswerter Unterschied bemerkt werden. Auch in dieser Beziehung unterscheidet sich die bei diesen Versuchen beobachtete Reaktion entschieden von der bei Syphilis auftretenden Wassermannschen Reaktion, denn bei dieser Krankheit wird ja, wie

1) Overs. over det Kgl. Danske Vidensk. Selskabs Forhandl., 1905, No. 1.

Sachs und Altmann¹⁾, Boas²⁾ u. a. nachgewiesen haben, mit aktivem Serum in der Regel eine stärkere und feinere positive Reaktion erhalten als mit inaktiviertem.

Eine eingehendere Prüfung der obigen Tabellen läßt erkennen, daß, bei Anwendung der beiden verschiedenen Antigenarten, voneinander sehr abweichende Resultate entstanden sind, während doch bei den in demselben Institut mit diesen Antigenen in bezug auf Syphilis angestellten Versuchen untereinander völlig übereinstimmende Resultate sich ergeben haben.

Die Einwirkung der beiden Antigenarten in den verschiedenen Versuchsserien geht aus der Tabelle V hervor, welche die Resultate sämtlicher Versuche umfaßt, bei denen die Serumproben mit beiden Antigenen untersucht worden sind.

Tabelle V.

Reaktion	Alkoholischer Herzextrakt als Antigen			Alkoholischer Extrakt von syphilitischer Leber als Antigen		
	Aktives Serum		Inaktiviertes Serum	Aktives Serum		Inaktiviertes Serum
	Berechnete Dosis Komplement	Volle Dosis Komplement		Berechnete Dosis Komplement	Volle Dosis Komplement	
Starke positive	2	—	2	11	8	24
Mittelstarke positive	4	2	7	11	6	15
Schwache positive	2	—	1	2	4	1
Summe	8	2	10	24	18	40
Keine	22	28	40	6	12	10
Summe der Proben	30	30	50	30	30	50

Sowohl aktives als auch inaktiviertes Serum ergab, wie aus der Tabelle V ersichtlich ist, bei Anwendung eines alkoholischen Extraktes von syphilitischer Leber als Antigen bedeutend öfter positive Reaktion als bei Anwendung eines Extraktes von normalem menschlichen Herzen. Von 50 untersuchten inaktivierten Serumproben reagierten dementsprechend mit Herzextrakt als Antigen nur 20 Proz. positiv, während,

1) Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 699.

2) Ibid., 1909, p. 400.

bei Anwendung syphilitischen Leberextraktes als Antigen, 80 Proz. derselben Serumproben positive Reaktion gaben. Auch in bezug auf die Stärke der Reaktion war ein deutlicher Unterschied zu konstatieren, indem, bei Anwendung des Herzextraktes, nur in 2 Fällen (= 20 Proz. der positiven Reaktionen) eine starke Reaktion eintrat, indes eine solche, bei Anwendung des syphilitischen Leberextraktes, in 24 Fällen (= 60 Proz. der positiv reagierenden Proben) zustande kam.

Ungefähr entsprechende Resultate — positive Reaktion in 27 bzw. 80 Proz. der Fälle — wurden bei Untersuchung von 30 aktiven Serumproben erzielt, wenn nur die berechnete Dosis Komplement zugefügt wurde. Beim Zusatz der vollen Komplementdosis wurde der Unterschied noch größer, indem nämlich hierbei ca. 7 bzw. 60 Proz. der untersuchten Serumproben positive Reaktion ergaben.

Sämtliche Serumproben, welche im inaktivierten Zustande mit Herzextrakt als Antigen positiv reagierten, haben dies auch mit Leberextrakt-Antigen getan. Im aktiven Zustande wiederum ergab eine Serumprobe, bei Zusatz der berechneten Komplementdosis, mit Herzextrakt als Antigen positive, mit Leberextrakt dagegen keine Reaktion, während in 17 Fällen das entgegengesetzte Verhalten konstatiert werden konnte.

Auch aus diesen Versuchsergebnissen ergibt sich ein wesentlicher Unterschied zwischen der bei Untersuchung von Kaninchensera zu erzielenden Reaktion und der bei Syphilis auftretenden Wassermannschen Reaktion, indem bei dieser Krankheit mit den von mir angewandten Antigenen, wie bereits erwähnt, untereinander völlig übereinstimmende Resultate erhalten worden sind.

Von 82 mit Herzextrakt als Antigen untersuchten Serumproben gaben im inaktivierten Zustande 12, entsprechend ca. 15 Proz., im aktiven Zustande wiederum, bei Zusatz der berechneten Menge des Komplementes, 15 (= ca. 18 Proz.), und bei Zusatz der vollen Dosis des Komplementes 2 (= ca. 2 Proz.) positive Reaktion. Nur 6 von diesen Proben jedoch reagierten sowohl im inaktivierten als auch im aktiven Zustande positiv.

Bei Untersuchung von 30 Serumproben mit syphilitischem Leberextrakt als Antigen wurde wiederum bei Anwendung inaktivierten Serums in 25 Fällen (= ca. 83 Proz.) positive

Reaktion erhalten. Bei Anwendung aktiven Serums trat bei Zusatz der berechneten Dosis des Komplementes in 24 Fällen (= 80 Proz.) und bei Zusatz der vollen Dosis Komplement in 18 Fällen (= 60 Proz.) positive Reaktion ein. Auch hierbei reagierte das Serum nicht immer gleichzeitig im inaktivierten und im aktiven Zustande positiv, indessen geschah dies bei den letzterwähnten Versuchen bedeutend häufiger, nämlich in 21 Fällen.

Positive Reaktion trat somit, wie aus den soeben mitgeteilten Zahlen hervorgeht, bei Anwendung inaktivierten Serums nahezu ebenso oft ein wie bei Anwendung aktiven Serums mit Zusatz nur der berechneten Dosis des Komplementes. Es erscheint infolgedessen höchstwahrscheinlich, daß die von anderen Autoren beobachtete große Verschiedenheit in bezug auf das Eintreten positiver Wassermannscher Reaktion in aktiven und in inaktivierten Kaninchensera auf der Einwirkung des im Kaninchenserum befindlichen Komplementes beruht. Gegen diese Annahme spricht zwar scheinbar der Umstand, daß auch bei Zusatz der vollen Dosis des Komplementes, wenn syphilitischer Leberextrakt als Antigen benutzt wurde, verhältnismäßig häufig positive Reaktion zustande kam. Aus meinen Versuchsprotokollen geht indessen hervor, daß in 14 von diesen 18 positiv reagierenden Fällen die Reaktion bei Zusatz nur der berechneten Komplementdosis stärker war als bei Zusatz der vollen Dosis, während das umgekehrte Verhalten nur in einem Falle beobachtet wurde. Auch dieser Umstand spricht ja gewissermaßen für die Annahme, daß das im Kaninchenserum befindliche Komplement auf die Stärke der Reaktion einen Einfluß ausübt.

Von 2 Kaninchen wurden je zweimal, mit 2-tägiger Zwischenzeit, Blutproben entnommen. Die Untersuchung der je von ein und demselben Kaninchen stammenden verschiedenen Serumproben hat indessen, wie aus den Tabellen I und II hervorgeht, ganz verschiedene Resultate ergeben. Die erste Probe, welche nur mit Herzextrakt als Antigen untersucht wurde, ergab für beide Kaninchen in übereinstimmender Weise, sowohl im aktiven Zustande — bei Zusatz nur der berechneten Dosis des Komplementes — als auch im inaktivierten Zustande positive Reaktion, wobei jedoch in dem einen

Falle nur eine ganz schwache und in dem anderen nur eine mittelstarke Reaktion entstand. Die zweite Serumprobe dagegen ergab für beide Kaninchen bei Anwendung von Herzextrakt als Antigen ein vollständig negatives Resultat; allein dasselbe Serum reagierte in beiden Fällen bei Anwendung syphilitischen Leberextraktes als Antigen stark positiv. Dieses Verhalten bestätigt die von anderen Forschern schon früher gemachte Beobachtung, daß ein und dasselbe Kaninchen das eine Mal die Wassermannsche Reaktion geben kann, ein anderes Mal aber dieses nicht tut.

Zusammenfassung.

Aus meinen Versuchen geht hervor, daß Kaninchensera sowohl im aktiven wie im inaktivierten Zustande positive Wassermannsche Reaktion geben können. Wenn nicht die volle Dosis Komplement zugefügt wird, sondern diese Dosis mit Abzug der im Kaninchenserum vorhandenen Komplementmenge, so wird mit aktivem Serum etwa ebenso oft wie mit inaktiviertem positive Reaktion erzielt.

Ein konstanter Unterschied zwischen der Stärke der Reaktion bei Versuchen mit aktivem und mit inaktiviertem Serum hat nicht festgestellt werden können.

Die mit Kaninchenserum entstehende Wassermannsche Reaktion ist der angewandten Serummenge nicht proportional, sondern mit geringeren Serumdosen wird sehr oft eine stärkere Reaktion erzielt als mit größeren, auch wenn das Serum während $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° C erwärmt worden ist. Die Reaktion ist somit keine typische Wassermannsche Reaktion.

Die von verschiedenen Forschern gemachte Beobachtung, daß aktive Kaninchensera in der Regel keine positive Reaktion geben, beruht, soweit meine Versuche darüber ein Urteil erlauben, wahrscheinlich auf einer Einwirkung seitens des im Kaninchenserum vorhandenen Komplements.

Das Eintreten oder Ausbleiben der Reaktion bei Versuchen mit Kaninchensera ist in hohem Grade von der Natur des angewandten Antigens abhängig. Bei Anwendung eines alkoholischen Extraktes von syphilitischer Leber tritt viel häufiger eine positive Reaktion ein als bei Anwendung eines

ebensolchen Extraktes von normalem Menschenherzen, und zwar selbst wenn mit diesen Extrakten, bei Untersuchung von Sera syphilitischer Menschen, einander ganz gleiche Resultate erzielt werden.

Zum Schlusse spreche ich dem Direktor des Seruminstituts, Herrn Dr. Th. Madsen, für das lebhafte Interesse, welches er meiner Arbeit entgegengebracht hat, und für die wertvollen Ratschläge, die ich von ihm erhalten habe, meinen tiefempfundenen Dank aus.

Nachdruck verboten.

Weitere experimentelle Untersuchungen über Wesen und Ursprung der Hämagglutination; die Entstehung der Spezifität.

Von Dr. S. Bergel, Hohensalza.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Dezember 1912.)

In einer früheren Arbeit (diese Zeitschr., Bd. 14, Heft 3) habe ich den Nachweis geführt, daß die Hämagglutination einen chemischen Vorgang darstellt, der auf einer Verklebung der Lipoidhülle der Erythrocyten beruht und bedingt ist durch die Einwirkung des fettlösenden Fermentes der einkernigen ungranulierten basophilen weißen Blutkörperchen und ihrer sekundär in die Blut- und Gewebsflüssigkeit ergossenen Lipase. Es wurde dort bereits hervorgehoben, daß die Lymphocyt-lipase die Fähigkeit besitzt, sich nach mehrfacher Vorbehandlung mit der gleichen Blutkörperchenart spezifisch gegen dieses betreffende Lipoid einzustellen.

Die Entstehung dieser Vorgänge soll hier genauer geschildert werden. Man kann nämlich unter dem Mikroskop direkt die Entwicklung der spezifischen Einstellung, das Phänomen der allmählich sich herausbildenden Spezifität der Lipase der einkernigen weißen Blutkörperchen gegen das Lipoid der jeweiligen Erythrocyten systematisch von den ersten Anfängen bis zur völligen Ausbildung verfolgen und so einen Blick in das Dunkel des Spezifitätsbegriffs hineintun.

Oft schon 1—2 Tage nach der ersten Injektion von roten Hammelblutkörperchen in die Bauchhöhle von weißen Mäusen

beobachtet man nach Entnahme eines Tropfens Peritonealexsudat und Vermischung mit einem Tropfen der betreffenden Blutkörperchenart im frischen Präparate eine schwache Umlagerung der einkernigen weißen Zellen mit einigen oder einer Reihe von Erythrocyten, eine Erscheinung, welche in den späteren Tagen allmählich stärker wird, deutlicher ausgeprägt ist und auch schneller zustande kommt. Oft sieht man schon nach etwa 5—6 Tagen eine oder sogar mehrere Reihen von roten Blutkörperchen um eine oder eine Anzahl von einkernigen weißen kranzförmig herumgelagert. Nach mehrfacher Vorbehandlung mit der gleichen Blutart sind diese Erscheinungen voll entwickelt und in die Augen fallend. Es kommt dann nicht bloß mikroskopisch zu einer viel schnelleren und stärkeren Zusammenballung der roten Blutkörperchen um die einkernigen weißen, sondern auch schon makroskopisch nimmt man deutliche Agglutination wahr. Unter dem Mikroskop sieht man im frischen Präparate geradezu, wie die weißen Blutkörperchen es schon besser gelernt haben, die roten an sich zu ziehen, wie sie förmlich auf sie abgerichtet sind, wie die Erythrocyten gierig von den einkernigen weißen, die sich meist zahlreich im Exsudat finden, angezogen werden.

Dafür, daß es sich bei der Hämagglutination, wie ich in der ersten Arbeit schon ausgesprochen habe, um ein unter dem Einflusse des lipolytischen Fermentes der einkernigen weißen Zellen zustande gekommenes Klebrigwerden der Lipidhülle der roten Blutkörperchen handelt, spricht ebenfalls die direkte Beobachtung unter dem Mikroskop.

Man kann nämlich bei Betrachtung des frischen, ungefärbten Präparates, d. h. des Gemisches von 1 Tropfen Bauchhöhlenexsudat einer Maus und der zur Vorbehandlung benutzten roten Blutkörperchenart, besonders bei etwas schräger Stellung des Objektisches, beobachten, wie rote Blutkörperchen beim Vorbeifließen an anderen, einkernige weiße Zellen bereits umkränzenden Erythrocyten kleben bleiben und von später vorbeiströmenden Zellmassen nicht wieder losgerissen werden können.

Diese Befunde werden oft schon mehrere Tage nach der ersten Injektion erhoben, sind aber überaus deutlich und fast in jedem Präparate zu konstatieren einige Zeit nach mehrfacher Vorbehandlung mit der gleichen Blutart.

Ueber das weitere Schicksal der unter dem Einflusse der einkernigen weißen Zellen agglutinierten roten Blutkörperchen, das allmähliche Zerschmelzen der Lipoidhüllen zu einer formlosen Masse und das völlige Verschwinden derselben bis zur kompletten Hämolyse, habe ich in der zitierten Arbeit Mitteilungen gemacht. Ob noch eine zweite, besondere Substanz den durch das Lymphocytenferment bedingten Agglutinationszustand in die Hämolyse überführt, und welcher Art diese sei, ob vielleicht die roten Blutkörperchen durch opsoninartige Substanzen so verändert werden, daß sie von den einkernigen weißen besser agglutiniert bzw. hämolysiert werden, darüber sind weitere Untersuchungen im Gange. Das fettspaltende Ferment der einkernigen ungranulierten basophilen weißen Blutkörperchen gelangt nicht nur innerhalb ihres Zelleibes zur Wirksamkeit, sondern wird auch in ihre Umgebung sezerniert. Dafür spricht die direkte mikroskopische Beobachtung, welche lehrt, daß die roten Blutkörperchen von den einkernigen weißen nicht bloß einverleibt, phagocytirt und verdaut werden können, sondern daß die Agglutination der Erythrocyten immer nur außerhalb des Körpers der einkernigen weißen Zellen, meist kranzförmig um diese herum, vor sich geht. Ferner werden bei der später eintretenden Hämolyse zuerst die rings um die einkernigen weißen gelagerten bzw. in ihrer nächsten Umgebung befindlichen roten Blutkörperchen in eine formlose Masse umgewandelt und schließlich aufgelöst, während die weiter entfernt liegenden zunächst noch in ihrer Form erhalten bleiben und erst später zerschmelzen.

In mancher Beziehung interessante Resultate erhält man nach Vorbehandlung von weißen Mäusen mit mehrfachen intraperitonealen Injektionen von Gänseblut. Weiße Mäuse eignen sich für diese Versuche nach meinen Erfahrungen besser als z. B. Meerschweinchen. Beim Zusammenbringen von Bauchhöhlenexsudat der vorbehandelten Mäuse mit roten Gänseblutkörperchen konstatiert man prinzipiell dieselben Vorgänge, wie wir sie beim Hammel- oder Rinderblut beschrieben haben, aber infolge der verschiedenen anatomischen Beschaffenheit der Gänseblutkörper, z. B. des Vorhandenseins eines Kernes, sind doch manche Differenzen zu beobachten, die hier nicht ausführlich geschildert werden sollen.

Da all diese Tatsachen mir von Wichtigkeit zu sein schienen nicht bloß für unsere Kenntnisse von dem Wesen und dem Ursprung der Agglutination, sondern auch für das Verständnis des rätselvollen Phänomens der spezifischen Einstellung des Antikörpers gegen das Antigen, so wurden nach mehreren Richtungen hin die Untersuchungen verfolgt und erweitert, und es wurde die Tatsache konstatiert, daß die einkernigen weißen Blutkörperchen nicht bloß die Fähigkeit besitzen, sich nach mehrfacher Vorbehandlung mit der gleichen roten Blutkörperchenart mit ihrer Lipasenbildung spezifisch gegen dieses bestimmte Lipoid einzustellen, sondern daß es auch gelingt, durch gleichzeitige Vorbehandlung von Tieren, z. B. weißen Mäusen und Meerschweinchen, mit zwei verschiedenen roten Blutkörperchenarten spezifische Ferment-einstellung gegen diese beiden Arten von Lipoiden zu erzielen.

Wenn man z. B. weiße Mäuse mehrfach gleichzeitig mit Hammelblut und Gänseblut vorbehandelt und einige Tage etwa nach der 3. Injektion Bauchhöhlenexsudat gesondert mit Hammelblut und Gänseblut zusammenbringt, so sieht man schon nach ganz kurzer Zeit auch makroskopisch in beiden Fällen Agglutination eintreten, die gewöhnlich bei den Gänseblutkörperchen noch schneller und deutlicher ausgesprochen ist, als beim Hammelblut. Mikroskopisch beobachtet man dieselben Erscheinungen, wie sie in der zitierten Arbeit von mir beschrieben wurden. Bringt man Bauchhöhlenexsudat einer mehrfach mit Hammel- und Gänseblut vorbehandelten Maus mit Rinderblut zusammen, so tritt weder Agglutination noch Hämolyse ein. Interessant ist es aber, daß man bei mikroskopischer Betrachtung des Präparates doch hin und wieder eine geringe Umlagerung von einkernigen weißen Blutkörperchen mit einzelnen oder mehreren roten Blutkörperchen beobachtet. Das Bemerkenswerte an diesem Befunde scheint mir der Umstand zu sein, daß er eine Erklärung abgeben kann für die nicht in allen Fällen absolute Spezifität der Agglutination und die Ursache derselben.

Wenn man das Bauchhöhlenexsudat einer mit Hammel- und Rinderblut gleichzeitig mehrfach vorbehandelten Maus gesondert mit Hammel- und Rinderblut zusammenbringt, so bekommt man mit beiden Agglutination bzw. manchmal Hämolyse in der bereits beschriebenen Art; mischt man die

Bauchhöhlenflüssigkeit mit Gänseblut, so kommt zwar eine makroskopisch wahrnehmbare Agglutination fast nie zustande, aber unter dem Mikroskop sieht man doch, daß um einzelne weiße Blutkörperchen sich manchmal rote Gänseblutkörperchen mehr oder weniger gruppieren, also mikroskopisch eine Andeutung von Agglutination, eine chemotaktische Einwirkung der Lymphocytenlipase auch auf das Lipoid der roten Gänseblutkörperchen statthat. Jedenfalls möchte ich dem Eintreten dieser nicht spezifischen Reaktion von seiten der lymphoiden Zellen gegenüber dem Lipoid auch der Gänseblutkörperchen eine gewisse Bedeutung beimessen, da ähnliche Verhältnisse wahrscheinlich in der klinischen Medizin beim Zustandekommen der Gruppenreaktionen eine Rolle spielen.

Bei Mäusen sind diese Verhältnisse besser zu studieren als z. B. bei Meerschweinchen; bei ersteren kommt es nach entsprechender Vorbehandlung verhältnismäßig schnell zu einer mikroskopisch und dann makroskopisch sichtbaren Agglutination der roten Blutkörperchen durch das Bauchexsudat. Bei Meerschweinchen liegen die Verhältnisse, wenn auch prinzipiell gleich, so doch in mancher Beziehung verschieden bzw. weniger deutlich; doch darauf kann ich hier nicht näher eingehen. Auch bei diesen Versuchen ist aber der Prozeß der Immunisierung, der spezifischen Antistoffbildung, in den einzelnen Stadien zu beobachten, und zwar zeigt es sich auch hier, daß das Lipoid der roten Blutkörperchen als Antigen wirkt, daß die einkernigen weißen Blutkörperchen, zum Teil wenigstens, die Antistoffbildner sind, daß diese Antikörperbildung auf einer Lipasenwirkung beruht, und daß diese Lipasen die Fähigkeit besitzen, sich spezifisch gegen bestimmte, auch mehrere Lipide einzustellen.

Dieses Vermögen der spezifischen Einstellung des Lymphocytenfermentes gegen bestimmte Lipide ist nichts etwa nur für die lymphoiden Zellen Charakteristisches und Eigentümliches; dieses Phänomen ist nicht vereinzelt, sondern wird auch anderweitig in analoger Weise beobachtet. So nehmen bestimmte Bakterienarten, je nachdem man den Nährboden, auf dem sie wachsen, in gewisser Weise modifiziert, veränderte biologische Eigenschaften an; so kann man ferner Hefezellen durch Fütterung mit bestimmten Zuckerarten dahin bringen, daß sie gerade gegen diese Kohlehydrate gerichtete Fermente

produzieren, so stellen sich weiterhin die Drüsenzellen des Pankreas in der Sekretion ihres Fermentes ganz auf die besondere Art der längere Zeit dargereichten Nahrung ein.

Ich halte die Fähigkeit der spezifischen Einstellung des lipolytischen Lymphocytenfermentes gegen bestimmte Lipoide für ein wichtiges Gesetz, das in der klinischen Medizin eine überaus bedeutsame Rolle spielt.

Dieses Eindringen in das Wesen der spezifischen Einstellung gegen Lipoide von seiten der lipolytischen lymphoiden Zellen, dieses Verständnis des Zustandekommens der Spezifität der Antistoffe gegen lipoide Substanzen ist nicht bloß für die Hämagglutination und Hämolyse, sondern für die Immunitätsvorgänge überhaupt von größter Bedeutung, speziell bei denjenigen Erkrankungen, deren Erreger ein lipidartiger ist. Wir wissen, daß in diese Kategorie von Krankheiten die Lues, die Tuberkulose, die Lepra usw. gehören; wir wissen, daß bei diesen Krankheiten eine Lymphocytose und vielfach ein erhöhtes Fettspaltungsvermögen der Blut- bzw. Körperflüssigkeit beobachtet wird, eine Erscheinung, die als eine Abwehrmaßregel, als eine Reaktion des Organismus aufzufassen ist, um die Krankheitserreger abzubauen, unschädlich zu machen. Wir können uns jetzt erklären, warum die lipolytischen Antistoffe, die sich im Körper gegen die lipoiden Antigene bilden, immer nur speziell gegen diese gerichtet sind, und wie diese spezifische Antikörperbildung zustande kommt; wir können nun aber auch andererseits begreifen, warum gewisse Beziehungen zwischen den Antistoffen der einen Krankheit und den Antigenen anderer, verwandter, bestehen und worauf sie beruhen. Je nach der Spezifität der lipoidhaltigen Antigene hat sich auch die reaktiv erzeugte Lymphocytose mit ihrem fettspaltenden Fermente spezifisch eingestellt. Diese Anpassung ist aber nicht absolut genau, wie wir gesehen haben, und so finden wir denn, daß chemisch sehr nahe miteinander verwandte Antigene die Veranlassung geben zur Bildung von Antikörpern, die als spezifische Reaktionsprodukte ebenfalls einander sehr ähnlich sind, und so kommt es, daß innerhalb einer sehr nahen Verwandtschaftsgruppe die verschiedenen Antikörper mit den verschiedenen Antigenen gewisse Gruppenreaktionen geben.

Ich habe in einer früheren Arbeit (Münch. med. Woch., 1912, No. 20) auf Grund experimenteller Untersuchungen die Ansicht ausgesprochen, daß die Wassermannsche Reaktion auf dieser spezifischen Einstellung des als Antikörper wirkenden, in das Serum übergegangenen lipolytischen Lymphocytenfermentes gegen das Lipoid des Lueserreger beruht. Wir können uns nun vorstellen, wie es möglich ist, daß die Wassermannsche Reaktion unbeschadet ihrer biologischen Spezifität in gewissem Grade auch bei solchen Erkrankungen vorkommen kann, deren Erreger ein dem Luesantigen sehr ähnlich gebautes Lipoid enthalten, deren Antikörper infolgedessen auch sehr ähnlich gebaute Lipasen sind. Nichtsdestoweniger muß aber biologisch die Wassermannsche Reaktion als eine spezifische Antikörperbildung gegenüber dem Luesantigen gelten.

Zusammenfassung.

Man kann unter dem Mikroskop die Entstehung der Hämagglutination bzw. auch der Hämolyse, der Verklebung und des Schmelzens der Lipoidhülle der roten Blutkörperchen unter dem Einfluß des fettlösenden Fermentes der Leucocyten direkt beobachten.

Die Spezifität der Hämagglutinine entsteht durch allmähliche Einstellung der Lymphocytenlipase gegen das betreffende Lipoid der Erythrocyten, und ist von den ersten Andeutungen bis zur völligen Ausbildung direkt unter dem Mikroskop zu verfolgen.

Die spezifische Fermenteinstellung kann auch gegen zwei Lipoide durch gleichzeitige Vorbehandlung mit zwei roten Blutkörperchenarten erzielt werden; die Spezifität ist aber nicht absolut genau, da chemisch nahestehende Lipoide durch die gleiche Lipase in geringem Grade auch beeinflußt werden.

Diese Vorgänge spielen klinisch eine wichtige Rolle; die Wassermannsche Reaktion z. B. ist als spezifische Antikörperbildung gegenüber dem Syphilisgift, als spezifische Lipasenbildung gegenüber dem Lueslipoid aufzufassen und kann unbeschadet ihrer Spezifität in gewissem Grade auch bei Erkrankungen vorkommen, deren Erreger dem lipoiden Luesantigen chemisch sehr nahe stehen, also auch ähnliche lipolytische Antistoffe produzieren.

Nachdruck verboten.

[Aus dem städtischen Krankenhaus Charlottenburg-Westend.
(Dirigierender Arzt: Prof. Dr. U m b e r.)]

Ueber Meiostagminversuche bei Typhus.

Von Dr. F. Prinzing.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Januar 1913.)

Ueber die Meiostagminreaktion wurde im Jahre 1910 von M. Ascoli in Deutschland publiziert. Seine Versuche erstreckten sich zuerst auf Typhus abdominalis, Echinococcus, Ankylostomum duodenale, Tuberkulose, Syphilis. Später wandte Ascoli sich auch dem Gebiet der Geschwülste, besonders dem Krebs zu. Die Resultate, welche Ascoli angab, waren meist positiv und auch von anderer Seite wurden die Versuche mehrfach mit Erfolg wiederholt (Micheli, Catoretti, Vignano, Kelling, Stammer u. a.).

Auf Veranlassung von Herrn Oberarzt Dr. W. Schultz stellte ich eigene Versuche bei Typhuskranken an. Meine Technik war folgende:

Ich verwendete Traubes Stalagmometer von Gerhardt-Bonn; dasselbe war geeicht auf 52,0 Tropfen Aq. dest. bei 15° C. Durch meine Versuche stellte ich fest, daß 24 Teilstriche des Apparates einem Tropfen des verdünnten Blutserums bei Zimmertemperatur von 18° C entsprachen. Bei Vorversuchen mit dem Stalagmometer mit Aq. dest. konstatierte ich eine Abhängigkeit der Tropfenzahl von der augenblicklichen Zimmertemperatur. Bei einer Differenz der Temperatur von 9° C bestand ein Unterschied der Tropfenzahl von 1,2 Tropfen; bei den Hauptversuchen bestand eine annähernd gleichmäßige Zimmertemperatur von 18° C. Das Stalagmometer wurde vor jedem Versuche mit Wasser, Alkohol und Aether gereinigt und lufttrocken gemacht. Das Schälchen, in das die Flüssigkeit abtropfte, war in derselben Weise behandelt. Die einzelnen Mischungen wurden in trocken sterilisierten Reagenzgläsern mit sterilen trockenen Pipetten vorgenommen.

Das Blut wurde in der Ellenbeuge steril entnommen. Nachdem das Serum sich abgesetzt hatte, wurde es zentrifugiert. Es wurde je 1 ccm Blutserum mit 9 ccm steriler, 0,85-proz. Kochsalzlösung verdünnt; davon wurden zu einem Tropfversuche 9 ccm verwendet.

Im ganzen hatte ich drei von verschiedenen Typhusstämmen gewonnene Bacillenextrakte. Extrakt I war mir von außerhalb zur Ver-

fügung gestellt; es war ein wäßriger Extrakt, der keine Typhusbacillen enthielt. Extrakt II und III hatte ich an dem bakteriologischen Institute des Krankenhauses (Prof. Dr. Dietrich) genau nach den Angaben Ascolis hergestellt. Dieser empfiehlt Neisser-Shigas Verfahren (Deutsche med. Wochenschr., 1903, p. 61): von zwei verschiedenen Stämmen hochvirulenter Typhusbacillen — das Testserum agglutinierte in beiden Fällen die fraglichen Bakterien in 24 Stunden bis zur Titergrenze (1:8000) — wurde eine 1-tägige Agarkultur in 20 ccm steriler, 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 2 Tage bei 37° C im Brutofen gehalten, dann durch Berkefeldfilter filtriert. Damit die Extrakte nicht zu konzentriert wurden, nahm ich mehr Kochsalzlösung als Neisser-Shiga angeben; eine geringere Extraktverdünnung bei einigen Versuchen glich dieses Vorgehen wieder aus. Entsprechend Ascolis Vorschrift unterblieb eine Erhitzung des Extraktes auf 60° C. Die Extrakte wurden ganz frisch verwendet und für die nächsten Versuche lichtgeschützt und kühl aufbewahrt; zu jedem Versuche wurden sie frisch verdünnt mit steriler 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1000000 in 1 ccm Flüssigkeit.

Die einzelnen Mischungen bei meinen Versuchen waren demnach

- 1) 9 ccm auf $\frac{1}{10}$ verdünntes Serum + 1 ccm sterile, 0,85-proz. Kochsalzlösung (Kontrollversuch),
- 2) dgl. + 1 ccm Typhusbacillenextrakt verdünnt 1:10, 1:100 usw. bis 1:1000000.

Die Mischungen, verdünntes Serum + Extrakt, wurden in der Weise hergestellt, daß in das Reagenzglas zuerst der verdünnte Extrakt gebracht wurde; dazu wurde unter leichtem Umschütteln das verdünnte Serum gegossen.

Meine Tropftechnik war folgende: Vor Anstellung des Versuchs ließ ich die Flüssigkeit das Stalagmometer blind passieren; dann ließ ich jede Flüssigkeit 2—3 mal durchtropfen und notierte alle Tropfzahlen¹⁾. Zuerst wurde verdünntes Serum + Kochsalzlösung getropft, darnach verdünntes Serum mit zugesetztem Extrakt. Sämtliche Lösungen standen darauf 2 Stunden im Brutschrank bei 37° C und wurden nach allmählicher Abkühlung auf Zimmertemperatur wieder untersucht; die Abkühlung der Flüssigkeit war noch gewährleistet durch genügend lange Dauer des Versuchs.

Zu den Versuchen wurde Blutserum von Patienten verwendet, die an Typhus abdominalis erkrankt waren; die Diagnose war in allen Fällen einwandfrei festgestellt, teils durch klinische Zeichen, teils durch Blutuntersuchung:

1) Der Einfachheit wegen ist in der Tabelle jeweils nur eine Zahl angegeben; genauere Angaben finden sich in meiner im November 1912 in Tübingen erschienenen Dissertationsarbeit.

Fall	1	2	3	4	5	6	7 u. 9	8	10	11
Fickers Diagnostik für Typhus abdom. Krankheitstag der Blutentnahme	1:10 000	1:1000	1:1000	1:10 000	1:1000	1:100	1:1000	1:100 000	1:10 000	—
	74	51	60	33	55	48	9 u. 38	77	21	31

Bei Fall 11 war zwar der Agglutinationsversuch negativ ausgefallen, jedoch ließ der klinische Verlauf keine andere Deutung zu, auch wurden im Stuhl Typhusbacillen nachgewiesen. Bei einem 12. Versuche mit dem Serum eines gesunden Menschen trat selbstverständlich keine Agglutination ein.

Bei den erwähnten 12 Fällen stellte ich Versuche mit der Meiostragminreaktion an. Verwendet wurde Extrakt I bei Fall 1, 2; Extrakt II bei Fall 3—7, 11, 12; Extrakt III bei Fall 8, 9, 10. Bei jedem Versuch wurden 9 ccm von dem auf 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Serum verwendet; dazu wurden zugesetzt entweder 1 ccm verdünnter Extrakt oder — als Kontrollversuch — 1 ccm Kochsalzlösung. Die Resultate sind in der Tabelle zusammengestellt.

Fall	0,85 % NaCl-Lösung	1 ccm verdünnter Extrakt	Tropfenzahl		Fall	0,85 % NaCl-Lösung	1 ccm verdünnter Extrakt	Tropfenzahl		
			sofort	nach 2 Std. bei 37°				sofort	nach 2 Std. bei 37°	
1	1 ccm	—	54,0	54,3	6	1 ccm	—	54,3	54,5	
	—	1:1000	54,1	54,3		—	1:10	54,3	54,6	
	—	1:10 000	53,8	54,2		—	1:1000	54,2	54,5	
	—	1:100 000	54,0	54,3		7	1 ccm	1:100	54,6	54,8
	—	1:1 000 000	53,9	54,2			—	1:100 000	54,5	54,8
2	1 ccm	—	54,3	54,7	8	1 ccm	—	54,5	54,8	
	—	1:1000	54,4	54,5		—	1:10	54,1	54,3	
	—	1:10 000	54,4	54,5		—	1:1000	54,0	54,1	
	—	1:100 000	54,2	54,5		—	1:100 000	54,5	54,8	
	—	1:1 000 000	54,3	54,5		—	1:1 000 000	54,4	54,8	
3	1 ccm	—	54,5	54,8	9	1 ccm	1:1000	54,3	55,0	
	—	1:1000	54,3	54,6		—	1:100 000	54,5	54,7	
	—	1:10 000	54,5	54,7		10	1 ccm	1:100	54,1	54,8
	—	1:100 000	54,3	54,7			—	1:100 000	54,0	54,3
	—	1:1 000 000	54,3	54,9			11	1 ccm	—	54,5
4	1 ccm	—	54,5	54,8	—	1:1000		54,5	54,6	
	—	1:1000	54,6	54,9	—	1:10 000		54,4	54,5	
	—	1:100 000	54,6	55,0	—	1:100 000		54,5	54,6	
5	1 ccm	—	54,3	54,5	—	1:1 000 000		54,6	54,6	
	—	4:1000	54,1	54,6	12	1 ccm	—	53,9	54,2	
	—	1:100 000	54,1	54,4		—	1:1000	54,0	54,2	

Die Ergebnisse sind durchweg eindeutig im negativen Sinne: sie lassen von den von Ascoli gemachten Angaben nichts erkennen. Eine Erhöhung der Tropfenzahl derjenigen Blutsera, welche nach Beschickung mit antigenhaltigem Extrakt 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank gehalten waren, konnte ich in keinem Falle in nennenswerter Weise feststellen. Eine geringe Vermehrung der Tropfenzahl ist allerdings durchweg aus der Tabelle ersichtlich; die größte Differenz, die ich gefunden habe, beträgt aber nur 0,7 Tropfen, während Ascoli als positiven Ausschlag 1—3 Tropfen verlangt. Hervorzuheben ist, daß diese Unterschiede auch bei den Kontrollproben mit physiologischer Kochsalzlösung auftraten, sowie bei dem Serum des gesunden Individuums. Von einer spezifischen konstanten Reaktion kann nach den von mir gemachten Beobachtungen nicht die Rede sein. Da trotz genauer Befolgung der bekannten Vorschriften ein positives Resultat nicht erzielt wurde, so kann die Ursache nur in Technizismen liegen, deren Details aus der Beschreibung der Autoren nicht genügend bestimmt hervorgeht. Es kann wohl eine Aussicht für die Verbreitung der Untersuchungsmethode unter Klinikern nur dann bestehen, falls dieses Hindernis in klarer und jedem Untersucher zugänglicher Form beseitigt wird.

Zusammenfassung.

- 1) Die Versuche bestätigen die von Ascoli gemachten Angaben nicht.
- 2) Ursachen hierfür lassen sich nicht auffinden.
- 3) Es müssen also Technizismen sein, die aus der Beschreibung des Autors nicht hervorgehen.

Literatur¹⁾.

Ascoli, M., und Izar, G., Münch. med. Wochenschr., 1910, p. 62, 403, 842, 933, 954, 1170, 2129; 1911, p. 1347, 1748, 2118.
Gasharini, Wien. klin. Wochenschr., 1910, p. 1206.

1) Genauere Angaben sind in der oben erwähnten Dissertation zu finden.

Agostini, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 23; Med. Klinik, 1910, p. 1143.

Stabilini, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32.

d'Este, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 19.

Ascoli, A., Deutsche med. Wochenschr., 1910, p. 1997.

Vigano, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 32.

Micheli und Catoretti, Münch. med. Wochenschr., 1910, p. 1122; Wien. klin. Wochenschr., 1910, No. 44; 1911, p. 637.

Stammler, Münch. med. Wochenschr., 1911, p. 1643, 1957.

Kelling, Wien. klin. Wochenschr., 1911, No. 3, 44.

Nachdruck verboten.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Note sur un sérum précipitant pour l'albumine d'*Agaricus muscarius* Linn.

Par **B. Galli-Valerio** et **M. Bornand**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Januar 1913.)

Le prix des champignons secs, étant très élevé, il est bien naturel qu'on ait essayé de mélanger aux champignons les plus recherchés, des champignons de mauvaise qualité.

Or, parmi les champignons secs les plus recherchés, nous avons *Boletus edulis* Bull dont le prix à l'état sec varie entre 10 et 15 frs. le kg.

L'attention d'un de nous a été attirée sur le fait qu'on mélange à *Boletus edulis* les tiges de la fausse oronge (*Agaricus muscarius* Linn.); tiges qui une fois desséchées gardent le même aspect blanchâtre des bolets desséchés.

La fausse oronge étant un des champignons les plus vénéneux, et la toxicité des champignons persistant même après dessiccation, comme Pellegrini l'a démontré¹⁾, il est très important de pouvoir, cas échéant, prouver la présence d'*Agaricus muscarius* dans un lot de Bolets desséchés.

Il est vrai que les cas d'empoisonnement par les champignons desséchés sont extrêmement rares; probablement par le fait mis en avant par Pellegrini²⁾ que dans la grande

1) Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, 1900, p. 121.

2) Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, 1900, p. 304.

majorité des cas, les champignons secs sont utilisés en petite quantité, et presque exclusivement pour relever le goût des aliments.

Nonobstant cela, ces cas peuvent se vérifier et il est donc, important au point de vue du contrôle des denrées alimentaires, de disposer de moyens pour déceler la fraude.

Un diagnostic par l'examen des caractères botaniques des champignons secs, ne peut pas dans le cas particulier donner un résultat, car on a bien soin de ne pas utiliser pour le mélange le chapeau de la fausse oronge, dont des restes de lamelles pourraient faire soupçonner la fraude.

Pellegrini¹⁾ a proposé de rechercher la présence de champignons vénéneux au milieu de champignons secs, par l'inoculation de l'extrait aqueux des champignons sous la peau des cobayes ou des lapins: inoculation qui détermine la mort s'il s'agit de champignons vénéneux. Dans ce but, il propose de prendre 5 gr. de champignons secs, de les faire macérer quelques heures dans 50 c. c. d'eau et d'inoculer sous la peau des cobayes ou des lapins 10 c. c. de la solution ainsi obtenue. La mort arrive dans une période de temps qui ne dépasse pas les 24 heures, en utilisant l'extrait d'*Amanita phalloides*. Il a pu par ce procédé, déceler dans des champignons secs, la présence de 1 % en poids d'*A. phalloides* mélangée avec *B. edulis*.

Nous nous sommes demandés, s'il ne serait pas possible de faire le diagnostic par le procédé des précipitines.

Les précipitines pour l'albumine des champignons, si nous faisons exception de celles des *Blastomycètes* et des *Schizomycètes*, n'ont pas formé l'objet de beaucoup de travaux.

Dans toute la littérature nous n'avons pu en trouver que deux. Le premier est celui de Magnus et Friedenthal²⁾. Ces deux auteurs se sont proposés de vérifier si *Saccharomyces cerevisiae* et *Tuber brumale* (*Ascomycètes*) sont rapprochés entre eux et dans quel rapport ils se trouvent avec un *Basidiomycète* (*Agaricus campestris*). Dans ce but, ils ont préparé 3 lapins avec l'extrait de ces trois champignons, et en employant 1 c. c. d'antisérum pour 0.02 c. c. d'extrait, ils ont constaté, les faits suivants:

L'antisérum pour *S. cerevisiae* détermine un trouble immédiat et fort dans l'extrait de *S. cerevisiae* et de *T. brumale*, la formation de très petits flocons dans l'extrait d'*A. campestris*.

1) Travaux cités.

2) Berichte der Deutsch. Bot. Ges., 1906, p. 601.

L'antisérum pour *T. brumale* détermine un trouble immédiat et fort dans l'extrait de *T. brumale*, léger dans celui de *S. cerevisiae* et laisse presque complètement clair l'extrait d'*A. campestris*.

L'antisérum pour *A. campestris* détermine un trouble immédiat et fort dans l'extrait d'*A. campestris* tandis qu'il laisse presque complètement clair les extraits de *T. brumale* et de *S. cerevisiae*.

Magnus et Friedenthal en concluent donc que *T. brumale* est plus rapproché de *S. cerevisiae* que d'*A. campestris* et qu'il entre donc réellement dans les *Ascomycètes*.

Le second travail est celui de Catastini¹⁾, travail dont malheureusement nous n'avons pas pu avoir l'original et que nous citons d'après une analyse du *Centralblatt für Bakteriologie*. Cet expérimentateur a noté que le sérum d'un lapin immunisé avec l'extrait d'un champignon donné est fortement précipitant pour le champignon correspondant tandis qu'il l'est très peu pour les autres. Il ajoute qu'il est assez difficile d'obtenir ce sérum précipitant.

Pour nos recherches, nous nous sommes proposés d'immuniser un lapin avec l'albumine d'*Agaricus muscarius*. Nous nous sommes servis de fausses oronges desséchées dont la quantité d'albumine, dosée d'après la méthode de Kjeldahl, était de 28 %.

Pour pouvoir pratiquer l'inoculation du lapin, il était nécessaire de faire disparaître la toxicité des solutions d'*Agaricus muscarius* et dans ce but, nous avons procédé comme suit:

5—10 gr. d'*A. muscarius* desséchés étaient finement pulvérisés et mélangés à 75 ou 150 c. c. d'eau distillée. Après 6 à 10 h. de macération on précipitait avec du sulfate d'ammonium pulvérulent et en excès, on filtrait et on plaçait l'albumine sur un dialyseur pendant 12 h. en renouvelant souvent l'eau. L'albumine ainsi débarrassée par dialyse de l'excès de sulfate d'ammonium et de la substance toxique, était delayée dans un peu d'eau distillée (4—5 c. c.) et inoculée sous la peau de la cuisse d'un lapin alternativement à droite et à gauche.

Cet animal, du poids de 3100 gr., a reçu successivement les doses suivantes d'albumine: 2 XI. 12. 0,65 gr.; 9 XI. 1 gr.; 13 XI. 0,78 gr.; 16 XI. 0,52 gr.; 20 XI. 0,65 gr.; 30 XI. 0,65 gr., donc au total 4,25 gr. d'albumine. Le lapin n'a présenté qu'une diminution de poids de 100 gr. et un peu d'engorgement aux points inoculés. Des prises de sang à l'oreille de ce lapin ont été faites: le 27 XI. 12; le 5 XII. et le 16 XII.

1) *Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 40, 1907, p. 83.*

Le sérum obtenu par ces prises de sang a été ajouté à des extraits d'albumine des champignons suivants, que nous disposons dans l'ordre botanique pour que l'on puisse plus facilement constater le rapprochement de ces différents champignons entre eux. Pour cette disposition, nous avons utilisé la classification donnée par Leuba¹⁾.

Fungi.

Hymenomycètes.

Basidiomycètes.

Ordre: Agaricinés.

Tribu: Amanite.

Leucosporés: *Agaricus muscarius* Linn.

Tribu: Gymnope.

Tricholoma: *Agaricus iridium* L.

Tribu: Pratelle.

Agaricus campestris Linn.

Tribu: Cortinaire.

Dermocybe: *Agaricus nudum* L.

Tribu: Chanterelle.

Cantharellus cibarius Fr.

Ordre: Polyporés.

Tribu: Bolets.

Ochrospores: *Boletus edulis* Bull.

Ordre: Hydnés.

Mesopus: *Hydnum repandum* Linn.

Thécosporés.

Ordre: Morchellés.

Morchella esculenta Pers.

Gasteromycètes.

Ordre: Tuberacés.

Tuber cibarium Bull.

Tous ces champignons ont été séchés et pulvérisés. Un gramme de la poudre était alors traité par 50 c. c. de solution physiologique pendant 10 heures et on en faisait des dilutions correspondant approximativement à 1:500; 1:1000; 1:5000 et 1:10 000; ces solutions étaient neutralisées avec une solution de carbonate de soude à 0,1 %.

Comme solutions de contrôle, on a utilisé la solution physiologique, une solution d'albumine de cheval et une d'albumine de graines de tournesol (*Helianthus annuus*).

1) Les champignons comestibles et les espèces vénéneuses. Neuchâtel 1890.

Toutes les expériences ont été faites dans les petites éprouvettes coniques, que nous avons utilisé dans nos recherches précédentes sur les précipitines; éprouvettes dans lesquelles on introduisait $\frac{2}{10}$ de c. c. des différentes solutions, et on y ajoutait des doses variables de 1 goutte à $\frac{1}{20}$ et $\frac{1}{10}$ de c. c. du sérum précipitant ou d'un sérum de lapin normal. Les recherches ont été faites à la température de la chambre (18° — 20°) et dans certains cas comparativement à 37° . Sauf l'apparition plus rapide de la réaction à 37° qu'à 18° — 20° , nous n'avons pas constaté de différences dans les résultats obtenus.

Dans une expérience, nous avons utilisé la méthode capillaire de Carnwath¹⁾, qui nous a donné des résultats identiques.

Les résultats de toutes ces expériences pratiquées successivement le 24 XI. 12; 3 XII.; 6 XII.; 7 XII.; 10 XII.; 17 XII. peuvent être ainsi résumés:

L'antisérum pour *Agaricus muscarius* que nous avons obtenu:

1° Était encore actif dans des solutions d'albumine de ce champignon à 1:5000; faiblement actif à 1:10000.

2° Il ne déterminait aucun trouble ni dans la solution physiologique, ni dans les solutions d'albumine de tournesol (1:500; 1:1000; 1:5000; 1:10 000) ni dans celles d'albumine de cheval (1:500; 1:1000).

3° Il déterminait un trouble rapide suivi de formation de flocons et de dépôt, dans des solutions d'albumine d'*Agaricus muscarius* à 1:500 et 1:1000 ajouté à la dose d'une goutte, $\frac{1}{20}$ de c. c. et $\frac{1}{10}$ de c. c., à $\frac{2}{10}$ de c. c. de la solution. Résultats identiques en l'ajoutant à l'extrait de mélanges de *Boletus edulis* et *A. muscarius* dans la proportion de 1:1, 3:1, 7:1.

4° Il ne déterminait aucun trouble dans l'extrait d'*A. muscarius* chauffé $\frac{1}{2}$ heure à l'étuve de Koch.

5° Il ne donnait aucun trouble dans les solutions d'*A. iridum*, *A. campestris*, *A. nudum*, *C. cibarius*, *Boletus edulis*, *H. repandum*, *Morchella esculenta*, *Tuber cibarium*. Ce n'est qu'après 24—48 heures qu'on

1) P. Uhlenhuth und O. Weidanz, *Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens*. Jena 1909, p. 53.

apercevait un léger trouble dans les solutions des espèces du genre *Agaricus*.

6° Il ne donnait aucun trouble dans un extrait de potage Knorr aux champignons.

Des essais faits avec les mêmes solutions, mais en employant un sérum de lapin normal, n'ont donné avec toutes qu'un résultat absolument négatif.

Les résultats que nous avons obtenu, démontrent donc que par l'inoculation d'albumine d'*Agaricus muscarius* sous la peau du lapin, il est possible d'obtenir un sérum précipitant spécifique pour l'albumine de ce champignon; sérum précipitant, qui permet de déceler la présence d'*Agaricus muscarius* dans des mélanges d'une partie sur sept parties de *Boletus edulis*. Ce sérum a une valeur spécifique très nette, car il ne donne pas de trouble ni de précipité dans les albumines d'autres champignons sauf un léger trouble, n'ayant pas d'importance au point de vue du diagnostic, apparaissant après 24—48 heures dans les solutions d'albumine de champignons du genre *Agaricus*. Les albumines des champignons supérieurs, à différence de celles des phanérogames, se laissent plus facilement différencier entre elles et démontrent une séparation plus grande entre les différentes espèces de champignons de ce qu'on pourrait penser au premier abord.

Cette spécificité se rapproche beaucoup de celle qui a été constatée par de nombreux expérimentateurs pour les albumines des Schizomycètes. Cela s'accorde du reste avec le fait que dans les cryptogames, les classes qu'on a créées au point de vue botanique, sont bien plus nombreuses des classes des phanérogames, et nous savons que H a e c k e l ¹⁾ avait même proposé de séparer les champignons du règne végétal pour les placer dans celui des protistes.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

Die Immunisierung von Kaninchen mit Eiweiß von *Agaricus muscarius* erlaubt, spezifische Präzipitine für diesen Pilz zu präparieren.

1) Histoire de la création. Paris, p. 343.

Nachdruck verboten.

[Laboratoire Biologique de St-Pétersbourg.]

Sur l'origine des spermotoxines.

Par **S. Metalnikov et J. Strelnikov.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Januar 1913.)

Les spermotoxines, de même que toutes les autres cytotoxines ayant une structure complexe, c'est à dire étant composées d'alexines et d'ambocepteurs, le problème de l'origine des spermotoxines est le problème de l'origine de l'ambocepteur spécifique et de alexine.

Dans quels organes et quels tissus se forment ces deux principes qui jouent un rôle si important dans le phénomène de l'immunité?

Ce problème est d'un grand intérêt tant au point de vue théorique qu'au point de vue pratique. Ce n'est qu'après avoir résolu ce problème et après avoir étudié les phénomènes ayant lieu au cours de l'immunisation, que nous pourrions utiliser dans des buts thérapeutiques toutes les propriétés guérissantes que l'organisme possède. C'est pourquoi beaucoup de chercheurs ont essayé depuis longtemps d'aborder la solution de ce problème.

D'un côté il existe une série de travaux qui démontrent que les anticorps se forment dans des organes déterminés, principalement dans la rate, dans la moelle osseuse et dans les organes hématopoiétiques.

Pfeiffer et Marx (1), qui ont opéré sur des vibrions du choléra, ont montré que chez des lapins immunisés contre le choléra les anticorps se trouvent dans la moelle osseuse, dans la rate et dans les glandes lymphatiques en plus grande quantité que dans le sérum. Ces observations ont été confirmées par Wassermann, Castellani, Jatta et par beaucoup d'autres chercheurs. D'un autre côté il y a des travaux qui infirment la thèse selon laquelle les anticorps ne se forment pas dans des organes déterminés et qui démontrent que la production d'anticorps a lieu dans les endroits même où l'on injecte l'antigène.

Il faut d'abord citer le travail de Deutsch, qui a montré que chez les animaux qui ont subi l'ablation de la rate la production d'anticorps

n'est pas gênée, c'est pourquoi cet auteur conclut: „Il n'y a pas d'organe formateur, il n'y a que des endroits de formation“ (2).

Römer (3) a fait une expérience intéressante qui confirme cette conception. Il a immunisé des lapins en leur injectant dans l'œil de l'abrine et il a constaté que la conjonctive de l'œil qui a reçu l'injection protège des souris contre une dose mortelle d'abrine, tandis que l'autre œil ne possède pas cette propriété.

Des expériences analogues ont été faites par Dungern (4). Cet auteur injecta dans la chambre antérieure de l'œil droit du sang du crabe *Maja squinata*. Huit jours après, le liquide de la chambre antérieure de l'œil droit donna un précipité avec le sérum du crabe, tandis que le liquide de l'œil gauche et le sérum du lapin ne formaient pas encore de précipité. Le lendemain les précipitines ont apparu dans l'œil gauche et dans le sérum.

Sous ce rapport il est intéressant de citer les expériences de Wassermann et Citron (5). Ils ont immunisé trois lapins avec des bacilles typhiques vivants. Un lapin a été injecté par voie intraveineuse, le deuxième par voie intrapleurale, le troisième par voie intrapéritonéale. Neuf jours après on a examiné les sérums et les exsudats (péritonéal et pleural) au point de vue de leurs propriétés bactéricides et on a constaté que le sérum du lapin injecté par voie intraveineuse présentait les propriétés bactéricides les plus prononcées. L'exsudat pleural présenta le pouvoir bactéricide le plus élevé chez le lapin auquel on avait injecté les bacilles dans la plèvre; on a observé l'exsudat péritonéal le plus bactéricide chez le lapin immunisé par voie intrapéritonéale. Tous ces faits semblent plaider en faveur de la thèse selon laquelle les anticorps se forment là où des bactéries ou d'autres antigènes se trouvent en contact avec des cellules de l'organisme.

Le sang, les exsudats de diverses cavités du corps et les différents organes contenant des phagocytes en grande quantité, on doit se demander si ce ne sont pas les phagocytes qui jouent le rôle principal dans la formation des anticorps. Cette supposition paraît d'autant plus probable que les bactéries et les autres éléments cellulaires sont englobés par les phagocytes et digérés par eux. Si l'on se place à ce point de vue, les anticorps ne sont pas autre chose que des ferments de la digestion intracellulaire des phagocytes. Tel est le point de vue de Metschnikoff (6) et de ses élèves. Beaucoup de chercheurs ont signalé que les propriétés bactéricides du sérum dépendent des leucocytes. Gengou a montré qu'un volume déterminé de microphages contient plus de substances bactéricides que le même volume de sérum. Les macrophages, au contraire, ne contiennent pas de substances semblables. Gengou a établi aussi que le plasma sanguin (c'est à dire la partie liquide du sang obtenue dans des conditions qui permettent de séparer les leucocytes sans les détruire) ne contient pas de substances bactéricides. Ce fait a été confirmé par Levaditi, qui s'est servi d'une méthode qui se distingue de celle de Gengou. Il faut enfin mentionner les travaux de Tarassevitch (7), qui a travaillé sur les

hémolysines au laboratoire de Metschnikoff. Cet auteur dit notamment: „Les extraits de microphages sont bactéricides, mais ne sont pas hémolytiques, même l'addition d'un hémofixateur spécifique n'est pas capable de les activer . . . c'est le contraire quia lieu pour les extraits de macrophages.

Les propriétés respectives des organes et des exsudats macrophagiques et celles des organes microphagiques doivent être attribuées à deux cytases différentes: la macrocytase active vis-à-vis des cellules animales dans le premier cas et la microcytase active vis-à-vis des microbes dans le second; ces deux cytases ne passent dans le humeurs que par suite de la destruction des leucocytes correspondants.“

Les résultats de ces expériences n'ont pas été pleinement confirmés par d'autres auteurs. C'est ainsi qu'on a constaté que les cytases que l'on extrait de leucocytes ne sont pas identiques avec celles que l'on trouve dans le sérum. Heim (8) arrive à la conclusion que dans l'immunisation contre les pneumocoques les muscles sont particulièrement saturés d'anticorps.

Bezzola (9) démontre, au contraire, que dans l'immunisation contre le choléra le sérum contient 16 fois plus de principes bactéricides que l'extrait des muscles.

On a essayé de résoudre ce problème en l'abordant par d'autres voies. Friedberger et Girgolaff (10) ont immunisé des lapins contre le vibrion de Metschnikoff. Après un certain temps, lorsque le sérum de l'animal agglutinait à une dilution de $1/640$ et plus, ils saignaient l'animal à blanc. On lavait les tissus avec une solution physiologique et on transplantait de petits morceaux de la rate et des reins dans la cavité péritonéale d'autres lapins. Plusieurs jours après l'opération on examinait le sérum au point de vue de son pouvoir agglutinant.

Il s'est vérifié que les animaux opérés possèdent un pouvoir agglutinant vis-à-vis du vibrion de Metschnikoff, bien qu'ils n'aient pas été infectés par ce microbe. Les morceaux d'organes d'un animal immunisé continuent ainsi de produire des anticorps même dans le cas où on les transporte dans un autre organisme. La greffe de morceaux des reins a donné dans ce cas les mêmes résultats que le greffe de morceaux de la rate. Il résulte ainsi de ces expériences que les reins de même que la rate prennent part à la production d'anticorps.

En dépit de la quantité énorme de travaux qu'il a suscité, le problème de savoir quel est l'origine des anticorps et où ils se trouvent dans l'organisme reste ouvert. C'est pourquoi il nous a semblé intéressant d'entreprendre une série d'expériences dans cette direction, d'autant plus que les spermotoxines présentent certains avantages en comparaison avec les hémolysines.

Il m'a semblé d'abord nécessaire de séparer le problème de savoir où se trouvent les anticorps du problème de leur origine. En effet, le fait que les alexines se trouvent toujours dans le sang ne prouve pas encore qu'ils se forment aussi dans le sang; de même la teneur en anticorps d'un organe ne prouve encore rien, un organe peut produire des anticorps sans les accumuler, l'accumulation d'anticorps peut avoir lieu dans le sérum ou dans d'autres tissus ou organes.

Nous avons opéré dans nos expériences non seulement sur des animaux à autospermotoxines, mais aussi sur des animaux à hétérospermotoxines. Vu leurs hétérospermotoxines plus fortes, ceux-ci se sont montrés plus appropriés à nos expériences.

Pour obtenir des hétérospermotoxines nous avons injecté aux lapins les spermatozoïdes de cobaye. Deux à trois injections suffisaient pour provoquer de fortes spermotoxines. L'expérience présentait cette complication que le sérum normal de lapin est toxique pour les spermatozoïdes de cobaye. Mais il suffit de chauffer ce sérum à 56° pour le priver de ces propriétés toxiques, qu'il ne récupère plus (ou ne récupère qu'en très faible proportion) si on ajoute de l'alexine (sérum normal de cobaye). Le sérum chauffé d'un lapin immunisé mélangé d'alexine agit immédiatement sur les spermatozoïdes, ce qui prouve que ce sérum contient un ambocepteur spécifique. Les expériences ayant en vue de déterminer la teneur en ambocepteurs ont été ainsi faites d'après le schéma suivant: Sérum chauffé à 56° de lapin + sérum normal de cobaye + sperme de cobaye.

Pour déterminer la teneur en ambocepteurs des tissus et des organes d'un animal immunisé on prenait de petits morceaux (d'un poids déterminé) de ces organes et on les broyait dans un mortier avec un peu de sable ou de verre fin; on ajoutait ensuite une petite quantité de solution physiologique (3 gouttes de solution physiologique pour 1 centigr.). On gardait le mélange à la glacière jusqu'au lendemain, on le centrifugeait et on examinait l'extrait transparent en vue de déterminer la teneur en ambocepteurs d'après le schéma indiqué.

Nous nous sommes servis pour la préparation des extraits de leucocytes (polynucléaires ainsi que mononucléaires) de méthodes de A. Petterson et de C. Kling. On ajoute au bouillon un mélange d'aleurone, de farine de pomme de terre et d'une petite quantité de farine de froment, on fait bouillir jusqu'à ce que le mélange ait formé

une masse uniforme, pas trop épaisse. On stérilise 15 minutes à l'autoclave. La masse est alors prête pour l'injection. On injecte aux lapins 10 c.c. dans le péritoine ou dans la plèvre. Les cobayes reçoivent des doses un peu plus petites. On répète l'injection 12—24 heures plus tard. 12 heures après la seconde injection l'animal est sacrifié, on ouvre le péritoine et on le lave avec une solution physiologique à oxalate de sodium (1—4 pour 1000). On recueille l'exsudat en se servant d'une pipette stérile, on le centrifuge et on le lave plusieurs fois dans la solution physiologique. Les leucocytes lavés sont broyés dans un mortier, placés pour $1/2$ heure à l'étuve, ensuite gardés à froid. C'est ainsi que l'on prépare l'exsudat des polynucléaires.

Pour préparer l'exsudat mononucléaire on injecte dans le péritoine une émulsion de blanc d'œuf. On fait l'émulsion en diluant le blanc d'œuf dans 4—10 volumes de solution physiologique et en le chauffant à petit feu jusqu'à ce que ce blanc d'œuf ait formé une émulsion fine. On stérilise l'émulsion durant 15 minutes à 100°. On injecte dans le péritoine 10—20 c.c., on répète l'injection 24 heures plus tard. Le 4ième jour après la première injection on sacrifie l'animal et on recueille l'exsudat en se servant de la technique indiquée plus haut. L'exsudat que l'on obtient dans ce cas contient principalement des mononucléaires.

Avant de commencer les expériences sur les animaux immunisés, il fallait voir comment agissent les extraits d'organes d'un lapin normal sur les spermatozoïdes de cobaye.

Expérience No. 1. Action des extraits de lapin normal sur les spermatozoïdes de cobaye.

Extrait de la moelle osseuse	+	sperme de cobaye	plus de 20 heures
de la rate	+	” ” ”	” ” 20 ”
du foie	+	” ” ”	” ” 20 ”
des reins	+	” ” ”	” ” 20 ”
du cœur	+	” ” ”	” ” 20 ”
des poumons	+	” ” ”	” ” 20 ”
du pancréas	+	” ” ”	” ” 11 minut.
du mesentère	+	” ” ”	” ” 20 heures
des polynucléaires	+	” ” ”	” ” 20 ”

Essai des mêmes extraits + aléxine c. à d. sérum normal de cobaye.

Extrait de la moelle osseuse	+	aléxine	+	sperme de cobaye	plus de 2 heures
de la rate	+	”	+	” ” ”	” ” 2 ”
du foie	+	”	+	” ” ”	” ” 2 ”
des reins	+	”	+	” ” ”	” ” 2 ”
du cœur	+	”	+	” ” ”	” ” 2 ”
des poumons	+	”	+	” ” ”	” ” 2 ”
du pancréas	+	”	+	” ” ”	” ” 1 h. 30 min.
du mesentère	+	”	+	” ” ”	” ” 1 „ 30 ”
des polynucléaires	+	”	+	” ” ”	” ” 1 „ 30 ”

Expérience No. 2.

On a injecté au lapin No. 22 à trois reprises des spermatozoïdes de cobaye. Deux semaines après la première injection on a pris à l'oreille quelques gouttes de sang et on en a préparé un sérum qui a été chauffé durant une demi heure à 56°, on a examiné ensuite le sérum au point de vue de son action sur les spermatozoïdes de cobaye d'après le schéma suivant: sérum de lapin chauffé à 56° + aléxine + sperme de cobaye.

Ce mélange tue le sperme en 5 minutes. Le 9 et 10 mai le lapin à reçu des injections de blanc d'œuf. Le 12 mai il a été sacrifié et l'exsudat que l'on a obtenu était presque exclusivement mononucléaire. Les extraits des leucocytes et d'autres organes ont été préparés d'après la méthode de Petterson.

On a examiné d'abord l'action des extraits, puis l'action des mêmes extraits + aléxine.

Mononucléaires + sperme de cobaye	plus de 5 heures
Rate + " " " " " "	5 "
Moelle osseuse + " " " " " "	5 "
Foie + " " " " " "	5 "
Rein + " " " " " "	5 "
Mesentère + " " " " " "	8 minut.
Muscles + " " " " " "	5 heures
Cerveau + " " " " " "	5 "

Les mêmes extraits + sérum normal de cobaye.

Mononucléaires + aléxine + sperme de cobaye	plus de 4 heures
Rate + " + " " " " "	1 h. 40 min.
Moelle osseuse + " + " " " " "	40 "
Foie + " + " " " " "	2 h.
Rein + " + " " " " "	1 "
Mesentère + " + " " " " "	2 "
Muscles + " + " " " " "	45 min.
Cerveau + " + " " " " "	2 h. 45 "
Sérum + " + " " " " "	12 "

Expérience No. 3. Action des extraits de mononucléaires sur les spermatozoïdes de cobaye.

On a injecté au lapin No. 25 le sperme de cobaye. Après l'apparition des spermotoxines on a injecté au même lapin à deux reprises, dans le péritoine et dans la plèvre, une émulsion de blanc d'œuf. Le lapin a été sacrifié, on l'a saigné à blanc et on a recueilli les exsudats. On constata dans les exsudats environ 90 % de mononucléaires.

Action des extraits:

Moelle osseuse + sperme	plus de 5 heures
Rate + " " " " " "	5 "
Foie + " " " " " "	5 "
Rein + " " " " " "	5 "
Mesentère + " " " " " "	8 min.
Mononucléaires + " " " " " "	5 heures

Les mêmes extraits + aléxine:

Moelle osseuse	+	alexine	+	sperme	40 min.
Rate	+	"	+	"	20 "
Foie	+	"	+	"	20 "
Rein	+	"	+	"	1 heure
Mononucléaires	+	"	+	"	plus de 4 hrs.

Expérience No. 4.

On a injecté au lapin No. 23 des spermatozoïdes de cobaye, après l'apparition des spermotoxines on lui a fait une injection d'aleurone, il a été sacrifié ensuite et on a préparé des extraits de ses organes.

Extraits sans alexines:

Moelle osseuse	+	sperme	plus de 5 heures
Cœur	+	"	" " 5 "
Rein	+	"	" " 5 "
Rate	+	"	" " 5 "
Poumon	+	"	" " 5 "
Foie	+	"	" " 5 "
Polynucléaires	+	"	" " 5 "

Les mêmes extraits + aléxine:

Moelle osseuse	+	aléxine	+	sperme	13 min.
Cœur	+	"	+	"	12 "
Rein	+	"	+	"	15 "
Rate	+	"	+	"	18 "
Poumon	+	"	+	"	13 "
Foie	+	"	+	"	12 "
Polynucléaires	+	"	+	"	2 heures

Nous avons fait des expériences analogues sur des animaux à autospermotoxines, c'est à dire sur des cobayes qui élaboraient des toxines pour leurs propres spermatozoïdes.

Dans 2 cas nous avons obtenu des résultats identiques à ceux des expériences précédentes sur des lapins, dans deux autres cas les résultats furent moins nets, les toxines ont été dans ces cas plus faibles et moins stables.

Vu cette constatation, nous avons opéré dans nos expériences concernant ce problème principalement sur des lapins que l'on immunisait contre les spermatozoïdes de cobaye.

Nous donnons ci-dessous une description détaillée de l'expérience sur un cobaye à autospermotoxines.

Expérience No. 5. Action des extraits d'un cobaye à autospermotoxines sur les spermatozoïdes de cobaye.

On a injecté au cobaye No. 6 à trois reprises des spermatozoïdes de cobaye. Après l'apparition des spermotoxines le cobaye a été sacrifié, on l'a saigné à blanc et on a lavé les organes avec la solution physiologique. On a préparé des extraits d'après la méthode de Petterson.

Le lendemain on a examiné tous les extraits au point de vue de leur action sur les spermatozoïdes de cobaye. Les spermatozoïdes sont restés vivants très longtemps dans ces extraits.

Extrait du poumon	50 heures	
" du foie	27	"
" des muscles	138	"
" du mesentère	1	" 25 min.
" de l'utérus	50	"
" de la moelle osseuse	45	"
" de la rate	4	"
" du cœur	60	"
" du cerveau	122	"

Les mêmes extraits mélangés d'alexine (sérum normal de cobaye) tuent les spermatozoïdes :

Extrait du poumon	+ alexine	+ sperme	23 min.
" du foie	+	+	25 "
" des muscles	+	+	1 hr. 45 min.
" du mesentère	+	+	50 min.
" de la matrice	+	+	30 "
" de la moelle osseuse	+	+	30 "
" de la rate	+	+	40 "
" du cœur	+	+	35 "
" du cerveau	+	+	10 hrs.

Cette expérience présente un intérêt à plusieurs points de vue. On voit tout d'abord que les spermatozoïdes gardent leur vitalité d'une façon bien prononcée dans des extraits de plusieurs organes. Tandis que les spermatozoïdes ne restent vivants dans une solution physiologique ou dans le liquide de Locke que durant 24 heures ou un peu plus, ils vivaient dans les extraits du cerveau et des muscles environ 5 jours. Il était aussi intéressant de constater que les ambocepteurs pénètrent dans tous les organes, le cerveau excepté; dans le cerveau les ambocepteurs ne se trouvent qu'en petite quantité.

De toutes les expériences citées il se dégage la conclusion que les extraits de divers organes ne contiennent pas de spermotoxines complètes, de spermotoxines qui auraient pu exercer une action spermatoicide analogue à l'action des sérums des mêmes animaux.

Mais dès qu'on ajoute à ces extraits du sérum normal de cobaye, c'est à dire de l'alexine, ils deviennent aussitôt toxique pour les spermatozoïdes de cobaye. Il s'ensuit que la substance spécifique de la spermotoxine, c'est à dire l'ambocepteur, est transportée, à mesure qu'elle se forme, dans toutes

les parties de l'organisme, qu'elle pénètre dans toutes les cavités, dans tous les organes, le cerveau excepté.

Les extrait d'organes ne contiennent pas, à ce qu'il paraît, la seconde substance de la toxine, l'alexine.

L'autre particularité que l'on constate, c'est l'absence d'ambocepteurs dans les extraits de leucocytes (polynucléaires ainsi que mononucléaires). Cette constatation paraît d'autant plus étrange que ces cellules auraient dû, semble-t-il, jouer le rôle principal dans la préparation des divers anticorps.

Mais avant de conclure d'une façon définitive sur le rôle des leucocytes dans la préparation des ambocepteurs, nous avons voulu vérifier nos résultats en nous servant de la méthode de Stenström qui a travaillé au laboratoire de A. Pettersson.

Stenström, comme on le sait, injectait sous la peau ou dans le péritoine des bactéries mélangées de leucocytes (polynucléaires et mononucléaires). Aux animaux de contrôle on injectait la même quantité de bactéries sans leucocytes.

On examinait ensuite le sang de l'animal au point de vue de sa teneur en agglutinines. On a constaté que chez les animaux de contrôle la production d'agglutinines était quatre fois plus forte que chez les animaux auxquels on a injecté un mélange de bactéries et de leucocytes. „On voit ainsi, dit M. Stenström, que les leucocytes ne jouent pas non seulement de rôle dans l'élaboration d'agglutinines, mais leucocytes. „On voit ainsi, dit M. Stenström, que les leucocytes non seulement ne jouent pas de rôle dans l'élaboration d'agglutinines, mais qu'au contraire une phagocytose trop prononcée gêne la production d'agglutinines. C'est pourquoi lorsqu'on veut en se servant d'injections répétées obtenir une production plus forte d'anticorps, il ne faut pas répéter trop souvent les injections, puisque dans ce cas l'affluence de leucocytes provoquée par l'injection de l'antigène ne peut pas disparaître à temps.“

Nous avons répété les expériences de Stenström sur 8 lapins. Nous avons injecté à quatre lapins une émulsion de spermatozoïdes dans le péritoine, à quatre autres lapins on a injecté la même quantité de spermatozoïdes mélangée de leucocytes de lapin. Nous avons obtenu les leucocytes d'après la méthode indiquée plus haut. On centrifugeait l'exsudat polynucléaire, on le lavait plusieurs fois avec de la solution physiologique, on le mélangeait avec des spermatozoïdes de cobaye et on injectait le mélange dans le péritoine

du lapin. Déjà *in vitro* les spermatozoïdes sont rapidement phagocytés, d'ordinaire le leucocyte englobe d'abord la tête du spermatozoïde, tandis que la queue s'agite encore longtemps en dehors du phagocyte.

On répétait les injections 3—4 fois. A des intervalles déterminés nous faisons des prises de sang aux oreilles des lapins, or en préparait ensuite du sérum que l'on chauffait à 56° et que l'on examinait au point de vue de son action sur les spermatozoïdes de cobaye; ce sérum exerçant une action trop forte sur le sperme de cobaye, il était difficile de constater la différence entre les divers sérums, c'est pourquoi nous avons dilué les sérums, en ajoutant à une partie de sérum neuf parties d'eau physiologique.

Le lecteur trouvera ci-dessous le tableau où les résultats des examens des sérums sont exprimés par des chiffres. Les chiffres indiquent le nombre de minutes nécessaires pour tuer les spermatozoïdes de cobaye par le sérum donné. On essayait les sérums tous les 4—5 jours.

Action des sérums des lapins auxquels on a injecté
le sperme seul.

Lapin 5.	11, 26, 10 = 47:3 = 15.6.
„ 7.	11, 15, 9, 5, 9, 30, 23, 40, 10 = 162:9 = 18.
„ 13.	20, 25, 16, 35, 8 = 104:3 = 20.8.
„ 16.	17, 22, 16, 8 = 63:4 = 15.75.

Action des sérums des lapins auxquels on a injecté un
mélange de sperme et de leucocytes.

Lapin 9.	11, 17, 9, 8 = 45:4 = 11.2.
„ 10.	7, 16, 8, 8, 6, 14, 10, 10, 9 = 88:9 = 9.7.
„ 14.	14, 10, 15 = 39:3 = 13.
„ 15.	38, 22, 45, 8 = 110:4 = 27.5.

Afin de faciliter la comparaison j'ai calculé le chiffre moyen pour chaque lapin, en additionnant les nombres représentant la force d'action du sérum dans chaque essai et en divisant la somme ainsi obtenue par le nombre d'essais. Ainsi par exemple, le sérum du lapin a été essayé 3 fois; la première fois il a tué les spermatozoïdes en 11 minutes, la deuxième fois en 26 minutes, la troisième fois en 10 minutes, en additionnant on obtient le total de 47 et en divisant par 3 — 15.6.

En comparant ces chiffres moyens, on voit que les sérums des lapins (9, 10, 14, 15) auxquels on a injecté le mélange de sperme et de leucocytes agissent un peu plus vite que les sérums des lapins auxquels on a injecté le sperme seul (5, 7, 13, 16). Il n'y a qu'une seule exception c'est, le lapin 15; ce lapin a produit un sérum très faible, bien qu'il ait été injecté avec un mélange de sperme et de leucocytes.

En se basant sur ces expériences, il est vrai, peu nombreuses, on pourrait arriver à la conclusion que les leucocytes jouent un certain rôle dans l'élaboration des ambocepteurs. Mais il nous a paru que les différences entre les sérums des animaux auxquels on a injecté le sperme seul et les sérums des animaux auxquels on a injecté le mélange de sperme et de leucocytes n'est pas assez considérable pour permettre de se prononcer d'une manière définitive sur le rôle des leucocytes dans la production d'ambocepteurs. C'est pourquoi nous ne nous sommes pas contentés de ces expériences et nous nous sommes décidés à chercher des voies nouvelles.

Dans les cas où nous introduisons dans le péritoine un antigène quelconque, par exemple les spermatozoïdes, seuls ou en mélange avec des leucocytes, les antigènes ne restent pas longtemps dans l'exsudat péritonéal, mais sont englobés vite par les leucocytes, qui se fixent en partie sur le mésentère et passent en partie dans d'autres organes internes. En provoquant ensuite à l'aide de l'injection d'aleurone ou d'albumine dans le péritoine l'affluence des leucocytes, nous ne trouvons plus les leucocytes qui ont englobé et digéré les spermatozoïdes, mais d'autres leucocytes. Dès lors il est très naturel que les extraits préparés des leucocytes semblables ne contiennent pas d'ambocepteurs. Pour obtenir des ambocepteurs des leucocytes, nous aurions dû retenir d'une manière quelconque les leucocytes qui ont mangé les spermatozoïdes dans le péritoine, ne pas permettre aux leucocytes de passer dans les organes internes, ou plus simplement, nous aurions dû faire la prise d'exsudat peu de temps après l'injection de l'antigène. C'est de cette manière que nous avons voulu élucider le problème du rôle des leucocytes dans la production des ambocepteurs.

On injectait aux lapins des spermatozoïdes de cobaye. Plus tard on injectait de l'aleurone et puis de l'aleurone mélangé de spermatozoïdes. Quelques heures après cette seconde injection on sacrifiait l'animal et l'exsudat était extrait comme d'ordinaire.

Expérience No. 6. Action des extraits d'organes d'un lapin spermotoxique sur le sperme de cobaye.

On a injecté au lapin spermotoxique No. 19 le 16 avril, un mélange de sperme de cobaye, et d'aleurone. Le 17 avril on a injecté au lapin dans le péritoine un mélange d'aleurone et de sperme de cobaye. On a injecté dans la plèvre de l'aleurone sans sperme. Le 18 avril le cobaye a été sacrifié, on a éloigné le sang et les exsudats et on a préparé des extraits de ses organes.

Action des extraits simples:

Rate	+	sperme	16 heures
Foie	+	"	16 "
Rein	+	"	16 "
Cœur	+	"	16 "
Muscles	+	"	16 "
Ovaire	+	"	16 "
Moelle osseuse	+	"	16 "
Cerveau	+	"	16 "
Mésentère	+	"	16 "
Leucocytes	+	"	15 "
Leucocytes	+	"	15 "

Action de mêmes extraits + aléxine:

Rate	+	aléxine	+	sperme	15 min.
Foie	+	"	+	"	24 "
Rein	+	"	+	"	25 "
Cœur	+	"	+	"	20 "
Muscles	+	"	+	"	1 heure
Ovaire	+	"	+	"	16 min.
Moelle osseuse	+	"	+	"	25 "
Cerveau	+	"	+	"	plus de 5 heures
Leucocytes de la plèvre	+	"	+	"	plus de 5 heures
Leucocytes du péritoine	+	"	+	"	1 heure 20 min.

Expérience No. 7. Action des extraits d'organes d'un lapin spermotoxique sur sperme de cobaye.

On a injecté au lapin No. 17 des spermatozoïdes de cobaye. Lors que le lapin est arrivé à produire une spermotoxine forte, on lui a injecté dans la plèvre une émulsion d'aleurone et dans le péritoine un mélange d'aleurone et de spermatozoïdes de cobaye, 24 heures plus tard l'animal a été sacrifié, on a éloigné le sang et les exsudats et on a préparé des extraits des organes lavés. On a essayé d'abord l'action des extraits simples sur le sperme de cobaye, puis l'action des extraits + aléxine.

Action des extraits fraîchement préparés sur le sperme de cobaye.

Mesentère	+	Sperme de cobaye	8 min.
Cœur	+	id.	15 heures
Rein	+	"	15 "
Foie	+	"	15 "
Rate	+	"	15 "
Ovaire	+	"	20 "
Muscles	+	"	20 "
Cerveau	+	"	plus de 20 hrs.
Moelle osseuse	+	"	17 heures
Polynucléaires	+	"	1 hr. 30 min.
Polynucléaires	+	"	17 heures

Les mêmes extraits + aléxine:

Mesentère	+	aléxine	+	sperme	17 min.
Cœur	+	"	+	"	25 "
Rein	+	"	+	"	18 "
Foie	+	"	+	"	17 "
Rate	+	"	+	"	20 "
Ovaire	+	"	+	"	16 "
Muscles	+	"	+	"	32 "
Cerveau	+	"	+	"	61 "
Polynucléaires du péritoine	+	"	+	"	15 heures
Polynucléaires	+	"	+	"	30 min.

Expérience No. 8. Action des extraits d'organes d'un lapin spermotoxique sur le sperme de cobaye.

On a injecté au lapin No. 14, de même que dans l'expérience précédente un mélange d'aleurone et de sperme de cobaye.

Action des extraits simples:

Mesentère	+	sperme	2 heures
Moelle osseuse	+	"	20 "
Rate	+	"	20 "
Cerveau	+	"	40 "
Muscles	+	"	40 "
Polynucléaires	+	"	40 "

Les mêmes extraits + aléxine:

Mesentère	+	aléxine	+	sperme	16 min.
Moelle osseuse	+	"	+	"	15 "
Rate	+	"	+	"	1 hr. 28 min.
Cerveau	+	"	+	"	2 "
Muscles	+	"	+	"	2 " 15 "
Polynucléaires	+	"	+	"	30 min.

Expérience No. 9. Action des extraits des mononucléaires sur les spermatozoïdes de cobaye.

On a injecté au lapin No. 18 du sperme de cobaye. Après l'apparition de la spermotoxine, on a injecté au lapin à deux reprises de l'émulsion d'albumine d'œuf. On a injecté dans le péritoine un mélange d'albumine et de sperme de cobaye. L'exsudat obtenu contenait environ 80 % de mononucléaires.

Action des extraits sans aléxine:

Globules rouges du sang	+	sperme		20 heures
Moelle osseuse	+	"		20 "
Rate	+	"		10 "
Muscles	+	"		20 "
Mononucléaires	+	"	plus de	2 "
Mononucléaires	+	"		2 "

Les mêmes extraits + aléxine:

Moelle osseuse	+	aléxine	+	sperme		20 min.
Rate	+	"	+	"		40 "
Muscles	+	"	+	"		2 "
Globules rouges	+	"	+	"		20 "
Mononucléaires	+	"	+	"	plus de	2 hrs.
Mononucléaires du péritoine	+	"	+	"		1 hrs. 30 min.

En nous basant sur les expériences citées nous pouvons arriver à la conclusion suivante: chez les lapins qui produisent une spermotoxine, l'ambocepteur pénètre dans les organes et tissus.

Cette fois-ci nous trouvons dans les extraits de polynucléaires l'ambocepteur en grande quantité.

Les expériences No. 6 et 7 présentent un intérêt particulier. Les lapins No. 17 et 19 ont reçu dans la plèvre des injections d'aleurone seule, dans le péritoine des injections de mélange d'aleurone et de spermatozoïdes.

La différence entre les leucocytes de la cavité péritonéale et les leucocytes de la cavité pleurale a été très prononcée.

Tandis que les spermatozoïdes restaient encore vivants après un séjour de 15 heures dans les extraits de leucocytes de la plèvre, ils ne supportaient qu'un séjour de 30 minutes dans les extraits de la cavité péritonéale.

Nous n'avons constaté d'ambocepteurs qu'en petite quantité dans les extraits de mononucléaires (exp. No. 9). Ces expériences montrent que les leucocytes jouent un rôle dans la formation des ambocepteurs. On pourrait certainement objecter que les preuves directes de ce que les ambocepteurs sont produits par les leucocytes et que les leucocytes ne se sont pas imprégnés d'ambocepteurs, comme les autres organes et tissus, font néanmoins défaut. Afin d'élucider ce problème nous avons fait une série d'expériences.

Tout d'abord nous avons tâché d'isoler l'antigène, c'est à dire les spermatozoïdes, de tous les autres organes de l'orga-

nisme, afin de nous convaincre que nul autre organe ne prend part à la production d'ambocepteurs.

A cet effet nous avons introduit dans le péritoine des sacs de collodion contenant une émulsion de spermatozoïdes. Beaucoup de ces expériences n'ont pas réussi, les sacs ayant crevé et leur contenu ayant pénétré dans le péritoine de l'animal; il est aussi arrivé que les sacs se sont contaminés par d'autres microbes. Plusieurs expériences ont cependant pleinement réussi et ont donné des résultats intéressants.

Expérience No. 10.

Le 16 janvier on a introduit dans la cavité péritonéale de la lapine No. 54 un sac de collodion contenant du sperme de cobaye. On a essayé à plusieurs reprises le sérum de l'animal en vue de déterminer sa teneur en ambocepteurs d'après le schéma suivant:

Sérum chauffé à 56° + aléxine (sérum normal de cobaye) + sperme de cobaye.

24 janvier	plus de 30 minutes	
7 février	" " 30 "	
14 "	" " 10 "	arrêt complet
21 "	" " 6 "	
25 "	" " 20 "	

Cette expérience nous montre que le sperme ambocepteur est apparu chez le lapin à peu près un mois après l'introduction de spermatozoïdes et que dix jours plus tard c'est à dire le 28 février il a commencé déjà à s'atténuer.

Le 25 février l'animal a été sacrifié. On a pris le sang et l'exsudat de la cavité péritonéale. On a préparé des extraits de plusieurs organes et des leucocytes.

Le sac de collodion n'a pas crevé, il a été entouré d'une capsule en tissu conjonctif. Nous avons constaté dans le sac beaucoup de spermatozoïdes, il faut signaler qu'ils étaient immobiles. On a examiné le contenu du sac et l'extrait de la capsule au point de vue de leur action sur le sperme de cobaye.

Contenu du sac + sperme de cobaye	3 heures	
Capsule + id.	2 "	10 min.
Rein + "	2 "	15 "
Moelle osseuse + "	2 "	10 "
Cœur + "	3 "	— "
Rate + "	15 "	— "
Polynucléaires + "	15 "	— "
Exsudat + "	—	40 "
Sérum + "	—	5 "

Les mêmes extraits + aléxine:

Contenu du sac	+ aléxine	+ sperme		30 min.
Capsule	+	"	+	1 heure — "
Rein	+	"	+	1 " 30 "
Cœur	+	"	+	2 " — "
Rate	+	"	+	14 " — "
Moelle osseuse	+	"	+	1 " — "
Polynucléaires	+	"	+	14 " — "

Cette expérience montre que les ambocepteurs peuvent se former même dans le cas où l'antigène (les spermatozoïdes dans notre cas) est isolé par une enveloppe de collodion de tous les autres organes et cellules. L'ambocepteur qui se forme dans ce cas a une force d'action presque égale à celle de l'ambocepteur produit par l'organisme après l'injection d'une émulsion de spermatozoïdes dans le péritoine ou sous la peau. Il est intéressant que l'ambocepteur se forme en dépit de l'absence de phagocytose. A l'intérieur du sac et aussi dans la capsule en tissu conjonctif, nous trouvons une quantité assez grande d'ambocepteurs, l'extrait des polynucléaires ne contient pas d'ambocepteurs.

La technique des sacs de collodion présentant beaucoup de difficultés et d'inconvénients, nous avons eu recours à d'autres méthodes. Nous avons essayé d'introduire dans la cavité péritonéale non des sacs de collodion mais des testicules entiers. Il fallait voir si en introduisant dans la cavité péritonéale le testicule d'un autre animal ou du même animal on arrive à provoquer la production d'anticorps. A cet effet on ouvrait la cavité péritonéale de l'animal, on enlevait le testicule et on le laissait dans la cavité péritonéale de l'animal même ou on le transportait dans la cavité péritonéale d'un autre animal. Dans plusieurs cas nous avons préféré, au lieu d'enlever le testicule, de ligaturer les vaisseaux et les vas deferens afin d'isoler le testicule et de faire ainsi l'expérience sans soumettre l'animal à une opération chirurgicale.

Expérience No. 11.

Le 24 octobre on a introduit dans la cavité péritonéale du lapin No. 30 (c'était un mâle) le testicule de cobaye. On a essayé à plusieurs reprises le sérum en vue de déterminer sa teneur en ambocepteurs d'après le schéma suivant:

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XVII.

14

Sérum du lapin chauffé à 56° + sérum normal de cobaye (aléxine) + sperme de cobaye.

7 novembre	14 min.	arrêt complet
10 "	13 "	" " "
23 "	6 "	" " "
28 "	15 "	" " "

Le 28 novembre le lapin a été sacrifié. On a enlevé le testicule de cobaye de la cavité péritonéale. Le testicule était entouré d'une capsule assez épaisse et d'une petite quantité de pus. On a préparé des extraits du contenu de la capsule, du pus et de la capsule elle-même. On a aussi préparé des extraits du poumon de la moelle osseuse. Le lendemain on a examiné les extraits au point de vue de leur teneur en ambocepteurs d'après le schéma habituel:

Contenu de la capsule + aléxine + sperme	—	hr.	20 min.
Capsule et pus	+	"	20 "
Moelle osseuse	+	"	20 "
Poumon	+	"	15 "
Testicule de lapin	+	"	plus de 2 hrs.

Expérience No. 12.

Le 8 novembre on a enlevé d'une façon stérile le testicule au cobaye No. 31 et on l'a transporté dans la cavité péritonéale du même animal. A des intervalles déterminés on examinait le sérum du cobaye au point de vue de son action sur les spermatozoïdes.

10 novembre	1 heure	30 min.
17 "		37 "
23 "		10 "
29 "		35 "
5 décembre		40 "
19 "	1 heure	35 "
2 janvier	3 heures	30 "
9 "	2 "	"

Le 16 janvier le cobaye a péri. On n'a pas retrouvé dans sa cavité péritonéale le testicule; il a été resorbé.

Expérience No. 13.

Le 10 novembre on a enlevé au cobaye No. 35 un testicule, les vaisseaux et les vas deferens de l'autre testicule ont été ligaturés par un fil de soie. L'examen du sérum a donné les résultats suivants:

17 novembre	20 min.
23 "	40 "
29 "	1 heure 20 "
5 décembre	—
19 "	3 heures 30 min.
2 janvier	1 heure 30 "
9 "	3 heures

Le 13 février le cobaye a péri. Au lieu du testicule on a trouvé dans la cavité péritonéale un petit corps grand comme un pois et soudé dé au mesentère.

Les expériences sur les testicules couverts d'une enveloppe en collodion présentent un intérêt plus grand. On enlevait des testicules à des lapins et à des cobayes avec toutes les précautions d'asepsie, on plongeait les testicules à plusieurs reprises dans une solution de collodion jusqu'à ce qu'une enveloppe assez épaisse se soit formée, toute la surface du testicule était ainsi couverte de collodion. On plaçait ensuite le testicule dans la cavité péritonéale du même animal ou d'un autre animal. Nous avons opéré de cette manière environ 10 animaux, 2 ont péri, les autres ont bien supporté l'opération et sont restés vivants durant 2 mois ou plus. De même que dans les expériences décrites plus haut, il se formait autour du testicule déjà deux mois après l'opération une capsule en tissu conjonctif assez épaisse qui adhérait d'ordinaire au mesentère, on pouvait observer dans les parois de la capsule une grande quantité de vaisseaux ramifiés. Dans les cas où l'opération n'était pas faite avec toutes les précautions d'asepsie parfaite on trouvait entre la capsule en tissu conjonctif et l'enveloppe en collodion du pus. Dans la plupart des cas cependant la capsule en tissu conjonctif adhérait bien à la couche de collodion. Dans les cas où le testicule se trouvait trop longtemps à l'intérieur de la capsule, il était évidemment autolysé. Son volume diminuait considérablement et on observait l'apparition d'un liquide. Parallèlement à ces expériences nous avons placé des testicules couverts de collodion dans des tubes à essai fermés et contenant un mélange de sérum et de solution physiologique, les tubes ont été gardés à l'étuve à 37° pendant l'intervalle que duraient les autres expériences. L'étude des produits d'autolyse se poursuivait parallèlement à l'étude des sérums et des extraits d'organes des animaux opérés.

Pour l'étude des changements subis par les testicules dans des capsules en collodion nous avons examiné leur structure histologique sur des sections transversales. Les résultats de cette étude seront exposés dans un mémoire spécial.

Dans tous les cas les testicules enfermés dans des enveloppes en collodion ont provoqué l'apparition, dans le sang des animaux opérés, des spermotoxines dont la force d'action n'était pas inférieure à celle des spermotoxines qui se forment après l'injection d'une émulsion de spermatozoïdes.

Expérience No. 14.

Le 17 novembre on a introduit dans la cavité péritonéale du lapin No. 40 un testicule de cobaye couvert de collodion. On a essayé à plusieurs reprises le sérum du lapin au point de vue de son action sur les spermatozoïdes de cobaye d'après le schéma suivant:

Sérum chauffé à 56° + aléxine + sperme:

17 novembre	plus de 60 min.	
23 "	" " 30 "	arrêt complet
29 "	" " 15 "	
5 décembre	" " 10 "	
7 "	" " 10 "	

Le 7 décembre le lapin a été tué. Le testicule de cobaye introduit dans la cavité péritonéale était couvert d'une capsule en tissu conjonctif. Le contenu de la capsule, c'est à dire le testicule de cobaye, la capsule, de même que plusieurs organes ont été broyés dans la solution physiologique. On a préparé des extraits, dont on a essayé l'action sur les spermatozoïdes de cobaye.

Contenu de la capsule + sperme de cobaye	plus de 20 min.
Capsule + " " " "	" " 3 hrs.
Moelle osseuse + " " " "	" " 3 "
Rate + " " " "	" " 3 "
Poumon + " " " "	" " 3 "

Les mêmes extraits + aléxine:

Contenu de la capsule + aléxine + sperme	12 min. arrêt complet
Capsule + " + " "	5 "
Moelle osseuse + " + " "	13 "
Rate + " + " "	18 "
Poumon + " + " "	15 "

Expérience No. 15.

Le 17 novembre on a introduit dans la cavité péritonéale du lapin No. 41 un testicule de cobaye couvert d'une couche épaisse de collodion. On a examiné à plusieurs reprises le sérum:

23 novembre	32 min.
29 "	60 "
5 décembre	10 "

Le 5 décembre le lapin a été tué. On a enlevé le testicule de cobaye couvert d'une capsule, on a préparé des extraits du testicule et de la capsule:

Contenu de la capsule + sperme	plus de 2 heures
Capsule + " "	" " 2 "

Les mêmes extraits + aléxine + sperme:

Contenu + aléxine + sperme	12 min.
Capsule + " + " "	16 "

Expérience No. 16.

Le 8 novembre on a introduit dans la cavité péritonéale du cobaye No. 32 un testicule d'un autre cobaye couvert d'une couche

épaisse de collodion. A des intervalles déterminés on essaye le sérum au point de vue de son action sur les spermatozoïdes de cobaye.

10 novembre		68 min.
17 "		15 "
23 "		18 "
29 "	1 heure	15 "
5 décembre	1 "	20 "
19 "	2 heures	
2 janvier	3 "	30 "

Le 12 janvier le cobaye a été tué. On a ouvert la cavité péritonéale et on a trouvé que le testicule adhérait complètement à l'intestin.

Expérience No. 17.

Le 17 novembre on a introduit dans la cavité péritonéale du cobaye No. 38 le testicule couvert de collodion d'un autre cobaye. A des intervalles déterminés on essayait le sérum au point de vue de son action sur les spermatozoïdes.

23 novembre	50 min.	arrêt complet
29 "	45 "	id.
5 décembre	20 "	"
19 "	1 h. 40 "	"
2 janvier	3 hrs.	"
18 "	1 h. 30 "	"
24 "	1 "	"
30 "	40 "	"
7 février	2 hrs.	"
14 "	24 "	"
21 "	32 "	"
24 "	34 "	"

Expérience No. 18.

Le 20 décembre on a introduit dans la cavité péritonéale du lapin No. 42 2 testicules d'un autre lapin. Un de ces testicules a été couvert de collodion, l'autre n'a pas eu d'enveloppe en collodion. Les essais du sérum ont donné les résultats suivants:

6 janvier	1 heure	arrêt complet
9 "	10 min.	id.
20 "	15 "	"
3 mars	1 heure 10 "	"

Toutes les expériences citées montrent d'une manière bien nette que les spermotoxines peuvent se former chez des animaux même dans le cas où l'antigène est complètement isolé dans l'organisme de tous les organes et de toutes les cellules, même dans le cas où la phagocytose fait tout à fait défaut. Le fait que l'ambocepteur apparaît à l'intérieur même de la capsule où aucune cellule de l'organisme ne pénètre et où il n'y a que des cellules de l'antigène mérite un intérêt particulier. Nous pouvons choisir entre deux suppositions: ou bien

l'ambocepteur s'est formé de l'antigène même, comme résultat de l'action exercée sur l'antigène par les tumeurs de l'organisme, ou bien l'ambocepteur s'est formé en dehors de la capsule et a pénétré ensuite, entraîné par les forces de diffusion de la même manière qu'il pénètre dans les autres organes et tissus.

Tous nos essais pour prouver que l'ambocepteur se forme de l'antigène par voie d'autolyse ou comme résultat de l'action des humeurs sur l'antigène n'ont pas donné jusqu'à présent de résultats positifs.

Quant à la seconde supposition, suivant laquelle l'ambocepteur se forme en dehors de la capsule et ne pénètre qu'ensuite à l'intérieur, elle doit certainement aussi encore être prouvée. On doit d'abord admettre que l'antigène (c'est à dire les spermatozoïdes) peut se dissoudre, c'est à dire subir l'autolyse et que les produits d'autolyse peuvent passer à travers l'enveloppe en collodion. Ce n'est qu'en présence de ces conditions que peut avoir lieu la formation de l'ambocepteur en dehors de la capsule.

Quel rôle jouent dans ce cas les leucocytes? Vu la présence d'une enveloppe en collodion qui sépare l'antigène des leucocytes de la cavité péritonéale, on doit exclure la possibilité d'une phagocytose, c'est à dire d'un englobement et d'une digestion des parties solides, mais il reste la possibilité d'un englobement de liquides. Il est possible que les produits dissous d'autolyse passent à travers l'enveloppe en collodion et soient absorbés par les leucocytes, qui prennent part indubitablement à la formation de la capsule.

Le fait que les extraits de la capsule contiennent toujours une grande quantité d'ambocepteurs plaide aussi en faveur de cette supposition, qui toutefois doit encore être prouvée par une étude approfondie et détaillée.

Mais quel que soit l'endroit où se forme l'ambocepteur, comme nous l'avons vu, il pénètre dans tous les organes et tissus de l'organisme.

On aurait pu certainement supposer que le sang transporte les ambocepteurs dans les organes; c'est pourquoi, là où il y a du sang, devraient se trouver aussi des ambocepteurs. Mais ce n'est pas le cas. Avant la préparation des extraits nous lavons soigneusement les organes broyés pour éloigner le sang. Si la présence de l'ambocepteur dans un organe

pouvait être expliquée par la présence du sang qui n'est pas éliminé complètement par le lavage, l'extrait devrait agir comme le sang lui même ou comme le sérum, c'est à dire qu'il devrait tuer les spermatozoïdes. L'extrait devrait contenir de l'ambocepteur et de l'aléxine. Mais l'extrait n'agit qu'après l'addition du sérum frais de cobaye, on doit par conséquent conclure que c'est l'ambocepteur seul qui se trouve dans l'extrait.

L'examen des extraits d'organes d'un animal normal et d'un animal immunisé ont pleinement confirmé le fait que ces extraits ne contiennent pas d'aléxine. Nous avons procédé dans ces expériences de la manière suivante.

Au sérum spermotoxique de lapin chauffé à 56° on ajoute dans une proportion déterminée du sérum, de l'exsudat et des extraits de divers organes du cobaye normal. Si le mélange obtenu tue les spermatozoïdes de cobaye, il s'ensuit qu'il contient de l'aléxine ainsi que le sérum; dans le cas contraire il ne contient pas d'aléxine.

Expérience No. 19.

On a injecté au cobaye No. 24 de l'aleurone dans la plèvre et du blanc d'œuf dans le péritoine. Le cobaye a été tué, on lui a pris le sang et ces exsudats et on a préparé des extraits des organes. Pour la détermination de la teneur en aléxine, on prenait le sérum spermotoxique chauffé à 56° (ambocepteur) et on le mélangeait avec l'extrait. On ajoute ensuite des spermatozoïdes et on détermine à quel moment les mouvements des spermatozoïdes s'arrêtent.

Extrait des polynucléaires	+	ambocepteur	plus de	2	hrs.
" des mononucléaires	+	" "	" "	2	"
" de la rate	+	" "	" "	2	"
" de la moelle osseuse	+	" "	" "	2	"
" du foie	+	" "	" "	2	"
" du corps thyroïde	+	" "	" "	2	"
" du cœur	+	" "	" "	2	"
" du cerveau	+	" "	" "	2	"
" du mesentère	+	" "	" "	2	"
" des muscles	+	" "	" "	2	"
Sérum	+	" "	" "	10	min. arrêt
Exsudat	+	" "	" "	50	"

On a répété la même expérience sur d'autres animaux. Dans tous les cas nous avons constaté que les extraits de divers organes ne peuvent pas activer le sérum spermotoxique chauffé, comme le fait le sérum normal de cobaye; il s'ensuit qu'ils ne contiennent pas d'aléxines. Les extraits de polynucléaires et de mononucléaires ne contiennent pas non plus

d'aléxines. On ne trouve des aléxines que dans le sérum et dans les exsudats, dans la plupart des cas le sérum est plus riche en aléxines que les exsudats.

Zusammenfassung.

1) Durch die Untersuchung der Extrakte der Organe spermatoxischer Tiere kann man immer die Anwesenheit von Spermaambozeptoren im Gekröse (Mesenterium), in der Milz, in der Leber, in den Nieren, im Knochenmark, in den Lungen, im Herzen und in anderen Organen feststellen. In den Muskeln und im Gehirn gibt es am wenigsten Ambozeptoren.

Diese Extrakte wirken nur in dem Fall, wo man ihnen Alexin, d. h. frisches, normales Meerschweinchenserum zusetzt. Ohne Alexin wirken die Extrakte nicht, was darauf hinweist, daß diese Organe keine Alexine enthalten.

2) Extrakte aus Mononukleären und Polynukleären spermatoxischer Tiere enthalten gewöhnlich weder Ambozeptoren noch Alexine.

3) Extrakte aus Polynukleären, die durch die Einspritzung von einem Gemisch von Aleuronat mit Spermatozoen hervorgerufen werden, enthalten Spermaambozeptoren.

4) Führt man in die Bauchhöhle eines Kaninchens ein Kollodiumsäckchen mit einer Spermatozoenemulsion ein, so wird ein Spermatoxin gebildet, das ebenso kräftig wirkt, wie ein Spermatoxin, das nach einer subkutanen oder intraperitonealen Einspritzung von Spermatozoen gebildet wird.

5) Die Spermatoxine werden auch in dem Falle gebildet, in dem man in die Bauchhöhle eines Kaninchens einen ganzen Meerschweinchen- oder Kaninchenhoden einführt (einnäht). Der Hode wird dabei von einer Bindegewebekapsel umwachsen und dann allmählich resorbiert.

6) Die Bildung von Spermatoxinen wird auch in den Fällen, in welchen der in die Bauchhöhle eingeführte Hode von einer dicken Kollodiumschicht bedeckt wird, beobachtet.

7) Im Gegensatz zum Ambozeptor dringt das Alexin nicht in alle Organe und Gewebe ein, sondern findet sich nur im Serum und in Exsudaten, wobei der Alexingehalt der Exsudate immer geringer ist als derjenige des Serums.

Nachdruck verboten.

[Aus der Biologischen Abteilung (Prof. v. Dungern) des Institutes für Krebsforschung (Geheimrat Prof. Czerny, Exzellenz).]

Untersuchungen über die Eigenhemmung der Sera.

Von Dr. K. Hara.

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Januar 1913.)

Die Eigenhemmung des Serums, welche bei allen Komplementbindungsreaktionen zu beobachten ist und daher praktische Bedeutung besitzt, kann unter gewissen Bedingungen eine Steigerung erfahren. Nach gelegentlicher Beobachtung im Laboratorium und entsprechend einigen Angaben in der Literatur kommen verschiedene Ursachen in Betracht.

Einerseits wird verstärkte Eigenhemmung der Sera nach der Vorbehandlung der Tiere mit fremden protoplasmatischen Substanzen beobachtet, wie Ehrlich und Morgenroth und v. Dungern zuerst gesehen haben. Zur Erklärung hat Moreschi¹⁾ angenommen, daß zurückgebliebene Antigenreste mit neu auftretendem Antikörper zusammentreten und dadurch Komplementbindung bedingen; in diesem Falle muß auch das Komplement des antikörperliefernden Tieres aus dem Serum verschwinden.

An eine ganz andere Ursache mußte man denken, wenn mit der Zeit beim einfachen Stehenlassen der Sera, die Vermehrung der Eigenhemmung auftritt.

Ich war bestrebt, diese beiden Arten der vermehrten Eigenhemmung weiter aufzuklären.

Da die Sera, wenn sie längere Zeit aufbewahrt werden, leicht mit Mikroorganismen verunreinigt werden können, so war es notwendig, zunächst den Einfluß der Bakterien auf die antihämolytische Wirkung des Serums zu untersuchen. Ich habe daher eine Anzahl Sera von Menschen, Kaninchen und Ziegen sowohl unter aseptischen Kautelen, wie auch ohne diese entnommen, und nach Tagen, Wochen und Monaten auf ihre antihämolytische Wirkung geprüft. Gleichzeitig wurde durch Agarkultur der Bakteriengehalt festgestellt.

1) Berl. klin. Wochenschr., 1905.

Zur Bestimmung der Eigenhemmung verwandte ich die gewöhnliche Versuchsanordnung. Das hämolytische System bestand in 1,0 ccm 5-proz. Rinderblutkörperchen-Aufschwemmung, die mit der doppelt ausreichenden Menge Ambozeptor sensibilisiert waren, und aus frischem Meerschweinchen-serum als Komplement, welches ich in doppelt lösender Menge, 0,03—0,05 ccm verwandte. Zur Prüfung der antihämolytischen Eigenschaft des Serums wurde dieses in abgestuften Mengen entweder unerwärmt oder $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt, mit komplementhaltigem Serum zusammengebracht und 2 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf wurde sensibilisierte Blutkörperchen-Aufschwemmung zugefügt und das Resultat nach 2 Stunden abgelesen.

Ich habe zunächst bei drei Menschen Sera steril entnommen, auf 56° erwärmt und steril aufbewahrt. Sie blieben absolut unverändert, 0,6 ccm war nicht imstande, die Komplementhämolysen aufzuheben. Genau ebenso verhielten sich zwei Kaninchensera und drei Ziegensera, die steril aufbewahrt wurden. Bei einem Ziegenserum zeigte sich sogar nach 6 Monaten keine Steigerung der antihämolytischen Eigenschaft. Im Gegensatz dazu entwickelte sich die starke Eigenhemmung der Sera, wenn sie nicht steril entnommen waren, wie z. B. die folgenden Protokolle zeigen.

Im Eisschrank aufbewahrtes, nicht steril entnommenes Ziegenserum C (erwärmt).

Menge des Serums	Direkt nach der Entnahme	Nach einer Woche mehrere Kolonien auf Agarnährboden	Nach 2 Wochen	Erwärmt 30' auf 56°	Nach 3 Wochen Trübung durch Bakterien	Erwärmt	Nach 4 Wochen	Erwärmt
0,6	Hemmung komplett	Hemmung	Hemmung	Hemmung komplett	Hemmung	Hemmung komplett	Hemmung	Hemmung komplett
0,4	"	Hemmung	"	"	"	"	"	"
0,2	"	komplett, sehr langsam	nicht komplett	"	"	"	"	"
0,1	"	komplett, langsam	komplett, sehr langsam	"	komplett, sehr langs.	"	"	"

Ich konnte auch nachweisen, daß die im Serum mit starker Eigenhemmung vorhandenen Bakterien dem steril entnommenen Serum die antihämolytische Eigenschaft schon nach kurzer Zeit verleihen, wie folgende Protokolle zeigen.

Steriles erwärmtes Ziegenserum A mit Bakterien infiziert, nach 3-tägiger Aufbewahrung im Eisschranke energisch zentrifugiert und auf Eigenhemmung geprüft.

Menge des Serums	Steriles Serum	Infiziertes Serum	Infiziertes Serum, erwärmt 30' auf 56°
0,6	komplett	Hemmung	komplett
0,4	"	partielle Lösung	"
0,2	"	langsame Lösung	"
0,1	"	dgl.	"

5,0 ccm erwärmtes steriles Ziegenserum C mit 5 Oesen Bakterien gemischt, 3 Stunden in den Brutschrank gestellt, dann lange Zeit zentrifugiert, bis es ganz klar wurde. Ein Teil davon ist $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Als Kontrolle 5,0 ccm Nährbouillon genommen, die auch mit 5 Oesen Bakterien gemischt, 3 Stunden in den Brutschrank gestellt war, aber nicht zentrifugiert wurde.

Menge des Serums	Steriles Ziegenserum	Mit Bakterien behandeltes Serum	Infiziertes Serum, erwärmt 30' auf 56°	Nährboden mit Bakterien als Kontrolle
0,6	Hemmung	Hemmung	Hemmung	komplett
0,4	komplett	"	komplett	"
0,2	"	nicht komplett	"	"
0,1	"	komplett, sehr langsam	"	"

Ich habe später dann noch mit Reinkulturen gearbeitet und Colibacillen, Heubacillen, Pyocyanus, Prodigiosus, Staphylokokken und Proteus vulgaris dem steril entnommenen Serum zugesetzt. Durch wiederholte Versuche wurde nachgewiesen, daß alle diese Bakterien auch mehr oder minder starke antihämolytische Eigenschaft erzeugen, und zwar Colibacillen und Proteus vulgaris am stärksten, Staphylokokken am schwächsten. Man mußte daran denken, ob nicht die Bakterien selbst das Komplemente binden. Es ist seit den Versuchen v. D u n g e r n s längst bekannt, daß die Bakterienemulsionen antihämolytische Eigenschaft haben. Es sind dazu aber viel dichtere Emulsionen notwendig, als ich verwandte, und außerdem sind in meinem Versuche die Bakterien auch durch Zentrifugieren so gut wie möglich aus dem antihämolytischen Serum entfernt worden, ohne daß dieses seine komplementbindende Wirkung dadurch einbüßte.

Die Eigenhemmung des Serums durch Bakterien ist durch die Veränderung chemischer Substanzen des Serums bedingt. Es lag nahe, an Lipide zu denken. Es ist schon von mehreren

Autoren beobachtet worden, daß die durch Aether extrahierbaren Substanzen des Serums antihämolytisch sind. Der folgende Versuch zeigt, daß diese Substanzen unter der Einwirkung von Bakterien eine viel stärkere antihämolytische Eigenschaft gewinnen.

10 ccm steriles Ziegenserum wurden mit ungefähr 30 ccm Aether $\frac{1}{2}$ Stunde geschüttelt; dieser Aetherextrakt wurde im Brutschranke abgedampft und der Rückstand wieder in 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. 5 ccm von dieser feinen Lipidemulsion wurden mit einer Oese Bakterien gemischt und nach 24 Stunden energisch zentrifugiert.

Menge der Emulsion	Sterile Emulsion	Infizierte Emulsion	Infizierte Emulsion erwärmt
0,8	Hemmung	Hemmung	Hemmung
0,6	komplett	„	komplett
0,4	„	sehr langsame Lösung	„
0,2	„	langsame Lösung	„

Die starke antihämolytische Eigenschaft wird durch die Erwärmung aufgehoben, und genau ebenso verschwindet auch die antihämolytische Wirkung des Serums, die durch Bakterien erzeugt ist, nach halbstündiger Erwärmung auf 56°. Es ist nicht möglich, diese Eigenhemmung des Serums durch Schütteln mit Aether zu entziehen.

Es hat sich demnach gezeigt, daß die antihämolytische Eigenschaft der normalen Sera, welche mit der Aufbewahrung sich entwickelt, ausschließlich durch das Wachstum von Bakterien zustande kommt, und diese entsteht, wie es scheint, dadurch, daß die Lipoide verändert werden.

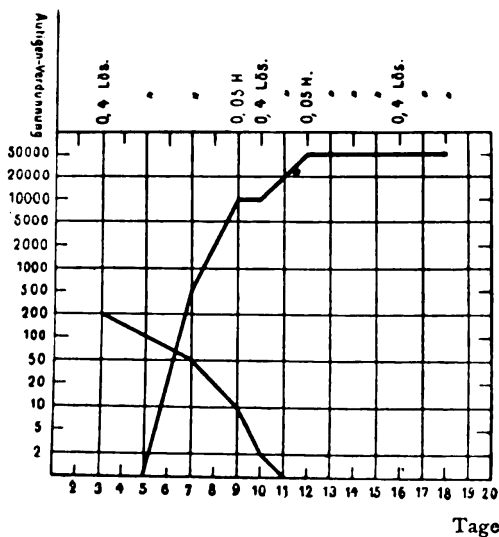
Das Bakterienwachstum vernichtet auch das Komplement, im sterilen Serum bleibt das Komplement viel länger erhalten. Die antikomplementäre Wirkung des infizierten Serums erstreckt sich nicht nur auf Meerschweinchenkomplement, sondern auch auf Kaninchenkomplement.

Wenn man die antikomplementäre Eigenschaft des Serums studieren will, die während der Immunisierung auftreten kann, ist es somit durchaus notwendig, das Bakterienwachstum sicher

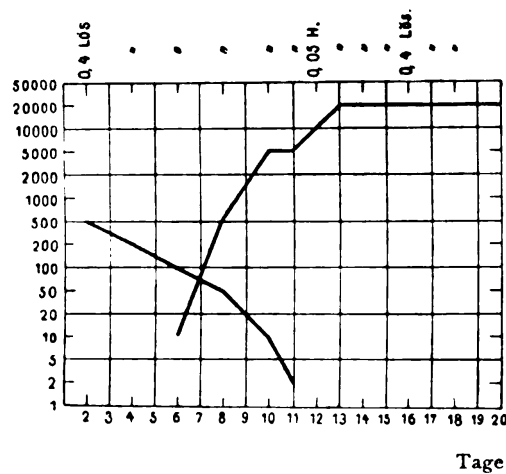
auszuschalten. Alle Versuche, die mit dieser Fehlerquelle nicht gerechnet haben, können nicht mehr als beweisend angesehen werden. Ich habe daher in den folgenden Versuchen nur sterile Sera benutzt, und diese auch bald nach der Entnahme untersucht.

Zunächst habe ich bei zwei Kaninchen, denen 5,0 ccm Hammelserum, und bei zwei anderen Kaninchen, denen 2,0 ccm Hammelserum intravenös injiziert wurde, jeden Tag nach der Injektion ganz steril Blut entnommen und sowohl auf Präzipitingehalt wie Antigengehalt untersucht und gleichzeitig die Eigenhemmung in der oben angegebenen Weise bestimmt. Zur Bestimmung des Antigengehaltes wurde ein anderes Präzipitinserum benutzt, derart, daß 0,1 ccm dieses Serums mit 1,0 ccm der verschiedenen Verdünnungen des Antigens vereinigt wurde; es war so stark, daß eine Verdünnung des Hammelserums 1:50000 noch eine Trübung ergab. Es zeigte sich, daß die Verstärkung der Eigenhemmung kritisch auftritt, einige Tage anhält und dann wieder plötzlich verschwindet. Bei einem Kaninchen trat diese Erscheinung am 9. Tage ein, war am 10. und 11. wieder verschwunden und setzte dann am 12. wieder ein und hielt sich 3 Tage (Kurve 1). Bei einem anderen Kaninchen bestand sie vom 12.—15. Tage nach der Injektion (Kurve 2). Bei zwei anderen trat die starke Eigenhemmung nicht auf (Kurve 3 und 4).

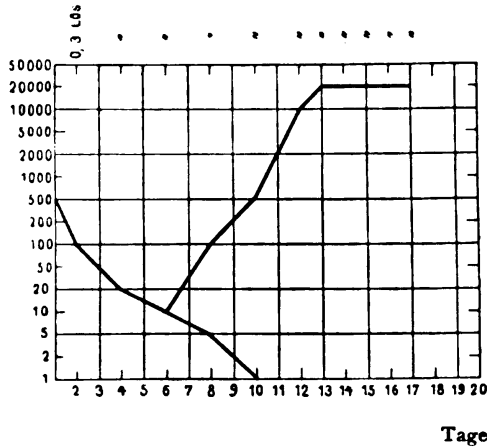
Kurve 1.



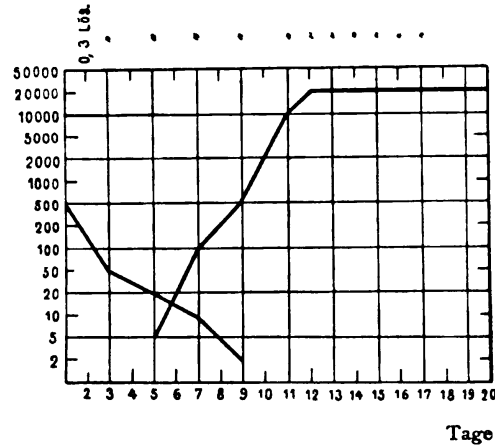
Kurve 2.



Kurve 3.



Kurve 4.



Ein Zusammenhang mit dem ersten Auftreten des Antikörpers ist nicht erkennbar. Eigenhemmung tritt erst später ein.

Ich habe dann noch weiter mehrere Kaninchen mit Pferde-, Hammel- und Ziegenserum behandelt und den Zusammenhang von Antikörperentstehung und Vermehrung der Eigenhemmung geprüft, wie die folgenden Protokolle zeigen.

8. IX.

Kaninchen No. 326 (3200 g)	}	1,0 ccm Pferdeserum intravenös injiziert.
„ „ 100 (3000 „)		
Kaninchen No. 351 (2250 „)	}	4,0 ccm Pferdeserum intravenös injiziert.
„ „ 189 (1950 „)		
Kaninchen No. 302 (1800 „)	}	3,0 ccm Pferdeserum intravenös, nach 3 Tagen
„ „ 109 (1750 „)		
Komplementgehalt 351	0,1 Lös.	0,05 part. Lös.
187	0,1 Lös.	0,05 löst nicht
326	0,1 Lös.	
302	0,1 Lös.	
100	0,1 Lös.	
109	0,1 Lös.	

0,3 ccm von jedem erwärmten Serum zeigte keine Eigenhemmung.

14. IX. Am 7. Tage nach der Impfung.

Komplementgehalt 351	0,1 Lös.	0,05 part. Lös.
187	0,1 Lös.	0,05 löst nicht
326	0,1 Lös.	
302	0,2 Lös.	0,1 keine Lös.
109	0,1 Lös.	
100	0,1 Lös.	
Präzipitingehalt 351	1:1000 +	189 1:1000 +
326	1:5000 +	100 1:5000 +
302	1:10 +	109 1:10 +
Eigenhemmung	—.	

Bei Kaninchen No. 351, 187, 302 und 109 wurde Antigen noch im Serum nachgewiesen.

16. IX. Am 9. Tage.

Komplementgehalt	351 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.	187 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.
	326 0,5 Lös. 0,1 keine Lös.	100 0,2 Lös. 0,1 keine Lös.
	302 0,2 Lös. 0,1 keine Lös.	109 0,1 Lös. 0,05 löst nicht
Präzipitingehalt	351 1:10 000 +	187 1:10 000 +
	326 1:10 000 +	100 1:10 000 +
	302 1:100 +	109 1:100 +

Bei Kaninchen No. 351, 302, 187 und 109 wurde noch Antigen im nachgewiesen.

0,3 ccm von jedem erwärmten Serum zeigte keine Eigenhemmung.

18. IX. Am 11. Tage.

Komplementgehalt	351 0,1 Lös.	189 0,1 part. Lös.
	326 0,2 Lös. 0,1 keine Lös.	100 0,2 keine Lös.
	302 0,1 Lös. 0,05 keine Lös.	109 0,1 part. Lös.
Präzipitingehalt	351 1:10 000 +	187 1:10 000 +
	326 1:10 000 +	100 1:10 000 +
	302 1:10 000 ±	109 1:1000 +

Eigenhemmung nur bei Kaninchen No. 100 0,1 H. 0,05 H.

20. IX. Am 13. Tage.

Komplementgehalt	351 0,1 Lös.	187 0,1 Lös.
	326 0,1 Lös.	100 0,1 Lös.
	302 0,2 keine Lös.	109 0,2 Lös. 0,1 Lös.

0,3 ccm von erwärmten Sera keine Eigenhemmung.

22. IX. Am 15. Tage.

Komplementgehalt	351 0,1 Lös.	187 0,1 Lös.
	326 0,1 Lös.	100 0,1 Lös.
	302 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.	109 0,1 Lös.

Eigenhemmung nur bei 326 0,1 H. 0,05 H.

24. IX. Am 17. Tage.

Komplementgehalt	351 0,1 Lös.	187 0,1 Lös.
	326 0,2 Lös. 0,1 keine Lös.	100 0,2 Lös. 0,1 part. Lös.
	302 0,1 Lös.	109 0,1 Lös.

Eigenhemmung nur bei 326 0,05 H. 100 0,05 H. 189 0,1 part. Lös.

5. VII. Kaninchen No. 460 (3500 g) hat 6,0 ccm Pferdeserum intra-venös bekommen.

Komplementgehalt 0,2 Lös. 0,1 part. Lös.

Beim Kontrollkaninchen No. 180 0,1 Lös. 0,05 Lös.

0,3 ccm erwärmtes Serum zeigte keine Eigenhemmung.

12. VII. Der 8. Tag nach der Injektion.

Komplementgehalt	460 0,2 Lös. 0,1 Lös.
	180 0,1 Lös. 0,05 Lös.

Präzipitingehalt 1:1000 +. Antigen noch nachweisbar.

Eigenhemmung 0,2 H. 0,1 H. 0,05 Lös.

4. III. Ein Präzipitins serum gegen Hammeleiweiß ist von Kaninchen ganz steril entnommen und teils erwärmt, teils nicht erwärmt im Eisschrank aufbewahrt worden.

Komplementgehalt 0,05 Lös.
 Präzipitingehalt 1:10 000 +.
 Eigenhemmung $\frac{1}{40}$ ccm H. $\frac{1}{80}$ ccm Lös.

20. III. Nach 16 Tagen. Ganz steril.

Komplementgehalt 0,05 Lös.
 Präzipitingehalt 1:10 000 +.
 Eigenhemmung $\frac{1}{40}$ ccm H. $\frac{1}{80}$ ccm Lös.

6. IV. Nach 22 Tagen. Ganz steril.

Komplementgehalt 0,1 Lös. 0,05 keine Lös.
 Präzipitingehalt 1:10 000 +.
 Eigenhemmung $\frac{1}{40}$ ccm H. $\frac{1}{80}$ ccm Lös.

26. IV. Nach 42 Tagen. Ganz steril.

Komplementgehalt 0,3 keine Lös., starke Agglutination der Blutkörper.
 Präzipitingehalt 1:10 000 +.
 Eigenhemmung $\frac{1}{40}$ ccm H. $\frac{1}{80}$ ccm Lös.

Mit der doppelten Dosis von Kaninchenkomplement zeigten 0,3 ccm Serum keine Eigenhemmung.

9. X. Kaninchen No. 331 und 301 haben je 5,0 ccm Ziegenserum intravenös bekommen.

Komplementgehalt 331 0,1 Lös. 0,05 keine Lös.
 301 0,1 Lös. 0,05 keine Lös.
 180 0,1 Lös. (Kontrolle.)

0,3 ccm Sera zeigten keine antihämolytische Eigenschaft.

17. X. Am 8. Tage.

Komplementgehalt 331 0,1 Lös. 301 0,1 Lös. 180 0,1 Lös.
 Präzipitingehalt 331 1:5000 + 301 1:5000 +.
 Eigenhemmung 331 0,1 H. 0,05 H. $\frac{1}{40}$ ccm Lös.
 301 0,3 Lös. 180 0,3 Lös.

18. X. Am 9. Tage.

Komplementgehalt 331 0,2 Lös. 0,1 keine Lös.
 301 0,2 Lös. 0,1 Lös.
 180 0,1 Lös.
 Eigenhemmung 331 0,1 H. 0,05 H. $\frac{1}{40}$ Lös.
 301 0,2 H. 0,1 Lös.
 180 0,3 Lös.

Mit Kaninchenkomplement zeigten 0,3 ccm keine Eigenhemmung.

21. X.

Kaninchen No. 109) 4,0 ccm Ziegenserum intravenös.
 „ ohne No.)
 „ No. 480 als Kontrolle.

Komplementgehalt 109 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.
 ohne No. 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.
 180 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.

0,4 ccm hatten keine antihämolytische Eigenschaft.

28. X. Am 8. Tage.

Komplementgehalt 109 0,2 H.
 ohne No. 0,2 Lös. 0,1 Lös.
 180 0,1 Lös. 0,05 part. Lös.
 Präzipitingehalt 109 1:10 000 + ohne No. 1:1000 +
 Eigenhemmung —.

29. X. Am 9. Tage.

Komplementgehalt 109 0,2 H.
 ohne No. 0,2 Lös. 0,1 Lös.
 180 0,1 Lös.
 Eigenhemmung 109 0,2 H. 0,1 H. 0,05 Lös.
 ohne No. 0,3 H. 0,2 Lös.
 180 0,4 Lös.
 Präzipitingehalt 107 1:10 000 + ohne No. 1:10 000 +.

Die Eigenhemmung wurde beim Serum von Kaninchen No. 109 mit doppelt lösenden Mengen von Meerschweinchen-, Kaninchen- und Hundekomplement geprüft.

Menge des Serums	$\frac{2}{10}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$
Mit Meerschweinchenkomplement 0,03	Hemmung	Hemmung	Hemmung	langsame Lösung	Lös.
Mit Hundekomplement 0,2	Hemmung	langsame Hemmung	Lösung	Lösung	Lös.
Mit Kaninchenkomplement 0,2	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Lös.

Normale Kaninchensera besitzen in der Menge von 0,6 ccm keine antihämolytische Eigenschaft gegen Hundekomplement.

2. XI. Ein Kaninchen ist mit 4 ccm Pferdeserum intravenös injiziert. Komplementgehalt: 0,2 keine Lösung. Eigenhemmung: 0,3 ccm Lösung.

11. XI., 13. Tag.

Komplementgehalt: 0,2 keine Lösung. Eigenhemmung mit Meerschweinchenkomplement: 0,05 Hemmung. Mit Kaninchenkomplement: 0,3 keine Hemmung. Präzipitingehalt 1:100 +, 10 000 ±.

Es zeigte sich, daß starke antikomplementäre Wirkung nicht bei jedem Präzipitinserum vorkommt und daß das Auftreten dieser Erscheinung weder von der injizierten Antigenmenge noch von der Antikörpermenge des betreffenden Serums abhängt.

Auch der Komplementgehalt kann sich verschieden verhalten. Manchmal war das Serum stark antihämolytisch nach der Erwärmung gegenüber Meerschweinchenserum als Komplement und zeigte doch annähernd normalen Komplementgehalt, wenn es aktiv mit der sensibilisierten Rinderblutkörperchenaufschwemmung geprüft worden ist. In anderen Fällen war der Komplementgehalt herabgesetzt. Man mußte

daran denken, ob die antikomplementäre Wirkung nicht erst dann zustande kommt, wenn Meerschweinchenserum zugefügt wird. Ich habe daher die antihämolytischen Sera auch mit anderem Komplement geprüft. Es zeigte sich in der Tat, daß die Eigenhemmung gegenüber der doppelt lösenden Dosis von Kaninchenkomplement vollkommen fehlen kann.

Das eigenartige Phänomen der plötzlich auftretenden starken Eigenhemmung ist daher vielleicht so zu erklären, daß einige Antikörper, die durch fremde Sera ausgelöst werden, auch gegen Substanzen des Meerschweinchensersums gerichtet sind und mit diesen Komplementbindungsreaktion geben.

Die antikomplementäre Wirkung der Präzipitinsera bleibt konstant, wenn das Wachstum von Bakterien ausgeschlossen ist. Wenn die Bakterien hinzukommen, so kommt es zu einer weiteren Steigerung, die durch halbständige Erwärmung auf 56° verschwindet.

Zusammenfassung.

1) Die antihämolytische Eigenschaft der normalen Sera, welche sich bei der Aufbewahrung ohne aseptische Kautelen entwickelt, kommt durch das Wachstum von Bakterien zustande. Durch Erwärmen wird die Eigenhemmung dieser Sera aufgehoben.

Die Eigenhemmung beruht auf einer Veränderung der chemischen Substanzen des Serums, wahrscheinlich der in Aether löslichen.

2) Das Bakterienwachstum vernichtet auch das Komplement, im sterilen Serum bleibt das Komplement viel länger erhalten.

Die antikomplementäre Wirkung des infizierten Serums erstreckt sich nicht nur auf Meerschweinchenkomplement, sondern auch auf Kaninchenkomplement.

3) Nach der Einspritzung von fremdartigem Serum kommt es auch zu einer Steigerung der antihämolytischen Wirkung, aber nicht immer. Die Verstärkung der Eigenhemmung erfolgt kritisch einige Zeit, nachdem das Präzipitin im Serum nachweisbar ist und hält nur wenige Tage an. Ein Zusammenhang mit dem ersten Auftreten des Antikörpers und dem Zusammentreffen desselben mit noch zirkulierendem Antigen ist nicht nachweisbar. Auch die Schwankungen des Komplement-

gehalten zeigen keine Abhängigkeit von der Eigenhemmung des Serums, die mit Meerschweinchenkomplement geprüft wird; gegenüber Kaninchenkomplement trat in den untersuchten Fällen keine Verstärkung der Eigenhemmung ein. Beim Erwärmen bleibt diese Art der Eigenhemmung bestehen. Es dürfte sich daher um partielle Antikörper gegen Substanzen des Meerschweinchenserums handeln.

Es sind demnach zwei Arten der Eigenhemmung prinzipiell zu trennen; bei allen Untersuchungen über antikomplementäre Wirkung des Serums müßte der Bakteriengehalt berücksichtigt werden.

Nachdruck verboten.

[Aus der Abteilung für Krebsforschung (Prof. H. Apolant) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirkl. Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber die Beziehungen der Milz zur aktiven Geschwulstimmunität.

Von **H. Apolant.**

Mit 9 Tabellenfiguren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Januar 1913.)

Die Möglichkeit, Mäuse durch Vorbehandlung mit avirulenten Tumoren, Blut, Embryonen oder normalen Organen gegen das Angehen einer folgenden Impfung mit virulentem Geschwulstmaterial resistent zu machen, ist, wenn auch die Angaben über den Grad der so erzeugten Immunität differieren, eine allseitig anerkannte Tatsache. Im Gegensatz hierzu herrscht über die Natur dieser aktiven Tumorummunität noch keineswegs Klarheit.

Es lag zunächst gewiß nahe, an die Bildung echter Antikörper zu denken, doch fand diese Auffassung experimentell keine Stütze, da sich alle Angaben über positive Präzipitation, Komplementbindung und passive Immunisierung, wenigstens soweit Mäuse-, Ratten- und Hundgeschwülste in Betracht kommen, als hinfällig erwiesen.

15*

v. Dungen¹⁾ ist auf Grund seiner gemeinsam mit Coca gemachten Erfahrungen an Hasensarkomen geneigt, das Wesen der Geschwulstimmunität in einer lokalen Anaphylaxie zu sehen und die ihm bei diesen Tieren gelungene passive Immunisierung auf die Uebertragung des anaphylaktischen Antikörpers zu beziehen. Ohne die Berechtigung einer derartigen Auffassung für diese besondere Geschwulstform leugnen zu wollen, kann ich ihre allgemeine Gültigkeit nicht anerkennen, da ähnliche lokal-anaphylaktische Erscheinungen weder bei Mäuse- noch Rattentumorimpfungen beobachtet werden.

Bashford und Russel²⁾ führen die aktive Geschwulstimmunität darauf zurück, daß der Organismus die Fähigkeit verloren hat, das für die Entwicklung der geimpften Geschwulstzellen notwendige Stroma nebst Gefäßen zu liefern. Demgegenüber hat Goldmann³⁾ mit seiner vorzüglichen Injektionstechnik den Nachweis führen können, daß die Stroma- und Gefäßreaktion auch bei immunen Tieren in reichem Maße stattfindet. Der Einwand Russels⁴⁾, daß die Resultate einer derartigen Gefäßaufpumpung keine normalen Verhältnisse darstellen, ist nicht stichhaltig, da selbst durch maximalste Injektion immer nur vorhandene Gefäße sichtbar gemacht, aber keine neuen erzeugt werden können. Aber selbst wenn die Bashford-Russelsche Auffassung in beschränktem Grade zu Recht bestehen sollte, so bildet sie keine Lösung, sondern eine Umschreibung des Problems, da sich sofort die Frage erhebt, welche Momente veranlassen eine so merkwürdige Umstimmung des Organismus, daß er die Fähigkeit der Stroma-reaktion verloren hat?

Den Versuch da Fano⁵⁾, das Problem durch celluläre Analyse zu lösen und in der massenhaften Ansammlung von Plasmazellen am Orte der Impfung sowie an den verschiedensten Körperstellen die Ursache der Resistenz zu sehen, läßt Goldmann ebenfalls nicht gelten, da er speziell in der Peripherie intraperitoneal wachsender Chondrome eine sehr starke Ansammlung von Plasmazellen beobachten konnte.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1909.

2) Proceed. of the Roy. Soc., 1910.

3) Beitr. z. klin. Chir., Bd. 72.

4) Fifth scient. report of the Imperial Sanc. res. Fund, 1912.

5) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910.

In der Literatur findet sich mehrfach die irrtümliche Meinung, daß Ehrlich die zur Diskussion stehende Form der aktiven Tumormmunität auf Athrepsie zurückführt. Ich¹⁾ habe schon vor kurzem diese namentlich in amerikanischen Arbeiten spukende Ansicht zurückgewiesen, glaube jedoch, auch bei dieser Gelegenheit betonen zu müssen, daß weder in den Arbeiten Ehrlichs noch in denen seiner Schüler ein Wort zu finden ist, aus dem ein Zusammenhang zwischen der durch avirulente Tumoren oder normale Organe erzeugten aktiven Resistenz und der athreptischen Immunität entnommen werden könnte. Hat doch Ehrlich im Gegenteil von jeher den scharfen Gegensatz betont, in dem beide Immunitätsformen zu einander stehen.

Aus dieser kurzen Uebersicht ergibt sich wohl hinreichend, daß wir noch weit davon entfernt sind, die aktive Geschwulstimmunität irgendwie befriedigend erklären zu können. Es bedarf offenbar noch eines größeren Tatsachenmaterials, um eine sicherere Unterlage für spätere Erklärungen zu gewinnen.

Unter den hier gangbaren Wegen schien mir einer nicht ganz aussichtslos, der durch mehrere Arbeiten der letzten Zeit vorgebahnt war und das Ziel verfolgt, die Beziehungen der Milz zum Tumorwachstum aufzuklären.

Wir kennen über derartige Beziehungen bereits eine Summe von Tatsachen, die zum Teil direkt in das Immunitätsgebiet übergreifen.

So ist es eine den Pathologen wohlbekannte Erscheinung, daß die Milz trotz ihrer reichen Vaskularisation nur selten Geschwulstmetastasen aufweist und sich hierin in scharfem Gegensatz zur Leber befindet. Dies gilt keineswegs bloß für die menschliche, sondern auch für die experimentelle Tieronkologie. Freilich liegen hier die Verhältnisse, wenigstens bei den Mäuse- und Rattentumoren, insofern etwas anders, als infolge der fast ausschließlichen Metastasierung dieser Geschwülste auf dem Blutwege die Lungen das enorm überwiegende Kontingent für sekundäre Knoten abgeben. Andere Organe werden nur ausnahmsweise befallen, und Milzmetastasen, von denen ich selbst nur zwei Fälle gesehen habe, gehören zu den Raritäten. Erklärt sich daher hier

1) Journ. of exper. Med., 1911.

die Seltenheit der Milzmetastasen aus mechanischen Bedingungen, so muß für den Nachweis des eventuellen Milieueinflusses, der in der menschlichen Onkologie auch nach dem Urteil erfahrener Pathologen nicht zu entbehren ist, das Experiment eintreten, und zwar in Gestalt direkter Geschwulstimplantationen in die Organe. Es liegen hierüber Angaben besonders von Goldmann¹⁾, Graf²⁾ und aus neuester Zeit von Brancati³⁾ vor. Goldmann beobachtete in Versuchen, die im Ehrlichschen Institut ausgeführt wurden, daß die direkte Organimpfung von Erfolg begleitet war, daß dagegen nach einfacher intraperitonealer Geschwulstinjektion Knoten nur auf der Oberfläche der Organe, speziell der Milz und Leber, aber nicht im Parenchym gefunden wurden. Graf konstatierte ebenfalls ein sehr gutes Angehen des verriebenen, filtrierten und mit der sechsfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Geschwulstbreies nach direkter Injektion in die Organe. Demgegenüber betont Brancati, der den Impferfolg auch histologisch kontrollierte, daß ein erheblicher Unterschied zwischen den Impfungen in die Milz und den in andere Organe wie Leber, Hoden, Pankreas, Niere etc. besteht. Während die letzteren einen vorzüglichen Boden für das Geschwulstwachstum abgeben, das zu einem schnellen Parenchymuntergang führt, bleibt die Tumorphiliferation im Milzparenchym beschränkt, so daß die Neubildung sich zwar nach außen stark entwickeln kann, aber nicht sehr große Partien des Organs selbst zerstört. Er erblickt in dieser relativen lokalen Immunität geradezu eine Sonderstellung der Milz.

In diesem Zusammenhang ist es nicht ohne Interesse, auf die bekannte, zuerst von Bridré⁴⁾ festgestellte und oft bestätigte Tatsache hinzuweisen, daß die Milz unter den Organen eine besonders hohe immunisatorische Kraft besitzt, die z. B. dem Hoden gänzlich fehlt, einem Organ, das nach Brancati einen besonders günstigen Boden für die lokale Impfung abgibt.

1) Beitr. z. klin. Chir., Bd. 72, 1911.

2) Centralbl. f. allg. Path. etc., Bd. 21, 1910.

3) Tumori, Anno I, fasc. 2, p. 189.

4) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1907.

Ein weiteres, für unsere Betrachtungen nicht unwichtiges und in letzter Zeit besonders von *B r a n c a t i*¹⁾ hervorgehobenes Moment besteht in der unzweifelhaften Tatsache, daß die Milz bei Geschwulsttieren durchschnittlich vergrößert ist. Diese Vergrößerung beruht keineswegs, wie man zunächst vermuten könnte, auf Ulzerationen und Sekundärinfektionen, denn in zahlreichen Fällen konnte ich mich davon überzeugen, daß gerade bei sehr alten, tief ulzerierten Tumoren, besonders Sarkomen, auffallend kleine Milzen bestanden. Auch *C i m o r o n i*²⁾, der warm für die Vergrößerung der Milz beim Tumorstadium eintritt, erwähnt, daß die Milz bei kachektischen Tieren der Atrophie verfällt. Andere Tatsachen sprechen ebenfalls dafür, daß hier direkte Beziehungen zum Tumor vorhanden sind.

Schon vor längerer Zeit war mir aufgefallen, daß sich zwischen den einzelnen Geschwulststämmen hinsichtlich der Milzgröße meßbare Differenzen nachweisen lassen. Während z. B. in unserem frühzeitig ulzerierenden Sarkomstamm 7 das Durchschnittsgewicht der Milz nur wenig über 0,2 g beträgt, habe ich in dem sehr solide wachsenden Carcinomstamm 11 wiederholt Durchschnittsgewichte von 0,35 und mehr beobachtet. *M e d i g r e c e a n u*³⁾, dem wir sehr genaue Angaben über die Organgröße bei Tumortieren verdanken, ist zwar der Meinung, daß die Gewichtsschwankungen der Milz sowohl bei normalen wie bei Tumortieren zu groß sind, um absolut gültige Schlüsse zuzulassen. Doch gibt er selbst zu, manchmal außergewöhnlich große Milzen bei Geschwulsttieren gesehen zu haben. Insbesondere gilt dies für Mäuse mit spontan entstandenen Tumoren, deren Milzgewicht nach den Tabellen *M e d i g r e c e a n u s* zwischen 0,3687 und 0,6056 schwankt. Ich selbst habe bei einer Spontantumormaus den allerdings wohl singulär dastehenden Fall einer 2,0 g schweren Milz gesehen. Die genauen Maße des stark gekrümmten und den größten Teil der Bauchhöhle ausfüllenden Organs betragen in Zentimetern 4,3 Länge, 1,0 Breite und 0,6 Dicke. Leukämie bestand nach der allerdings erst post mortem vorgenommenen Blutuntersuchung nicht.

1) Tumori, Anno I, fasc. 5.

2) Tumori, Anno I, fasc. 6.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 13.

Gewiß wird man Medigreceanu darin beistimmen müssen, daß für die Größe der Milz zahlreiche Faktoren in Betracht kommen, deren Bedeutung im einzelnen nicht immer klar zu erweisen ist. Es scheint mir aber zu weit gegangen wegen dieser Schwankungen einen Einfluß des Tumors auf die Milzgröße überhaupt leugnen zu wollen. Der gleichen Ansicht ist Brancati, der diese Frage an Ratten sehr eingehend studiert hat und angibt, daß sich das Durchschnittsgewicht der Milz zu dem des normalen Körpers wie 1:169, zu dem des Tumortieres dagegen wie 1:60 verhält.

Neben den erwähnten Differenzen zwischen den einzelnen Geschwulststämmen halte ich vor allem den Umstand für beachtenswert, daß analoge Volumenzunahmen der Milz auch bei Nullern, also mit negativem Erfolg vorgeimpften Mäusen sowie bei, sei es mit avirulentem Tumormaterial oder mit normalen Organen immunisierten Tieren angetroffen werden. Bei gleicher Länge des Tieres, die für das nicht exakt bestimmbare Alter herangezogen wurde, habe ich wiederholt ein gegen die Norm verdoppeltes Durchschnittsgewicht der Milz konstatieren können.

Aehnliche Gedanken leiteten schon Braunstein¹⁾ bei seinen vor mehr als Jahresfrist veröffentlichten Versuchen, die die Rolle der Milz in der Geschwulstimmunität beweisen sollten. Braunstein geht aber von der meiner Ansicht nach unrichtigen, wenigstens bisher durch nichts bewiesenen Voraussetzung aus, daß die Geschwulstimmunität auf der Bildung echter Antikörper beruht und daß eine Hauptbildungsstätte derselben ebenso wie bei zahlreichen bakteriellen Infektionen in die Milz zu verlegen ist. Einen Beweis für die Richtigkeit dieser Anschauung erblickt er darin, daß Ratten und Meerschweinchen, die er gleich nach erfolgter Splenektomie mit Mäuse- resp. Menschenkrebs geimpft hatte, sehr oft zugrunde gingen, wie er meint, weil der milzlose Organismus nicht imstande ist, gegen die bösartigen Geschwülste ähnlich wie gegen Infektionen erfolgreich anzukämpfen.

Zunächst ist es ein großer Fehler dieser Versuchsanordnung, daß die Impfung mit artfremdem Krebsmaterial geschah; denn damit fällt jede Berechtigung, die Resultate

1) Berl. klin. Wochenschr., 1911.

zur Bestimmung der Rolle zu verwenden, die die Milz bei der eigentlichen Geschwulstimmunität innerhalb der gleichen Species spielt. Das ist aber der springende Punkt auch in den Ueberlegungen Braunsteins. Es liegt offenbar an seiner durch keine Tatsache gestützten Ueberzeugung von der Antikörpernatur der gewöhnlichen aktiven Geschwulstimmunität, daß er die notwendige scharfe Unterscheidung zwischen der Impfung mit artfremdem und arteigenem Krebsmaterial nicht macht. Ferner ist es schwer zu entscheiden, wie weit die Todesfälle vielleicht auf die Splenektomie selbst zu beziehen sind, da Braunstein anscheinend stets die Impfung sofort der Splenektomie folgen ließ und von Kontrollsplenektomien ohne folgende Impfung nichts berichtet. Diese Vermutung drängt sich mir um so mehr auf, als ich bei meinen allerdings etwas anders angestellten Versuchen den Tod splenektomierter Tiere im Anschluß an eine Geschwulstimpfung nie gesehen habe, und auch die gleich zu erwähnenden Versuche Brancatis nichts davon enthalten.

Diese neueste Arbeit Brancatis¹⁾ kommt dem eigentlichen Problem nun schon erheblich näher. Brancati konstatierte nämlich bei Ratten, daß schwach virulente Tumoren auf entmilzten Tieren erheblich besser angingen als auf normalen. Dabei war es gleich, ob die schwache Virulenz eine natürliche Eigenschaft des verwandten Materials oder künstlich hervorgerufen war. Bei hochvirulenten Tumoren bestand ein solcher Unterschied nicht, nur wenn ein größeres Zeitintervall zwischen Entmilzung und Impfung gesetzt wurde, machte sich auch hier ein gegenüber den Kontrollen beschleunigtes Wachstum geltend. Von besonderer Bedeutung scheint mir aber die einmal von Brancati gemachte Beobachtung zu sein, daß bei sieben 1 und 2 Monate vorher mit hochvirulentem Material eingepfunden Ratten, nach der Splenektomie ebenso wie bei zwei anderen entmilzten und zehn normalen Tieren die neue Impfung anging, so daß also hier eine offenkundige Immunität durch die Entmilzung gebrochen wurde.

Ich war noch ohne Kenntnis dieser Arbeit, als ich meine eigenen Versuche begann, die die Frage zu entscheiden suchten, ob sich die aus den angeführten Tatsachen ergebende Be-

1) Tumori, Anno II, fasc. 1, p. 74.

teilung der Milz an dem Zustandekommen der sogenannten aktiven Geschwulstimmunität, korrekter ausgedrückt, der Resistenzerhöhung des Organismus gegen eine Impfung mit Geschwulstmaterial durch Ausschaltung der Milz auch experimentell nachweisen läßt. Mit anderen Worten: Lassen sich Tiere, denen die Milz extirpiert wurde, ebenso leicht wie normale gegen das Angehen von Impfgeschwülsten resistent machen? Diese Frage hat zunächst mit der Natur der Resistenz nichts zu tun. Denn Abwehrmaßregeln der Milz sind auch ohne Bildung von Antikörpern denkbar.

Bevor ich die Protokolle der bisher nur an Mäusen angestellten Versuche bespreche, möchte ich die Technik der von mir geübten Operationsmethode, mit der ich ausgezeichnete Resultate erhielt, kurz beschreiben.

Die Maus wird in einem nicht zu großen aber breiten Präparatenglas bis zum Umfallen ätherisiert und auf ein Lautenschlägersches Mäusebrett aufgespannt. An letzterem habe ich die unbequemen Schrauben durch federnde Klemmen ersetzt, an denen die Füße des Tieres mittels dicker Seidenschlingen im Augenblick befestigt werden können. Das Tier liegt auf dem Rücken, aber, was von Wichtigkeit ist, so, daß der linke Hinterfuß über den rechten gekreuzt wird. Dadurch wölbt sich das linke Hypochondrium vor, dessen Kuppe nunmehr die Milz einnimmt. Diese Kuppe wird im Umfange eines Markstückes mit den Fingern epiliert, eine Methode, die an Sauberkeit und Schnelligkeit allen chemischen Epilationsmethoden überlegen ist. Die Milz schimmert jetzt deutlich als bläulicher Körper durch die Haut. Letztere wird mit Alkohol abgetupft, mit Jodtinktur eingepinselt und der Milz entsprechend in einer Länge von etwa $1-1\frac{1}{2}$ cm mit der Schere durchschnitten. 2 kleine Klemmen halten die Wundränder auseinander. Nun macht man unter sorgfältiger Vermeidung der längsverlaufenden Gefäße einen etwa 3 mm langen Schlitz in Muskulatur + Peritoneum — bei sehr großen Milzen kann er etwas länger sein —, geht mit einer Unterbindungsnadel, die einen langen Seidenfaden trägt, unter die Milz und hebt sie behutsam aus der Wunde heraus. Der Faden wird in der Mitte durchschnitten, und erst der untere, dann der obere Pol der Milz unterbunden. Letztere läßt sich nunmehr leicht

von dem stets anhaftenden Pankreas lösen. Abschneiden der Fäden, Versenkung des Pankreas mittels eines kleinen Spatels, eine Knopfnah durch die Muskulatur sowie Anlegung zweier Michelscher Klammern.

In der Beschreibung erscheint die Operation etwas kompliziert, in Wirklichkeit ist sie überaus einfach und dauert im ganzen 2—3 Minuten. Für die Vorbereitung bedarf man allerdings etwas mehr Zeit, doch ist es bei geschulter Assistenz möglich, in einer Stunde 8 Milzen zu exstirpieren. Unter genau 100 operierten Tieren habe ich nur ein einziges an der Operation selbst verloren, und zwar infolge einer sofort erkannten Nierenverletzung. Sonst erfolgte die Heilung ausnahmslos per primam. Wichtig ist nur, daß die operierten Tiere auf Watte gelegt und im Glase an einen warmen Ort gestellt werden.

Betrachten wir nunmehr die Versuchsprotokolle (cf. Tab. I bis IX): In Versuch I fand die Entmilzung am 19. Mai statt, die Immunisierung mit 0,2 Spontantumor subkutan am 27. Mai, die Nachimpfung mit 0,05 Carcinom am 21. Juni.

In allen Tabellen geben die Zahlen der obersten Reihe das Alter der Geschwulst in Tagen an.

Tabelle I.
Entmilzung 19. V., Immunisierung 27. V., Impfung 21. VI.









	entmilzte und immunisierte Tiere.	54		
	nur immunisierte Tiere.		3+0-	100%
	unvorbehandelte Kontrollen.	000000 	5+6-	45%

Tabelle II.
Entmilzung Serie I 17. VI., Serie II 19. VI., Immunisierung 20. VI.,
Impfung 6. VII.

	21	28	37	42	96		
Serie I {				000 		7+3-	70%
Serie II {	•			0 		7+1-	87%
	8	0	0	0000000 	0	13+9-	60%

Die drei entmilzten Tiere zeigten ein gutes Geschwulstwachstum, zwei weitere entmilzte Tiere dieser Serie sind nicht eingezeichnet, weil sie bereits wenige Tage nach der Impfung starben. Doch zeigten beide schon zu diesem Zeitpunkt eine deutliche Geschwulstentwicklung, so daß bei der seltenen

Tabelle III.
Entmilzung Serie I 15. VIII., Serie II 16. VIII., Immunisierung 17. VIII., Impfung 28. VIII.

































		Serie II					Serie I					
23	30	39	42	43	45	46	48	49	56	65		
												
												
												
												
												
							0	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
												7+, 1- 87½%

Tabelle IV.
Entmilzung 31. X., Immunisierung 1. XI.,
Impfung 11. XI.










		28			
					8+, 2- 80%
					5+, 2- 71%
					7+, 1- 87½%

Tabelle V.
Entmilzung 2. XI., Immunisierung 4. XI.,
Impfung 19. XI.










		28			
					9+, 1- 90%
					6+, 3- 66½%
					9+, 1- 90%

Tabelle VI.

Entmilzung 5. XI., Immunisierung 6. XI. u. 22. XI., Impfung 2. XII.




11	22		
● 00		7+, 2-	77%
00000		4+, 5-	44%
		6+, 0-	100%

Tabelle VII.

Entmilzung 1. XI., Immunisierung 2. XI. u. 18. XI., Impfung 29. XI.




35			
0		8+, 1-	90%
00		6+, 2-	75%
		14+, 0-	100%

Tabelle VIII.

Immunisierung 10. X. u. 23. X. u. 4. XI., Entmilzung 14. XI., Impfung 15. XI.





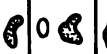

33			
		12+, 0-	100%
0000		8+, 4-	66½%
		6+, 0-	100%

Tabelle IX.

Erste Impfung 28. IV., Entmilzung 1. VII., zweite Impfung 6. VII.

25	32	51	52				
			0000000		6+, 7-	46%	
				00000000		8+, 8-	50%

spontanen Tumorrückbildung in dem hier benutzten Stamm 5 die Ausbeute von 100 Proz. sich kaum geändert hätte, wenn die Tiere am Leben geblieben wären. Die 11 nicht entmilzten, aber immunisierten Kontrollen zeigten eine Angangsziffer von nur 45 Proz., wobei noch zu bemerken ist, daß das Wachstum der einen Geschwulst ein sehr geringes war.

In Versuch II geschah die Entmilzung am 17. resp. 19. Juni, die Immunisierung mit 0,2 Spontantumor 1 resp. 3 Tage später am 20. Juni, die Impfung mit 0,05 Carcinom am 6. Juli.

Die entmilzten Tiere zeigen eine Ausbeute von 70 und 87 Proz. oder, bei Berücksichtigung der Zahl der Tiere, zusammen eine Durchschnittsausbeute von 78 Proz. gegen 60 Proz. der nicht entmilzten, nur immunisierten Kontrollen.

Noch deutlicher ist die Differenz in Versuch III. Hier geschah die Entmilzung am 15. resp. 16. August, die Immunisierung mit 0,2 Spontantumor am 17. August, die Nachimpfung mit 0,05 Carcinom am 28. August.

Die Ausbeute der entmilzten und immunisierten Tiere betrug 100 Proz. und 91 Proz. (Durchschnitt 95 Proz.), die der nur immunisierten Kontrollen 60 Proz. und die der nicht immunisierten normalen Kontrollen $87\frac{1}{2}$ Proz.

Hier war also die Ausbeute bei den entmilzten Tieren sogar größer als bei den unvorbehandelten Kontrollen.

In den beiden folgenden Versuchen wurde Embryonenbrei zur Immunisierung verwendet.

In Versuch IV wurde am 31. Oktober entmilzt, am 1. November mit 0,3 Embryonenbrei immunisiert und am 11. November mit 0,1 Carcinom geimpft.

Auch hier ist eine, wenn auch geringere Differenz vorhanden, da die entmilzten Tiere 80 Proz., die nicht entmilzten 71 Proz. und die normalen Kontrollen $87\frac{1}{2}$ Proz. Ausbeute lieferten.

Versuch V. Entmilzung am 2. November, Immunisierung mit 0,3 Embryonenbrei am 4. November, Nachimpfung mit 0,1 Carcinombrei am 19. November.

Ausbeute bei den entmilzten sowohl wie bei den unvorbehandelten Kontrolltieren 90 Proz., bei den nur immunisierten Kontrollen $66\frac{1}{2}$ Proz.

In dem folgenden Versuch VI, bei dem die Entmilzung am 5. November geschah, wurde doppelt immunisiert, am 6. November mit Embryonenbrei und am 22. November mit Spontantumor. Impfung mit Carcinom am 2. Dezember.

Vermutlich ist hier infolge der doppelten Immunisierung die Resistenz stärker ausgesprochen, aber auch wieder unter Wahrung einer beträchtlichen Differenz zwischen den entmilzten Tieren (77 Proz.) und den nicht entmilzten (44 Proz.) bei 100 Proz. normaler Ausbeute.

In dem Versuch VII wurde ebenfalls 2 mal immunisiert, mit Embryonenbrei am 2. November, mit Spontantumor am 18. November — die Entmilzung geschah am 1. November — doch war hier der Immunisierungseffekt nicht so stark wie im vorhergehenden Versuch; denn einer Ausbeute von 90 Proz. bei den Entmilzten steht eine solche von 75 Proz. bei den nur Immunisierten gegenüber. Normale Kontrollen geben 100 Proz.

Endlich teile ich noch zwei Versuche mit, die nach der inzwischen erfolgten Veröffentlichung Brancatis als Bestätigung seiner Angabe aufzufassen sind, daß durch die Entmilzung eine vorhandene Immunität gebrochen werden kann. Hier ging die Immunisierung also der Entmilzung voraus.

Versuch VIII. Erste und zweite Immunisierung mit Spontantumor am 10. und 23. Oktober, dritte Immunisierung mit Embryonenbrei am 4. November. Entmilzung am 14. November. Impfung mit Carcinom am 15. November.

Der Erfolg ist eklatant. Ausbeute bei den entmilzten Tieren ebenso wie bei den unvorbehandelten Kontrollen 100 Proz., bei den nur immunisierten 66 Proz.

Der letzte Versuch IX schließlich ist der einzige, in dem die Ausbeute bei den entmilzten Tieren mit 46 Proz. etwas geringer war als die der nur immunisierten mit 50 Proz. Diese unbedeutende Differenz wird aber wohl dadurch aufgewogen, daß die gewachsenen Tumoren bei den entmilzten Tieren unzweifelhaft größer waren. Im übrigen erklärt sich das von allen anderen Versuchen abweichende Resultat dieser Serie vermutlich dadurch, daß hier keine weitere Immunisierung stattfand, sondern daß lediglich Tiere benutzt wurden, die am 28. April mit einem nicht sehr gut angehenden Sarkomstamm ergebnislos vorgeimpft waren und am 6. Juli mit 0,05 Carcinom nachgeimpft wurden. Hier lagen also zwischen erster und zweiter Impfung fast $2\frac{1}{2}$ Monate, eine Zeit, innerhalb der auch andere Organe des Körpers ihre Resistenz erhöhende Tätigkeit so entwickelt haben können, daß der Ausfall der Milz nicht mehr in die Erscheinung tritt.

Sehen wir daher von dieser Serie ab, so ergibt sich als durchgehendes Resultat, daß entsprechend unserer theoretischen Voraussetzung die Resistenzerhöhung gegen Impfgeschwülste durch Entfernung der Milz tatsächlich deutlich erschwert wird. Zuweilen scheint die Immunisierung, wenigstens nach einmaliger Vorbehandlung, gänzlich zu versagen. In anderen Fällen ist ein geringer, nach zweimaliger Vorimpfung deutlicherer Immunisierungseffekt vorhanden, der aber niemals den bei den nicht entmilzten, immunisierten Kontrollen erreicht. Daß die Resistenz eines entmilzten Tieres, wenn auch schwerer als die eines normalen, überhaupt erhöht werden

kann, spricht keineswegs gegen die Rolle, die wir nach den mitgeteilten Ergebnissen der Milz bei der Immunisierung zuerkennen müssen. Denn selbstverständlich ist die Milz nicht das einzige Organ, dem in dieser Frage eine Bedeutung zukommt, wohl aber ist sie das einzige, dessen Anteil durch Exstirpation experimentell festgestellt werden kann.

Die Wahrscheinlichkeit, daß noch andere Organe an der Resistenzhöhung beteiligt sind, hat mich bestimmt, das Intervall zwischen Entmilzung und Immunisierung möglichst zu verkürzen, um den anderen Organen keine Zeit zu kompensatorischem Eintreten zu lassen. Um in dieser nicht unwichtigen Frage klarer zu sehen, dürften sich weitere Versuche mit stark variierten Intervallen empfehlen.

Das Resultat des Versuches VIII, in welchem die Immunität noch bei einem Intervall von mehr als 1 Monat zwischen erster Vorimpfung und Entmilzung durch letztere vollständig gebrochen werden konnte, spricht für die dominierende Bedeutung der Milz. Es wird aber ebenfalls weiterer Versuche bedürfen, um den möglichen Einfluß individueller Verhältnisse in dieser interessanten Frage festzustellen.

Es liegt natürlich nahe, das Ergebnis dieser Untersuchungen in Beziehung zu den Heilwirkungen zu bringen, über die Braunstein und später Lewin und Meidner¹⁾ mit der Injektion von Milzen geimpfter Tumortiere berichtet haben. Ich halte jedoch weder die Natur der aktiven Geschwulstimmunität noch das Wesen dieser Heilwirkungen für weitgehende Schlüsse genügend geklärt. Keinesfalls kann ich in den zur Zeit vorliegenden Tatsachen einen zwingenden Beweis für die Produktion echter Geschwulstantikörper in der Milz erblicken.

Zusammenfassung.

Das Zustandekommen einer aktiven Resistenz des Körpers gegen das Angehen geimpfter Geschwulstzellen kann durch eine Milzexstirpation verhindert oder zum mindesten erheblich erschwert werden.

1) Zeitschr. f. Krebsf., Bd. 11, 1912.

Nachdruck verboten.

Anaphylatoxin, Peptotoxin und Pepton in ihren Beziehungen zur Anaphylaxie.

Ergänzungen und Richtigstellungen zu der gleichnamigen Arbeit von A. Besredka, H. Ströbel und F. Jupille.

Von **A. Lurà**,

Assistent der Medizinischen Klinik (Prof. Forlanini) Pavia.

In der unter dem obigen Titel in Bd. 16, Heft 3 dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit bezwecken Besredka, Ströbel und Jupille, wie sie in der Einleitung bemerken, „dem Siegeslauf der Anaphylatoxinlehre etwas Einhalt zu tun“ und die Vorstellung zu widerlegen, „die sich Friedberger über den Ablauf der Anaphylaxie zurecht gemacht hat“ (sic!)¹). Ob die Mitteilung der genannten Autoren bei dem sachkundigen Leser diesen Effekt hat, kann füglich bezweifelt werden. Sofern bei dem fernerstehenden aber ein derartiger falscher Eindruck erweckt werden könnte, wäre es lediglich darauf zurückzuführen, daß Besredka, Ströbel und Jupille in einer bei wissenschaftlichen Publikationen sonst nicht üblichen Weise die zahlreichen älteren Arbeiten, die ihren Befunden widersprechen und deren Deutung widerlegen, mit keinem Wort erwähnt haben.

Die Ergebnisse, die in der vorliegenden Arbeit der genannten Autoren mitgeteilt werden, sind bereits im wesentlichen in einer Reihe von vorläufigen Mitteilungen in den „Comptes rendus de la Société de Biologie 1911“ veröffentlicht. Dort heißt es unter anderen Bd. 71, p. 599 (Sitzung vom 9. Dezember 1911):

1) Eine derartige etwas ungewöhnliche Ausdrucksweise von Seiten Besredkas und seiner Mitarbeiter muß um so mehr Verwunderung erregen, als doch gerade die Anaphylaxiethorie Besredkas und seine dualistische Auffassung zweier Körper im Eiweiß (Sensibilisinogen und Antisensibilisin), wie Doerr, Friedberger u. a. gezeigt haben, mit den Tatsachen nicht im Einklang steht und von Besredka selbst in den wesentlichen Punkten aufgegeben werden mußte.

„Or, ce pouvoir toxique doit tenir à l'adsorption de la peptone par des bacilles typhiques; car d'une part, une injection préalable de peptone ($\frac{1}{2}$ c. c. de solution à 10 p. 100) dans les veines préserve le cobaye, dix minutes après, contre une dose sûrement mortelle de cette substance dite anaphylatoxine typhique; d'autre part, cette dernière n'apparaît pas lorsque, toutes conditions égales d'ailleurs, on fait usage des bacilles typhiques „non peptonés“ c'est-à-dire de bacilles typhiques ayant poussé sur gélose ne renfermant pas de peptone.

Und ferner *ibid.* p. 691 (Sitzung vom 23. Dezember 1911):

Dans une note récente, nous avons montré que les bacilles typhiques cultivés sur gélose peptonée, adsorbent la peptone et donnent lieu, sous l'influence du sérum frais de cobaye, à un poison que nous avons appelé peptotoxine.

Nous avons observé depuis le même phénomène pour les méningocoques et les bacilles diphtériques. Nous avons vu notamment que suivant que l'on a affaire à des meningocoques „peptonés“ ou „apeptonés“, on produit ou on ne produit pas de peptotoxine.

Il en est de même des bacilles de la diphtérie que l'on cultive sur gélose à pommes de terre, avec ou sans peptone: les bacilles diphtériques peptonés additionnés de sérum de cobaye (3 c. c.) donnent lieu à la peptotoxine mortelle en une ou deux minutes; la même dose ou même une dose plus forte de bacilles cultivés sur gélose exempte de peptone, ne produit pas le moindre trouble, dans les conditions identiques.

Hier behaupten also Besredka und seine Mitarbeiter klipp und klar, daß die Anaphylatoxinbildung nur aus Bakterien gelingt, welche auf peptonhaltigen Nährböden gewachsen sind, und sie sind geneigt, das von den Bakterien aufgenommene Pepton dieser Nährböden für die Muttersubstanz des Anaphylatoxins zu halten. Wir hätten also im Bakterienanaphylatoxin lediglich ein Kunstprodukt vor uns, das nur aus Kulturbakterien entsteht und nicht, wie Friedberger annimmt, ein Gift, das auch unter den natürlichen Verhältnissen des Geschehens, also bei der Infektion im Organismus sich bildet.

Durch eine ganze Reihe von Autoren wurde alsbald die Unrichtigkeit der von Besredka aufgestellten Behauptungen dargetan.

Leider aber scheinen Besredka und seinen Mitarbeitern diese Arbeiten entgangen zu sein.

Bereits in der Sitzung der Mikrobiologischen Gesellschaft vom 9. Januar 1912¹⁾ konnte Friedberger über Versuche

1) Berliner klin. Wochenschr., 1912, p. 275/76.

berichten, denen zufolge auch Bakterien, die auf peptonfreiem Agar und auf Kartoffeln gewachsen waren, Anaphylatoxin bildeten. Uebrigens sprachen, wie auch an anderer Stelle bereits betont worden ist, schon die älteren Versuche von Friedberger und Nathan ¹⁾, die aus Exsudatbakterien und Versuche von Friedberger und Szymanowski ²⁾, die aus im Meerschweinchenorganismus gewachsenen und durch fraktionierte Zentrifugierung vom Blut befreiten Trypanosomen Anaphylatoxin erhielten, gegen die Richtigkeit der Besredkaschen Annahme. In diesen Versuchen kommt doch ein Pepton aus irgendeinem Nährboden überhaupt nicht in Frage.

In einer weiteren Arbeit habe ich ³⁾ alsdann die vorerwähnten Versuche fortgesetzt und gefunden, daß Prodigiosusbacillen und Typhusbacillen, die auf peptonfreiem Agar gewachsen sind, im strikten Gegensatz zu den Angaben von Besredka und seinen Mitarbeitern ebensogut und ebensoviel Anaphylatoxin bilden, wie gleiche Mengen der betreffenden Bakterien, die auf gewöhnlichem peptonhaltigen Agar gezüchtet waren. Ich faßte damals das Resultat meiner Arbeit wie folgt zusammen:

„Es wird gezeigt, daß die Anaphylatoxinbildung aus Bakterien nicht durch das Pepton des Nährbodens bedingt sein kann.

Im Gegensatz zu Besredka und Ströbel gelang uns die Anaphylatoxinabspaltung aus Kulturen, die auf peptonfreiem Nährboden gewachsen waren. Ferner ist an die Versuche zu erinnern, in denen das Gift aus Mikroorganismen abgespalten wurde, die nur im Tiere gezüchtet sind.“

Zu vollkommen analogen Resultaten kam Bierbaum und Boehncke ⁴⁾, Boehncke ⁵⁾ ⁶⁾ in einer Reihe von Arbeiten aus dem Ehrlichschen Institut. Sie haben das Bakterienmaterial zu ihren Versuchen von Nährböden mit normalem und vermehrtem Peptongehalt, von peptonfreien und eiweiß-

1) Diese Zeitschr., Bd. 9, p. 444.

2) Diese Zeitschr., Bd. 9, p. 379.

3) Lurà, diese Zeitschr., Bd. 12, p. 701.

4) Bierbaum und Boehncke, Berl. tierärztl. Wochenschr., 1912. No. 14.

5) Boehncke, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 72, p. 305.

6) Boehncke und Bierbaum, Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, 1912, p. 504.

freien Nährböden gewonnen. Ihre Resultate ergeben sich aus nachstehenden Zitaten.

Boehncke schreibt (Zeitschr. f. Infektionskrankh., Bd. 72, p. 313):

„Aus dem Versuche dürfte einwandfrei hervorgehen, daß auch aus Meningokokken, die auf peptonfreiem Agar gewachsen sind, die Abspaltung des Anaphylatoxins gelingt, danach die Anaphylatoxinbildung aus Bakterien nicht durch das Pepton des Nährbodens bedingt sein kann und somit der von den französischen Autoren für das Anaphylatoxin gewählte Ausdruck „Peptotoxin“ den tatsächlichen Verhältnissen nicht entspricht“.

In der jüngsten Arbeit (Boehncke und Bierbaum, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 65) heißt es p. 505:

„Bei der Nachprüfung der Versuche der französischen Autoren konnten Lurà, ferner Bierbaum und Boehncke sowie Boehncke zeigen, daß dem Pepton nicht die entscheidende Rolle bei der Abspaltung des Bakterienanaphylatoxins zuzuschreiben ist, wie dies von Besredka und Ströbel geschieht¹⁾. Die genannten Autoren fanden bei der Darstellung des Anaphylatoxins in vitro aus den verschiedensten Bakterien (Typhus-, Prodigiosus- und Milzbrandbacillen sowie Meningokokken), daß ein Peptongehalt des Nährbodens völlig irrelevant ist für die Möglichkeit einer Abspaltung des Bakterienanaphylatoxins. Ihre Versuche zeigten, daß sich aus Bakterien, die auf peptonfreiem Agar gezüchtet waren, ebensogut Anaphylatoxin abspalten ließ, wie aus Kulturen von peptonhaltigem Agar. Ebenso ließ eine Erhöhung des Peptongehaltes des Nährmediums Erscheinungen vermischen, die im Sinne einer vermehrten Bildung des anaphylaktischen Giftes zu deuten gewesen wären, wie dies nach der Hypothese von Besredka und Ströbel vermutet werden konnte (Boehncke).“

Weiterhin berichtet dann Friedberger in der Sitzung der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft vom 28. März 1912 (Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 21, p. 1008) mit Joachimglu über die Anaphylatoxinabspaltung aus auf albumosefreien Nährböden gewachsenen Tuberkelbacillen.

Auch bei dieser Bakterienspecies war kein Unterschied zwischen den auf peptonfreiem Nährboden gewachsenen Mikroorganismen und den auf gewöhnlichen Nährböden gezüchteten bezüglich der Anaphylatoxinbildung. Alle diese Arbeiten waren geraume Zeit vor dem Eingang der vor-

1) Im Original nicht gesperrt.

liegenden Mitteilung von Besredka und seinen Mitarbeitern erschienen. Die jeglicher literarischen Gepflogenheit widersprechende gänzliche Ignorierung dieser seinen früheren Angaben direkt entgegengesetzten Befunde seitens Besredka und seiner Mitarbeiter ist um so verwunderlicher und unerklärlicher, als doch speziell meine Arbeit von Besredka selbst in dem „Bulletin des Annales de l'Institut Pasteur“¹⁾ besprochen worden ist und sie weiterhin den Gegenstand eines literarischen Streites zwischen dem einen der Mitarbeiter von Besredka (Ströbel) und mir war²⁾.

Auch sämtliche Arbeiten, die während der Drucklegung der Arbeit von Besredka, Ströbel und Jupille erschienen sind, wenden sich strikte gegen die in den „Comptes rendus“ mitgeteilten Befunde dieser Autoren.

Sowohl Joachimoglu³⁾ wie auch Szymanowski⁴⁾ leugnen, daß auf peptonfreien Nährböden gewachsene Bakterien schlechter Anaphylatoxin bilden als die auf peptonhaltigen gewachsenen. (Szymanowski ist sogar geneigt, die auf peptonfreien Nährböden gewachsenen Bakterien für geeigneter zur Giftbildung zu halten.) Und endlich konnten Friedberger und Kapsenberg⁵⁾ auch zeigen, daß längere Zeit von Tier zu Tier fortgezüchtete Bakterien („tierische Bacillen“ Bails) gleichfalls ausgezeichnetes Anaphylatoxin liefern.

Aus allen diesen Arbeiten geht also hervor, daß das Pepton des Nährbodens mit der Anaphylatoxinbildung nichts zu tun hat. Alle diese von Besredka nicht zitierten Autoren erklären einmütig seine Befunde als unzutreffend. Nun sagt allerdings Besredka in seiner jetzigen Arbeit (l. c. p. 258) bezüglich des Anaphylatoxins aus Bakterien, nachdem er die Frage der Bildung aus dem Pepton erörtert hat, noch folgendes:

-
- 1) Bd. 10.
 - 2) Diese Zeitschr., Bd. 13, p. 123, 124.
 - 3) Diese Zeitschr., Bd. 14, p. 280.
 - 4) Diese Zeitschr., Bd. 16, p. 13.
 - 5) Ibid., p. 152.

„Auch eine andere Erklärung ist nicht ganz von der Hand zu weisen. Wie wir früher bereits gezeigt haben, so entsteht Peptotoxin auch bei Einwirkung des Komplementes auf präzipitiertes Serum, d. h. einen Eiweißkörper, der noch vollständig unaufgespalten ist; es ist nicht ausgeschlossen, daß das Komplement auf den im Bakterium enthaltenen Eiweißkörper einwirkt und ihn zu Peptotoxin aufspaltet. Wird also der Agar noch so gründlich von seinem Pepton befreit, so bildet sich trotzdem wieder etwas Peptotoxin infolge der Aufspaltung des Bakterieneiweißes.“

Danach scheint Besredka also jetzt, soweit ich die nicht sehr klare Fassung verstehe, in Uebereinstimmung mit den vorzitierten Autoren, auch an die Bildung des Anaphylatoxins aus Bakterien ohne Intervention des Nährbodenpeptons zu glauben. Dazu haben ihn vielleicht doch die Resultate der vorerwähnten Arbeiten, soweit sie ihm bekannt waren, was für die meinige ja sicher der Fall ist, veranlaßt. Denn die Tatsache, daß sich aus Präzipitaten akut wirkendes Gift bildet, war ja schon jahrelang vor der ersten Mitteilung Besredkas über das Peptotoxin und nicht etwa durch ihn bekannt. Nur sei noch einmal bezüglich des Bakterienanaphylatoxins hervorgehoben, daß, wenn der Agar von seinem Pepton befreit ist, sich nicht „trotzdem immer wieder etwas Peptotoxin infolge der Aufspaltung des Bakterieneiweißes bildet“, sondern daß eben die Anaphylatoxinbildung gänzlich unabhängig von dem Pepton des Nährbodens erfolgt. Es wäre sicher für die Klärung des ganzen Problems zweckmäßiger, wenn auch Besredka, anstatt unsere Befunde gänzlich außer acht zu lassen, einfach erklären wollte, daß seine Angaben, wonach die Anaphylatoxinbildung aus Bakterien vom Pepton des Nährbodens abhängig ist, auf einem Irrtum beruht, und daß seine diesbezüglichen früher veröffentlichten Angaben keine allgemeine Gültigkeit beanspruchen können.

Auf die Frage der Verschiedenheit des Anaphylatoxins vom Endotoxin brauche ich nicht weiter einzugehen, da ich die Divergenzen bereits in der früheren, Besredka ja bekannten Arbeit klargestellt habe. Hiervon haben die Autoren auch jetzt keine Notiz genommen. Daß das Bakterieneiweiß (Endotoxin) an sich nicht giftig ist und lediglich als die Muttersubstanz

des Anaphylatoxins anzusehen ist, hat Friedberger¹⁾, wie an dieser Stelle hinlänglich bekannt sein dürfte, seit Jahren auf Grund von Versuchen ausführlich dargetan. In besonders sinnfälliger Weise beweisen es die im Vorjahr auf dem Mikrobiologentag demonstrierten Darmkurven von Friedberger und Kumagai²⁾. Wenn also Besredka erneut darauf hinweist und darauf, daß das Anaphylatoxin nicht spezifisch ist, daß es nicht durch Antiserum neutralisiert wird usw., so ist das nur eine Wiederholung längst bekannter Tatsachen.

Wenn Besredka und seine Mitarbeiter aus Pepton allein nur dann ein Anaphylatoxin erhielten, wenn sie die Lösung auf Agar ausgossen, und wenn sie daraus schließen, daß „zur Darstellung des Peptotoxins die Anwesenheit von Pepton noch nicht genügend ist, daß letzteres sich vielmehr in einem ganz besonderen physikalischen Zustand befinden muß, wenn es vom Komplement digeriert werden soll“, so ist das gleichfalls irrtümlich. Schon vor über 2 Jahren haben Friedberger und Mita³⁾ gezeigt, und Abderhalden hat es bestätigt, daß sich aus Pepton und Komplement allein Anaphylatoxin bildet. Auch diese Angaben mußten Besredka bekannt sein, da sie in meiner vorzitierten, von ihm referierten Arbeit ausführlich diskutiert sind⁴⁾.

1) Berl. klin. Wochenschr., 1910; Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910—12; Fortschr. der deutschen Klinik, Bd. 2, 1911; Bakterizide Sera in Kolle-Wassermanns Handbuch, II. Aufl.

2) Friedberger und Kumagai, Verhandl. der Mikrobiol. Vereinigung 1912. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, p. 39.

3) Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 7—9, No. 11 (Vortrag im Verein für innere Medizin Berlin).

4) Anmerkung bei der Korrektur: Neuerdings hat Bordet (Comptes rendus Soc. de Biol., T. 74, 1913, No. 5) auch Anaphylatoxin aus reinem Agar durch Meerschweinchenserum erhalten. Es dürfte sich danach in den Versuchen Besredkas nicht um einen „ganz besonderen physikalischen Zustand des Peptons“ handeln, sondern einfach um eine Summation, d. h. die Bildung einer tödlichen Giftdosis aus an sich ungenügenden Pepton Dosen mit gleichfalls an sich unwirksamen Mengen von Agar. Was übrigens die Ursache der Giftbildung aus Agar anlangt, so braucht sie nach der mir von Herrn Prof. Friedberger mitgeteilten Ansicht nicht mit Bordet (im Sinne von Sachs und Ritz, Doerr usw.) als eine physikalische Adsorption erklärt zu werden. Es könnte sich vielmehr um eine Giftabsplaltung aus dem im Agar nach den vorliegenden Analysen

Auch die Bestrebungen von Besredka und seinen Mitarbeitern, einen Unterschied zwischen Anaphylatoxinvergiftung und Anaphylaxie auf Grund von Antianaphylaxieversuchen zu konstruieren, sind nicht als beweisend anzusehen. Ihre diesbezüglichen Mitteilungen decken sich im wesentlichen mit den den Autoren wiederum anscheinend unbekanntem älteren Versuchen von Friedberger, Szymanowski, Kumagai, Odaira und mir¹⁾. Nur übersehen sie die von Friedberger und seinen Mitarbeitern aufgedeckten komplizierten Beziehungen zwischen echter Antianaphylaxie und einer allgemeinen Resistenz, wie sie durch Pepton, Anaphylatoxin usw. hervorgerufen wird. Besredka bestätigt wohl die Angaben dieser Autoren, daß Anaphylatoxin gegen Pepton schützt und umgekehrt, aber er übersieht, was schon vor Jahren von De Waele, Biedl und Kraus festgestellt und wegen Nichtberücksichtigung der quantitativen Beziehungen von letzteren irrtümlich gedeutet worden ist, daß Pepton auch eine geringe Resistenz bedingt gegen aktive Anaphylaxie und umgekehrt. Wenn also Besredka aus wechselseitigem Schutz zwischen Anaphylatoxin, Pepton und Peptotoxin auf die Identität dieser Substanzen zu schließen geneigt ist, so müßte er logischerweise aus der von ihm nicht berücksichtigten Tatsache, daß diese Substanzen annähernd im gleichen Grad auch gegen aktive Anaphylaxie schützen, auch die aktive Anaphylaxie mit diesen Vergiftungen identifizieren.

enthaltenen Eiweiß handeln, dessen Mengen nach Friedberger hinlänglich denen entsprechen, mit welchen Friedberger und Nathan Anaphylatoxin aus Hammelserum, Pferdeserum usw. durch normales Meer-schweinchenserum erhielten. Die Giftabspaltung gelingt übrigens nach Friedberger auch mit verflüssigtem und bei 45° in Normalmeer-schweinchenserum flüssig erhaltenem Agar.

1) Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie. Sitzung vom 1. Juni 1912. Diese Zeitschr., Bd. 14, p. 371.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVII. No. 3.

Nachdruck verboten.

[Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.]

Recherches sur le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie.

Première communication.

Expériences chez le cobaye.

Par **Edgard Zunz.**

Avec 2 figures dans le texte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Dezember 1912.)

I. Introduction.

On s'est déjà occupé à plusieurs reprises des modifications du pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'état d'anaphylaxie et du choc anaphylactique.

Pfeiffer et Mita¹⁾ n'ont pas réussi à déceler de produits biurétiques incoagulables (protéoses et peptones) dans le sérum de cobaye prélevé en plein choc anaphylactique ou immédiatement après la mort par anaphylaxie. Mais si l'on maintient du sérum de cobayes en état d'anaphylaxie un jour à 37° avec les protéines sensibilisatrices, il se forme des composés biurétiques incoagulables. Le sérum d'animaux en état d'antianaphylaxie perdrait ce pouvoir pendant un très court laps de temps pour le voir ensuite reparaitre. Friedberger²⁾ et Kammann³⁾ ont confirmé les résultats de Pfeiffer et Mita. Kammann fait toutefois remarquer qu'on observe dans ces conditions une faible réaction du biuret dans les tubes témoins. Récemment Abderhalden⁴⁾ est parvenu à déceler des produits biurétiques incoagulables et dialysables dans le sérum prélevé 30 à 90 minutes après la réinjection de blanc d'œuf chez des cobayes sensibilisés 18 jours auparavant par ce même produit.

1) H. Pfeiffer und S. Mita, diese Zeitschr., Bd. 6, 1910, p. 18—87.

2) E. Friedberger, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 37, 1911, p. 428; diese Zeitschr., Bd. 9, 1911, p. 381.

3) Kammann, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, p. 659—672.

4) E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 82, 1912, p. 109—112.

Abderhalden et Pincussohn¹⁾ se sont servi de la méthode optique proposée par Abderhalden²⁾. Si l'on injecte de la solution à 1%, de sérum de cheval sous la peau ou dans le péritoine d'un cobaye, le sérum de cet animal n'acquiert qu'au bout de 6 jours environ la propriété de scinder la peptone de soie „Roche“ ou le sérum de cheval. Le pouvoir de clivage du sérum de cobaye ne s'accroît pas de manière manifeste les jours suivants. Il ne semble pas subir de modifications appréciables pendant le choc anaphylactique ou immédiatement après celui-ci. Sans nier toute relation entre l'apparition de peptidases dans le sang et l'anaphylaxie sérique, Abderhalden et Pincussohn estiment que la production du choc anaphylactique lors de l'injection déchaînant ne dépend pas directement des enzymes désintégrants apparus dans le plasma après l'introduction parentérale de protéines dans l'organisme. Cette opinion se base surtout sur l'apparition du pouvoir de scindage du plasma à une époque où l'on ne parvient pas encore à provoquer le choc anaphylactique.

Pfeiffer et Mita ont décelé une notable augmentation de la déviation de la lumière polarisée dans des mélanges de sérum de cobayes sensibilisés et de la substance sensibilisatrice. Gruber³⁾ rapporte des faits analogues.

Les poisons cellulaires dérivés de l'antigène introduit lors de l'injection déchaînant sont très probablement des produits intermédiaires de désintégration des protéines. Leur faible quantité et leur rapide disparition du torrent circulatoire permettent de comprendre les résultats, en apparence discordants, des expériences d'Abderhalden et Pincussohn d'une part, de Pfeiffer et Mita d'autre part.

Kammann reproche à la méthode optique son application malaisée dès qu'on opère avec des concentrations de sérum supérieures à 1%. Selon cet auteur, le grand nombre de substances contenues dans le sérum et leur complexité entraîneraient des processus secondaires qui influenceraient dans une assez grande mesure l'action principale recherchée.

Kammann a appliqué la méthode de Müller et Jochmann⁴⁾ à l'étude du pouvoir protéoclastique du sérum d'animaux en état d'anaphylaxie sérique. Il n'est pas arrivé de cette façon à des données bien nettes. Ceci n'a rien d'étonnant en présence des nombreuses causes d'erreur du

1) E. Abderhalden und L. Pincussohn, *Zeitschr. f. physiolog. Chemie*, Bd. 61, 1909, p. 200—204; *ibid.*, Bd. 62, 1909, p. 243—249; *ibid.*, Bd. 64, 1910, p. 100—109, 433—435; *ibid.*, Bd. 66, 1910, p. 88—105; *ibid.*, Bd. 71, 1911, p. 110—119.

2) E. Abderhalden, *Handb. d. biochem. Arbeitsmeth.*, Bd. 5, 1911, p. 575—583.

3) G. B. Gruber, *diese Zeitschr.*, Bd. 7, 1910, p. 762—777.

4) E. Müller und G. Jochmann, *Münch. med. Wochenschr.*, Bd. 53, 1906, p. 1393—1395, 1507—1510, 1552; *ibid.*, Bd. 53, 1906, p. 2002—2004. — Marcus, *Berl. klin. Wochenschr.*, Bd. 45, 1908, p. 1349—1351; *ibid.*, Bd. 46, 1909, p. 156—160.

procédé préconisé par Müller et Jochmann¹⁾, qui me paraît de loin inférieur à la méthode optique d'Abderhalden.

Celle-ci rend de très grands services sans offrir de difficultés spéciales, du moment où l'on suit strictement les prescriptions d'Abderhalden et où l'on n'en exagère pas la valeur. Ainsi que le savant physiologiste de Halle l'a fort bien mis en lumière „ist die optische Methode nur als eine Pfadfinderin aufzufassen. Sie darf nie allein zur Entscheidung eines bestimmten Problems verwendet werden. Die Verfolgung resp. Feststellung des Drehungsvermögens von Körperflüssigkeiten mit und ohne Zusatz bestimmter Substrate ergibt in vielen Fällen Einblick in Vorgänge, auf die wir sonst nicht so leicht aufmerksam werden. Sind einmal bestimmte Beobachtungen gemacht, dann müssen direkte Methoden den ganzen Vorgang analysieren“²⁾).

Segale³⁾ est le seul auteur qui se soit jusqu'à présent, à ma connaissance du moins, préoccupé d'étudier directement le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. Il a déterminé la teneur en azote des acides aminés par la méthode au formol de Sørensen avant et après l'injection déchainante intraveineuse de sérum de bœuf chez un chien sensibilisé par une injection intrapéritonéale de ce même sérum 25 jours auparavant. Pendant les phénomènes du choc anaphylactique la teneur en azote aminé du sérum sanguin de cet animal s'est accrue de moitié. Le lendemain de la réinjection, le chien était entièrement remis et la teneur en azote aminé du sérum était revenue à la normale.

Les considérations précédentes montrent le grand intérêt de la détermination directe des variations du pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. Elles m'engagent à communiquer dès à présent, malgré leurs nombreuses lacunes, les résultats des recherches que j'ai poursuivies jusqu'à présent dans cette voie⁴⁾. J'indiquerai dans le premier mémoire tout ce qu'est relatif à la technique suivie au cours de ces expériences pour ne plus devoir y revenir par la suite.

II. Technique.

Ainsi qu'Emil Fischer l'a montré, les protéines sont essentiellement constituées par des chaînes d'acides aminés analogues à celles rencontrées

1) E. Zunz, Mém. de l'Acad. de Médec. de Belgique, T. 20, 1909, fasc. 1, p. 18.

2) E. Abderhalden, l. c., p. 583.

3) M. Segale, Pathol., Vol. 4, 1912, p. 12—13.

4) J'ai fait des communications préliminaires à ce sujet aux séances du 27 Mai 1911 et du 25 Octobre 1912 de l'Académie royale de Médecine de Belgique (Bull. 1911, p. 455—456, 1912, p. 623—639). Mes recherches étaient déjà depuis longtemps en cours lorsqu'a paru l'intéressante note de M. Segale sur le même sujet.

dans les polypeptides synthétiques obtenus par l'éminent chimiste berlinois. On doit, par conséquent, considérer les radicaux peptidiques — CONH — comme la partie principale des molécules protéiques. Toute scission de protéines constitue, en réalité, une hydrolyse avec formation de groupes carboxyles et amines en nombre égal aux dépens des radicaux peptidiques. On se rend aisément compte du degré de l'hydrolyse par le nombre de radicaux peptidiques scindés. Pour cela, il suffit d'établir la teneur en azote aminé du liquide examiné avant et après hydrolyse totale par l'acide chlorhydrique bouillant et de calculer le rapport entre ces 2 chiffres.

Deux méthodes permettent de doser l'azote aminé. Ce sont celles de Sørensen¹⁾ et de van Slyke²⁾. Toutes deux présentent des avantages et des inconvénients.

Le procédé de Sørensen exige un traitement préalable du liquide examiné afin de le débarrasser de l'ammoniaque. Le point de neutralité à partir duquel on doit commencer le titrage au formol n'est pas toujours fort aisé à déterminer³⁾ dans un milieu aussi complexe que les mélanges de sérum ou de sang défibriné et de protéose ou sérum de bœuf. Leur coloration assez foncée nécessite souvent leur traitement préalable de la façon indiquée par Sørensen et Jessen-Hansen⁴⁾.

Ces divers motifs m'ont amené à renoncer, après quelques expériences préliminaires, à l'emploi de la méthode de Sørensen et à me servir plutôt du procédé gasométrique de van Slyke.

D'ordinaire, l'acide nitreux a agi pendant 5 minutes sur les divers mélanges examinés. Dans l'expérience dont les résultats sont rassemblés dans le tableau V, la méthode de van Slyke a été, en outre, appliquée aussi en laissant l'acide nitreux agir pendant 10 minutes. J'ai utilisé un appareil de van Slyke un peu modifié de manière à augmenter la précision des lectures des volumes de liquide soumis à l'action de l'acide nitreux et de gaz dégagé⁵⁾. J'ai dû recourir à l'addition d'alcool amylique lors du traitement par l'acide nitreux des mélanges renfermant du sérum et surtout de ceux contenant du sang défibriné. Malgré cette précaution, je ne suis pas toujours parvenu à éviter le passage de quelques gouttes du liquide examiné du vase à désamination jusque dans l'éprouvette gasométrique. De plus, bien que l'agitation du mélange ait été fréquemment répétée pendant l'action de l'acide nitreux, on n'est pas toujours absolument certain d'observer endéans le même laps de temps le même dégagement

1) E. Zunz, Emil Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmeth., Bd. 3, 1910, p. 227—230.

2) D. D. van Slyke, E. Abderhaldens Handb. d. bioch. Arbeitsmeth., Bd. 5, 1911, p. 995—1002.

3) E. Zunz, Bickels Beitr., Bd. 2, 1910, p. 372—412.

4) S. P. L. Sørensen und H. Jessen-Hansen, Bioch. Zeitschr., Bd. 7, 1908, p. 407—420.

5) E. Zunz, Bull. de l'Acad. roy. de Médec. de Belgique, 4^e série, T. 26, 1912, p. 282—319.

d'azote aminé aliphatique. Aussi n'ai je parfois pas obtenu de chiffres identiques dans les 2 déterminations effectuées avec chaque mélange examiné. Une troisième et même une quatrième détermination ont été effectuées dans ces cas lorsque le volume total du mélange envisagé le permettait. Je n'ai tenu compte que des 2 résultats les plus concordants et j'en ai pris la moyenne.

Pour la facilité des calculs, j'ai ramené les chiffres d'azote aminé aliphatique trouvés dans les divers mélanges par la méthode de van Slyke et ceux d'azote total déterminés par la méthode de Kjeldahl aux quantités de ces 2 espèces d'azote contenues dans 10 c.c. de chaque mélange. J'ai ensuite calculé combien de % de l'azote total existe dans chaque mélange à l'état d'azote aminé aliphatique.

Les différents mélanges soumis à l'hydrolyse ont été additionnés d'acide chlorhydrique concentré en quantité suffisante pour réaliser une solution 5-normale de cet acide. Ils ont été chauffés pendant une heure et demie à 150° C à l'autoclave sous 8 atmosphères de pression. On s'est débarrassé de l'acide chlorhydrique par évaporation au bain-marie. On a redissout le résidu dans 20 c.c. d'eau distillée bouillie. Après filtration, on a déterminé dans des quantités appropriées de filtrat l'azote total et l'azote aminé aliphatique. On a ramené ces chiffres à 10 c.c. de filtrat. On a calculé combien de % de l'azote total se trouve dans chaque liquide hydrolysé à l'état d'azote aminé aliphatique. En divisant par ce chiffre la teneur centésimale en cet azote du même liquide non hydrolysé multipliée par 100, on obtient le degré d'hydrolyse.

Par suite des causes d'erreur mentionnées plus haut et d'autres signalées récemment par van Slyke²⁾, on ne peut attribuer qu'une valeur relative aux chiffres d'azote aminé aliphatique.

Pour obtenir des résultats précis par la méthode de van Slyke dans l'examen du sang, il faut débarrasser au préalable les liquides examinés des protéines, maintenir une agitation continue pendant l'action de l'acide nitreux, vérifier de la façon indiquée par van Slyke si la réaction est bien achevée et effectuer les légères corrections dues à la présence d'urée et de traces d'ammoniaque dans le sang. Pour empêcher la formation d'écume, il vaut mieux substituer l'alcool caprylique à l'alcool amylique. On doit avoir soin d'employer toujours le même volume, aussi restreint que possible d'alcool caprylique.

Le mémoire dans lequel van Slyke expose ces diverses modifications à la méthode de dosage gasométrique de l'azote aminé aliphatique et décrit le nouvel appareil nécessaire à cet effet n'a paru qu'après l'achèvement des présentes recherches. Je n'ai donc malheureusement point pu tenir compte des nouvelles données établies par van Slyke. Or, j'ai pu me rendre compte par moi-même de leur extrême importance.

1) D. D. van Slyke, Journ. of biol. Chem., Vol. 12, 1912, p. 275—284.
— D. D. van Slyke and G. M. Meyer, Journ. of biol. Chem., Vol. 12, 1912, p. 399—410.

La méthode de van Slyke est, d'ailleurs, d'une application extrêmement délicate. On doit utiliser une solution de nitrite de soude fraîche. Il faut faire précéder et suivre chaque série de déterminations d'essais-témoins destinés à établir avec précision le facteur de correction à soustraire des chiffres d'azote aminé constatés. On doit renouveler souvent l'eau ou l'acide sulfurique dilué contenu dans l'éprouvette gasométrique. Ces considérations et d'autres encore démontrent la nécessité d'une extrême prudence dans l'appréciation des résultats donnés par la méthode de van Slyke. Ainsi que Abderhalden et Pettibone¹⁾ l'ont fort bien mis en lumière, on ne peut tenir compte que des données obtenues en opérant de façon tout à fait identique dans les diverses déterminations d'une même série expérimentale.

Il y a donc bien de multiplier les recherches et de se préoccuper dans celles-ci des nombreuses causes d'erreur signalées ci-dessus. Avant de disposer des nouvelles données aussi recueillies, il convient d'être très réservé sur l'importance réelle des résultats obtenus jusqu'à présent par la méthode de van Slyke chez les animaux soumis à des injections sensibilisatrices de protéines ou de protéoses. Ceux-ci ne me paraissent néanmoins pas entièrement dépourvus de toute valeur.

Les expériences dont il est question dans cette première communication, ont été effectuées chez le cobaye. Les injections préparantes ont eu lieu dans le péritoine, les injections déchainantes dans la jugulaire, soit au moyen d'une solution à 1% de protoalbumose de Pick dans du liquide de Ringer, soit au moyen de sérum de bœuf.

Le sang a été recueilli de façon aseptique dans la carotide. Il a été, en partie ou entièrement, centrifugé de suite énergiquement de manière à obtenir un sérum incolore. Dans quelques expériences, une partie du sang a été défibrinée.

On a fait agir, pendant 2 ou 6 heures à 38—40° C. le sérum ou le sang défibriné soit sur du liquide de Ringer, soit sur une solution à 1% de protoalbumose de Pick dans du liquide de Ringer, soit sur du sérum de bœuf.

III. Expériences.

Les tableaux I à IV relatent les résultats des deux séries d'expériences faites chez le cobaye. Les figures 1 et 2 en résument les principaux résultats.

Dans la première série d'expériences (tableaux I et II, figure 1), huit lots de six cobayes de 250 à 300 grammes ont reçu dans le péritoine 0.1 c. c. de solution à 2% de protoalbumose dans du liquide de Ringer, soit deux milligrammes de protéose, par 100 grammes d'animal. Au bout de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 et 60 jours, on a injecté à un cobaye de chaque lot dans la jugulaire 0.5 c. c. de solution à 2% de protoalbumose, soit un centi-

1) E. Abderhalden und C. J. V. Pettibone, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 81, 1912, p. 458—472.

gramme de protéose, par 100 grammes d'animal. On a relevé des symptômes nets du choc anaphylactique (chute de la température rectale, convulsions puis abatement consécutif, etc.) chez les cobayes réinjectés au bout de 15 jours ou davantage. Le cobaye réinjecté au bout de 25 jours a succombé en 28 à 32 heures. Les cobayes réinjectés au bout de 15, 20, 30, 45 et 60 jours paraissaient au bout de 24 heures entièrement remis des suites du choc anaphylactique. On peut donc admettre que l'état d'anaphylaxie n'existait pas encore 10 jours après l'injection préparante, mais bien par contre au bout de 15 jours.

On a sacrifié par saignée des carotides les cinq autres cobayes de chaque lot. Leur sang a servi à préparer un échantillon de sérum et un échantillon de sang défibriné. Quelques cobayes ayant succombé au cours de l'expérience, j'ai dû me borner à examiner le sang défibriné pour les lots de cobayes sacrifiés 15, 25 et 60 jours après l'injection de protoalbumose. On a partagé en deux moitiés chacun des échantillons de sérum ou de sang défibriné. On a ajouté un volume de liquide de Ringer à l'une des deux portions de sérum ou de sang défibriné, un volume de solution à 1 % de protoalbumose à l'autre. On a partagé en trois portions chacun des quatre liquides ainsi préparés et un mélange témoin de volumes égaux de solution de protoalbumose et de liquide de Ringer. On a maintenu à 38° pendant deux heures la première portion, pendant six heures la seconde. On a soumis la troisième à l'hydrolyse par l'acide chlorhydrique. On a déterminé les quantités d'azote total et d'azote aminé aliphatique renfermées dans ces trois portions de liquide, puis on a calculé leurs teneurs en azote aminé et le degré d'hydrolyse des divers mélanges après deux et après six heures de séjour à 38°. On a comparé les résultats ainsi obtenus à ceux donnés dans les mêmes conditions par des mélanges de volumes égaux de solution à 1 % de protoalbumose et de sérum ou de sang défibriné de cobayes normaux.

Dans une seconde série d'expériences (tableaux III et IV, figure 2), conduite de la même façon que la première, huit lots de six cobayes de 250 à 300 grammes ont reçu dans le péritoine 0.2 c. c. de sérum de bœuf. On a injecté à un cobaye de chaque lot 2 c. c. de sérum de bœuf dans la jugulaire au bout de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 ou 60 jours. On a divisé chaque échantillon de sérum ou de sang défibriné en deux moitiés, dont l'une a été additionnée d'un volume égal de liquide de Ringer, l'autre d'un volume égal de sérum bovin. Pour les lots de cobayes sacrifiés 25 et 60 jours après l'introduction intrapéritonéale de sérum de bœuf, l'examen du pouvoir protéoclastique n'a porté que sur le sang défibriné.

Les cobayes réinjectés au moyen de sérum de bœuf 5 ou 10 jours après l'injection préparante n'ont pas manifesté de symptômes du choc anaphylactique. L'injection intraveineuse de sérum de bœuf a entraîné une mort rapide des cobayes sensibilisés 20, 25 et 30 jours auparavant. Les animaux réinjectés au bout de 15, 45 et 60 jours ont succombé en 18 à 24 heures. L'état d'anaphylaxie s'est, par conséquent, manifesté au bout de 15 jours. Il existait probablement chez les divers cobayes sacrifiés 15 à 60 jours après l'injection préparante de sérum bovin.

Tableau I.

	Après deux heures de séjour à 38°				Après six heures de séjour à 38°								
	10 centimètres cubes de mélange renferment		chiffres calculés		10 centimètres cubes de mélange renferment		chiffres calculés						
	azote aminé alpha-tique	en milligrammes	azote aminé alpha-tique	en pour-cent de l'azote total	azote aminé alpha-tique	en pour-cent de l'azote total	azote aminé alpha-tique	en pour-cent de l'azote total					
									azote aminé alpha-tique	en milligrammes	azote aminé alpha-tique	en milligrammes	
Mélange employé	Protoalbumose + liquide de Ringer	6.30	0.38	6.03	6.30	0.39	6.03	6.30	0.39	6.03	6.30	0.39	6.03
	+ liquide de Ringer	69.60	0.38	0.55	69.65	0.27	0.59	69.65	0.27	0.59	69.65	0.27	0.59
	+ sérum	73.90	0.71	0.96	74.45	0.43	0.58	74.45	0.43	0.58	74.45	0.43	0.58
	+ protoalbumose	156.35	0.73	0.47	156.80	0.62	0.40	156.80	0.62	0.40	156.80	0.62	0.40
	+ liquide de Ringer	160.20	1.07	0.67	160.65	0.89	0.55	160.65	0.89	0.55	160.65	0.89	0.55
	+ protoalbumose	6.30	0.37	5.89	6.30	0.32	5.08	6.30	0.32	5.08	6.30	0.32	5.08
	Protoalbumose + liquide de Ringer	63.40	0.26	0.41	64.20	0.22	0.34	64.20	0.22	0.34	64.20	0.22	0.34
	+ liquide de Ringer	68.30	0.74	1.08	69.70	0.63	0.90	69.75	0.62	0.89	69.75	0.62	0.89
	+ protoalbumose	159.40	0.56	0.35	164.85	0.56	0.13	164.85	0.72	0.13	164.85	0.72	0.13
	+ liquide de Ringer	164.95	1.24	0.75	165.70	0.93	0.56	165.30	1.46	0.88	165.30	1.46	0.88
+ protoalbumose													
Cobayes non injectés													
5 jours													
auparavant													

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

Cobayes injectés 10 jours auparavant	Protoalbumose + liquide de Ringer + sérum + protoalbumose + liquide de Ringer + sang + protoalbumose + défibriné	6.30	0.39	6.19	6.30	0.34	5.40	
		57.35	0.19	0.33	58.15	0.17	0.29
		61.45	0.75	1.20	63.65	0.58	0.91	+ 0.29	62.25	0.60	0.96	64.45	0.51	0.79	+ 0.17	.	.	.
		153.25	0.87	0.57	159.55	1.76	1.13	+ 0.09	155.05	0.95	0.61	161.35	1.29	0.80	+ 0.56	.	.	.
Cobayes injectés 15 jours auparavant : sang défibriné	Protoalbumose + liquide de Ringer + liquide de Ringer + protoalbumose	6.30	0.30	4.75	.	.	.	6.30	0.27	4.29	
		147.60	1.54	1.04	155.90	1.84	1.18	+ 0.37	149.29	1.46	0.98	155.50	1.73	1.11	+ 0.69	.	.	.
		154.35	2.39	1.55	154.90	2.70	1.80
		6.30	0.34	5.40	6.30	0.22	3.49
Cobayes injectés 20 jours auparavant	Protoalbumose + liquide de Ringer + liquide de Ringer + protoalbumose + liquide de Ringer + sang + protoalbumose + défibriné	54.20	0.21	0.37	.	.	.	54.95	0.27	0.50	
		59.30	0.51	0.86	60.50	0.55	0.91	- 0.05	59.75	0.44	0.74	61.25	0.49	0.80	- 0.06	.	.	.
		145.60	2.04	1.40	145.95	1.93	1.32
		151.20	1.95	1.29	151.90	2.38	1.57	- 0.28	152.60	2.11	1.38	152.25	2.15	1.41	- 0.03	.	.	.
Cobayes injectés 25 jours auparavant : sang défibriné	Protoalbumose + liquide de Ringer + liquide de Ringer + protoalbumose	6.30	0.27	4.29	.	.	.	6.30	0.19	3.02	
		153.30	1.72	1.12	159.60	1.99	1.25	+ 0.18	153.65	1.68	1.09	159.95	1.87	1.11	+ 0.56	.	.	.
		159.60	2.29	1.43	160.30	2.68	1.67
		6.30	0.14	2.22	6.30	0.09	1.43
Cobayes injectés 30 jours auparavant	Protoalbumose + liquide de Ringer + liquide de Ringer + protoalbumose + liquide de Ringer + sang + protoalbumose + défibriné	56.45	0.18	0.32	.	.	.	57.25	0.20	0.35	
		61.90	0.43	0.69	62.75	0.32	0.51	+ 0.18	62.45	0.36	0.58	63.55	0.29	0.46	+ 0.12	.	.	.
		162.95	1.80	1.10	164.10	1.60	0.97
		168.85	2.65	1.57	169.25	1.94	1.15	+ 0.42	169.30	2.38	1.41	170.40	1.69	0.99	+ 0.42	.	.	.
Cobayes injectés 45 jours auparavant	Protoalbumose + liquide de Ringer + liquide de Ringer + protoalbumose + liquide de Ringer + sang + protoalbumose + défibriné	6.30	0.08	1.27	.	.	.	6.30	0.06	0.95	
		51.80	0.16	0.31	58.10	0.24	0.41	+ 0.16	51.80	0.34	0.66	58.10	0.40	0.69	+ 0.04	.	.	.
		58.10	0.33	0.57	62.75	0.32	0.51	+ 0.18	57.40	0.42	0.73	63.55	0.29	0.46	+ 0.12	.	.	.
		169.25	1.74	1.03	175.55	1.82	1.04	+ 0.57	172.35	1.08	0.63	178.65	1.24	0.70	+ 0.33	.	.	.
Cobayes injectés 60 jours auparavant : sang défibriné	Protoalbumose + liquide de Ringer + liquide de Ringer + protoalbumose	6.30	0.40	6.35	.	.	.	6.30	0.16	2.54	
		155.45	1.37	0.88	167.75	1.77	1.06	- 0.25	157.00	1.89	1.20	163.30	2.05	1.50	- 1.10	.	.	.
		161.35	1.31	0.81	162.40	0.65	0.40
		6.30	0.40	6.35	6.30	0.16	2.54

Tableau II.

Mélange employé	Après hydrolyse par l'acide chlorhydrique 10 centimètres cubes du mélange renferment										Degré d'hydrolyse					
	chiffres trouvés					chiffres calculés					après 2 heures de séjour à 38° C		après 6 heures de séjour à 38° C			
	azote aminé aliphatique		en milli-grammes			azote total, en milligrammes		en milli-grammes			trouvé en plus ou en moins que calculé		trouvé en plus ou en moins que calculé			
	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	calculé	trouvé	calculé	trouvé		
Protoalbumose + liquide de Ringer Cobayes { non injectés { sérum { sang { défibriné) +	13.02	10.56	10.64	81.11	81.72	7.40	.	7.43	.		
	44.50	32.70	32.70	73.48	73.48	0.75	.	0.53	.		
	62.78	45.36	49.35	72.25	78.61	57.52	43.26	.	.	1.45	1.33	+ 0.12	0.80	1.16	- 0.26	
	68.32	42.49	46.41	62.19	68.30	81.34	53.05	57.10	65.96	70.20	1.29	1.03	+ 0.26	1.06	0.94	+ 0.12
Protoalbumose + liquide de Ringer Cobayes { injectés { sérum { sang { défibriné) +	8.24	6.17	6.23	74.88	75.61	7.87	.	6.78	.		
	56.25	41.72	42.13	74.17	74.90	0.55	.	0.46	.		
	62.03	44.08	47.10	71.06	75.93	64.49	47.89	48.36	74.26	74.99	1.52	1.21	+ 0.31	1.25	1.04	+ 0.21
	108.62	74.10	73.27	68.13	67.46	116.86	80.27	79.50	68.69	68.03	0.82	0.82	+ 0.38	0.19	0.89	+ 0.52
Protoalbumose + liquide de Ringer Cobayes { injectés 10 jours { sérum { sang { défibriné) +	10.46	8.14	8.39	77.81	80.21	7.96	.	6.94	.		
	43.85	32.38	35.60	73.84	81.12	0.45	.	0.39	.		
	57.26	43.35	46.29	75.71	80.84	54.31	40.52	43.99	74.61	81.00	1.62	1.22	+ 0.40	1.27	1.06	+ 0.21
	101.84	64.23	70.43	63.07	69.15	112.30	72.37	78.82	64.44	70.19	0.90	0.90	+ 0.14	2.29	1.24	+ 1.05

Protoalbumose + liquide de Ringer	11.29	8.84	9.05	78.30	80.16	6.07	.	5.48	.
Cobayes injectés	132.06	94.06	99.04	71.38	75.69	1.46	.	1.30	.
15 jours auparavant :	134.51	87.22	89.45	65.59	66.50	143.35	102.90	108.09	71.85	75.47	2.36	1.74	+0.62
sang défibriné													+1.20
Protoalbumose + liquide de Ringer	12.62	9.27	9.37	72.27	74.17	7.47	.	4.83	.
Cobayes injectés	41.29	30.21	32.06	73.17	77.62	0.51	.	0.68	.
20 jours auparavant :	49.18	35.28	36.03	71.74	73.30	53.91	39.48	41.43	73.23	76.85	1.20	1.24	-0.04
sang	74.34	56.42	57.12	75.89	76.84	1.84	.	1.74	.
auparavant (défibriné)	73.64	54.76	52.16	74.36	70.83	86.96	65.54	66.49	75.37	76.46	2.62	2.08	+0.54
Protoalbumose + liquide de Ringer	13.54	9.89	10.28	73.04	75.92	5.87	.	4.15	.
Cobayes injectés	94.42	60.11	68.98	63.66	72.00	1.76	.	1.71	.
25 jours auparavant :	125.67	84.62	92.70	67.33	73.76	108.16	70.00	79.26	64.72	73.28	2.19	1.93	+0.26
sang défibriné													2.33
Protoalbumose + liquide de Ringer	9.80	6.87	7.29	70.10	74.39	3.17	.	2.04	.
Cobayes injectés	47.82	33.09	36.22	69.18	75.74	0.46	.	0.51	.
30 jours auparavant :	55.20	42.16	44.26	76.38	80.18	57.62	39.96	43.51	69.35	75.51	0.90	0.74	+0.16
sang	107.68	69.36	72.35	64.41	67.19	1.71	.	1.51	.
auparavant (défibriné)	87.71	50.54	51.24	57.62	59.56	127.48	76.23	79.64	59.80	62.47	2.73	1.92	+0.81
Protoalbumose + liquide de Ringer	7.24	5.81	5.96	80.25	82.32	1.58	.	1.18	.
Cobayes injectés	38.95	27.42	29.70	70.55	76.25	0.44	.	0.94	.
45 jours auparavant :	46.06	33.54	34.64	72.81	75.21	46.19	33.29	35.66	72.07	77.20	0.78	0.56	+0.22
sang	127.96	90.18	98.31	70.48	76.75	1.46	.	0.89	.
auparavant (défibriné)	138.45	84.92	89.40	61.33	64.57	135.20	95.99	104.27	71.00	77.12	2.63	1.49	+1.14
Protoalbumose + liquide de Ringer	10.16	7.98	8.29	78.54	81.59	8.09	.	3.23	.
Cobayes injectés	124.80	80.70	82.65	64.66	66.23	1.36	.	1.86	.
60 jours auparavant :	157.50	75.37	80.44	51.07	47.87	134.96	88.68	90.94	65.71	67.30	1.59	1.61	-0.02
sang défibriné													0.78
													2.28
													+1.50

Tableau III.

Mélange employé	Après deux heures de séjour à 38° C				Après six heures de séjour à 38° C								
	10 centimètres cubes de mélange renferment		chiffres trouvés		10 centimètres cubes de mélange renferment		chiffres trouvés						
	azote total, en milligrammes	en pour-cent de l'azote total	azote aminé aliphatique	chiffres calculés	azote total, en milligrammes	en pour-cent de l'azote total	azote aminé aliphatique	chiffres calculés					
Sérum de bœuf Cobayes non injectés	+ sérum	69.30	0.00	0.00	69.45	0.00	0.00						
	+ liquide de Ringer	69.60	0.38	0.55	69.65	0.27	0.39						
	+ sérum de bœuf	136.80	1.38	1.01	137.15	1.04	0.75	139.10	0.27				
	+ liquide de Ringer	156.35	0.73	0.47	156.80	0.62	0.40	226.25	0.62				
+ sérum de bœuf	226.10	1.29	0.56	226.80	0.45	0.21	226.25	0.62	0.27				
Sérum de bœuf Cobayes injectés 5 jours auparavant	+ sérum	69.15	0.00	0.00	69.40	0.00	0.00						
	+ liquide de Ringer	59.40	0.32	0.33	61.20	0.25	0.41						
	+ sérum de bœuf	125.60	0.46	0.37	126.35	0.29	0.23	130.60	0.25	0.19			
	+ liquide de Ringer	163.80	0.92	0.56	164.85	0.22	0.13	234.25	0.22	0.09			
+ sérum de bœuf	232.75	1.56	0.67	232.95	0.92	0.39	232.40	0.80	0.34	234.25	0.22	0.09	+ 0.25

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés

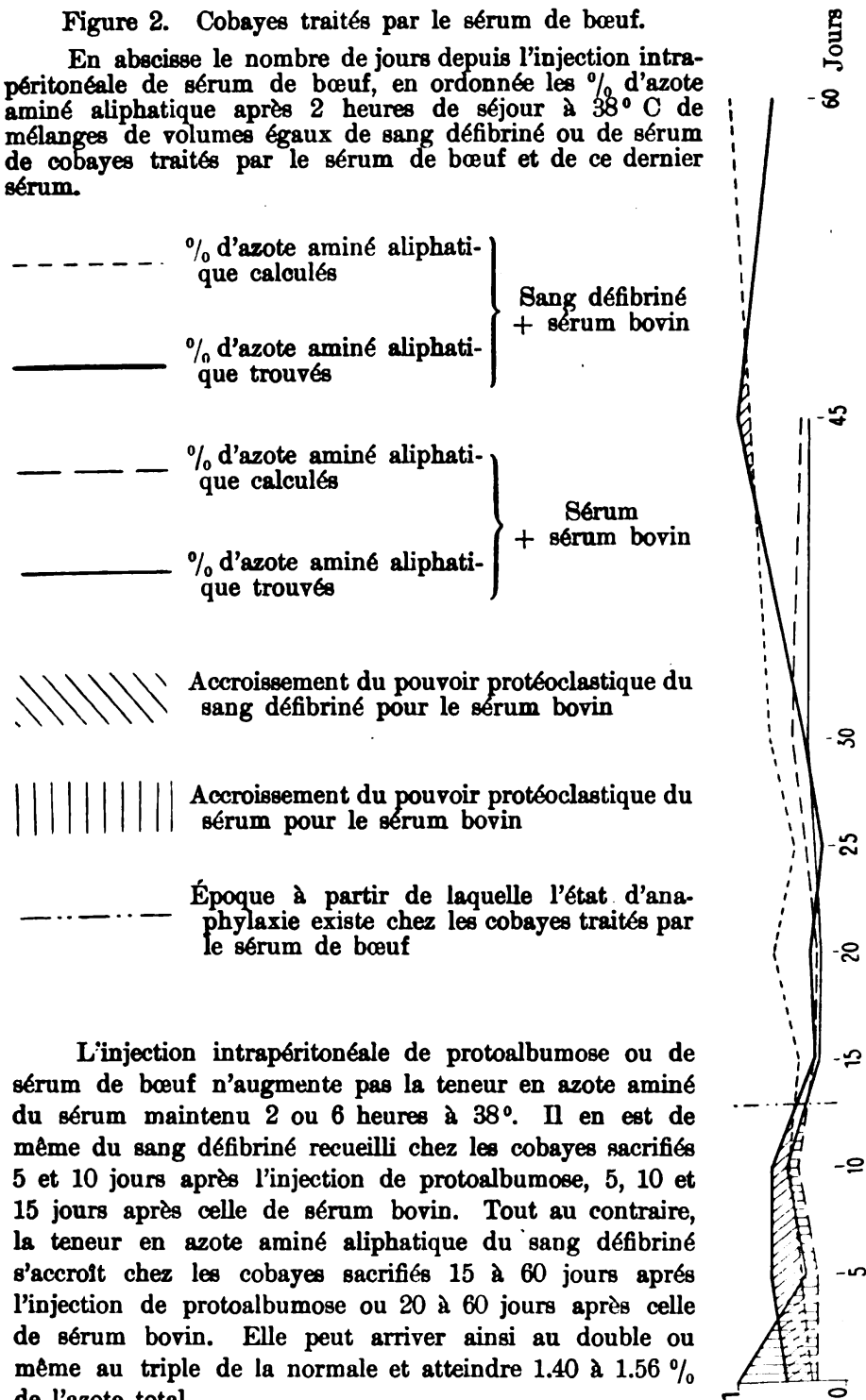
Tableau IV.

Mélange employé	Après hydrolyse par l'acide chlorhydrique, 10 centimètres cubes de mélange renferment										Degré d'hydrolyse					
	chiffres trouvés					chiffres calculés					après 2 heures de séjour à 38° C		après 6 heures de séjour à 38° C			
	azote aminé aliphatique		azote aminé aliphatique			azote total, en milligrammes	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	après 5' d'action de l'acide nitreux	après 10' d'action de l'acide nitreux	trouvé	trouvé en plus ou en moins que calculé	trouvé	trouvé en plus ou en moins que calculé
	en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total	en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total	trouvé											
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes { non injectés { sang { défibriné {	47.62	32.20	36.14	67.62	75.89	0.00	.	0.00	.	.
	44.50	32.70	73.48	73.48	72.35	92.12	64.90	.	.	70.02	.	0.75	.	0.53	.	.
	116.24	81.06	84.19	63.74	68.30	115.94	74.69	82.60	64.41	71.24	.	0.76	.	0.64	.	.
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes { injectés { sang { défibriné {	179.43	134.68	142.29	75.06	79.30	0.00	.	0.00	.	.
	52.66	42.87	47.03	81.41	89.31	0.68	.	0.52	.	.
	51.30	40.65	43.27	79.06	84.35	113.14	83.52	90.30	73.82	79.81	.	0.50	.	0.31	.	.
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes { injectés { sang { défibriné {	96.29	71.58	72.61	74.34	75.41	179.47	139.99	.	.	78.11	.	0.72	.	0.17	.	.
	126.81	97.22	76.67	82.48	88.78	0.81	.	0.41	.	.
	183.94	151.68	163.17	82.48	88.78	0.81	.	0.41	.	.
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes { injectés { 10 jours { auparavant (défibriné {	54.82	43.17	49.16	78.75	89.68	0.44	.	0.57	.	.
	48.29	33.46	35.64	69.08	73.60	104.38	76.63	84.80	73.41	81.24	.	0.71	.	0.43	.	.
	110.70	83.02	87.97	75.00	79.47	107.66	86.14	86.97	80.01	80.78	.	1.16	.	0.62	.	.
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes { injectés { 10 jours { auparavant (défibriné {	115.48	90.70	78.54	80.78	80.78	170.30	90.87	.	.	53.36	.	0.80	.	0.10	.	.
	107.66	86.14	86.97	80.01	80.78	170.30	90.87	.	.	53.36	.	0.80	.	0.10	.	.

Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes injectés 15 jours auparavant défibriné + sérum de bœuf	60.10	37.90	45.38	63.06	75.51	0.34	.	.		
	42.64	29.59	31.71	69.39	74.37	0.33	.	.		
	106.35	74.03	78.39	69.61	73.74	97.28	67.49	77.09	69.38	79.26	0.27	0.32	-0.05	0.33	0.36	-0.03
	109.86	82.17	89.08	74.80	81.09	169.96	120.07	134.46	70.65	79.11	0.64	0.52	-0.17	0.22	0.45	-0.23
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes injectés 20 jours auparavant défibriné + sérum de bœuf	65.23	48.09	54.26	73.72	83.18	0.00	.	.	0.47	.
	54.79	34.26	35.65	62.90	67.26	0.60	.	.	0.46	.
	123.84	71.78	73.28	57.96	59.17	116.92	82.35	89.91	70.43	76.05	0.24	0.26	-0.02	0.31	0.45	-0.15
	129.09	72.86	78.19	56.45	60.80	194.32	120.95	132.45	62.24	68.16	1.50	0.93	-0.57	0.12	0.84	-0.72
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes injectés 25 jours auparavant défibriné + sérum de bœuf	64.50	47.20	53.45	73.18	84.12	0.00	.	.	0.77	.
	142.80	84.67	93.04	59.50	65.15	0.89	.	.	1.24	.
	199.28	129.45	137.25	64.96	68.87	207.30	131.87	146.49	63.61	70.67	0.15	0.58	-0.43	0.07	1.04	-0.97
	71.62	58.12	62.04	81.12	88.02	0.48	.	.	0.73	.
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes injectés 30 jours auparavant défibriné + sérum de bœuf	46.12	32.10	34.62	69.82	75.06	0.49	.	.	0.57	.
	123.72	82.94	87.06	67.03	70.29	116.31	90.22	96.66	77.57	83.11	0.31	0.47	-0.16	0.27	0.73	-0.46
	136.97	73.68	75.82	53.73	55.36	1.21	.	.	1.45	.
	190.30	136.14	143.90	71.45	75.58	208.59	131.80	137.86	62.71	66.09	0.35	0.92	-0.57	0.10	1.16	-1.06
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes injectés 45 jours auparavant défibriné + sérum de bœuf	66.50	40.76	43.16	61.31	64.90	0.00	.	.	1.27	.
	52.60	34.65	37.22	65.82	70.76	0.64	.	.	0.39	.
	98.95	63.24	68.80	63.90	69.62	127.48	75.41	80.38	59.16	63.05	0.20	0.34	-0.14	0.31	0.88	-0.57
	130.20	76.40	97.32	58.68	74.75	1.65	.	.	1.26	.
Sérum de bœuf + liquide de Ringer Cobayes injectés 60 jours auparavant défibriné + sérum de bœuf	200.20	139.80	143.74	69.33	71.80	196.70	117.16	140.48	59.56	71.26	1.15	1.14	+0.01	0.07	1.24	-1.17
	64.05	34.45	41.36	56.59	64.57	1.48	.	.	2.14	.
	92.32	45.27	49.87	49.04	52.94	1.61	.	.	3.18	.
	184.26	116.22	132.89	63.07	71.69	156.37	79.72	91.23	50.98	58.34	0.65	1.59	-0.94	0.37	2.84	-2.47

Figure 2. Cobayes traités par le sérum de bœuf.

En abscisse le nombre de jours depuis l'injection intrapéritonéale de sérum de bœuf, en ordonnée les % d'azote aminé aliphatique après 2 heures de séjour à 38° C de mélanges de volumes égaux de sang défibriné ou de sérum de cobayes traités par le sérum de bœuf et de ce dernier sérum.



L'injection intrapéritonéale de protoalbumose ou de sérum de bœuf n'augmente pas la teneur en azote aminé du sérum maintenu 2 ou 6 heures à 38°. Il en est de même du sang défibriné recueilli chez les cobayes sacrifiés 5 et 10 jours après l'injection de protoalbumose, 5, 10 et 15 jours après celle de sérum bovin. Tout au contraire, la teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné s'accroît chez les cobayes sacrifiés 15 à 60 jours après l'injection de protoalbumose ou 20 à 60 jours après celle de sérum bovin. Elle peut arriver ainsi au double ou même au triple de la normale et atteindre 1.40 à 1.56 % de l'azote total.

L'injection intrapéritonéale de protoalbumose ou de sérum de bœuf n'augmente pas la teneur en azote aminé du sérum maintenu 2 ou

6 heures à 38°. Il en est de même du sang défibriné recueilli chez les cobayes sacrifiés 5 et 10 jours après l'injection de protoalbumose, 5, 10 et 15 jours après celle de sérum bovin. Tout au contraire, la teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné s'accroît chez les cobayes sacrifiés 15 à 60 jours après l'injection de protoalbumose ou 20 à 60 jours après celle de sérum bovin. Elle peut arriver ainsi au double ou même au triple de la normale et atteindre 1,40 à 1,56 % de l'azote total.

La teneur en azote aminé aliphatique du sérum des cobayes préparés au moyen de protoalbumose (tableau I) est moindre après 6 heures de séjour à 38° qu'après 2, sauf pour les cobayes sacrifiés au bout de 20, de 30 et de 45 jours. Dans ces derniers cas, elle s'est accrue de 2 à 6 heures. La teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné est moindre après 6 heures qu'après 2, sauf pour les cobayes sacrifiés au bout de 10 ou de 60 jours. La teneur en azote aminé aliphatique du sérum est inférieure à celle du sang défibriné correspondant, à l'exception des liquides maintenus 2 heures à 38° provenant de cobayes normaux et de ceux maintenus 6 heures à 38° provenant de cobayes traités 5 jours auparavant par de la protoalbumose. La teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné augmente avec le laps de temps écoulé depuis l'introduction intrapéritonéale de protoalbumose; elle atteint son maximum 20 jours après l'injection préparante et se maintient ensuite à un niveau quelque peu inférieur. On n'observe par contre pas de variations réelles de la teneur en azote aminé du sérum des cobayes traités par la protoalbumose.

La teneur en azote aminé aliphatique de la solution de protoalbumose diminue par le séjour à l'étuve à 38°. Cette diminution n'est souvent appréciable qu'au bout de 6 heures; d'autres fois, elle est déjà très nette au bout de 2 heures.

Calculons la teneur en azote aminé aliphatique des divers mélanges de sérum ou de sang défibriné de cobaye et de protoalbumose en nous basant sur la teneur en cette espèce d'azote de leurs constituants maintenus isolément pendant 2 ou 6 heures à 38°. Comparons ces chiffres à ceux obtenus pour ces mélanges après la même durée de séjour à 38°. Les mélanges préparés au moyen de sérum ou de sang défibriné de cobayes normaux contiennent un peu moins d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés. Il en est aussi ainsi des mélanges préparés au moyen du sérum ou du sang défibriné des cobayes sacrifiés 20 ou 60 jours après l'injection préparante de protoalbumose. Au contraire, les mélanges préparés au moyen du sérum ou du sang défibriné des cobayes sacrifiés 5, 10, 15, 25, 30 et 45 jours après l'injection préparante de protoalbumose montrent un accroissement de leur teneur en azote aminé aliphatique par rapport aux chiffres calculés, plus accusé pour le mélange préparé avec le sang défibriné que pour celui préparé avec le sérum correspondant. La figure 1 permet de se rendre aisément compte de ces faits.

La teneur en azote aminé aliphatique est plus considérable au bout de 2 heures de séjour à 38° que de 6 pour les mélanges de sérum et de protoalbumose, sauf pour ceux préparés au moyen du sérum des cobayes sacrifiés 45 jours après l'injection de protoalbumose. Les chiffres absolus d'azote aminé aliphatique sont plus élevés dans les mélanges préparés au moyen des sérums des cobayes sacrifiés 5 et 10 jours après l'injection de protoalbumose que dans ceux préparés au moyen du sérum de cobayes normaux; ils ne diffèrent guère de ces derniers pour les autres mélanges.

La teneur en azote aminé aliphatique est plus forte après 2 heures de séjour à 38° qu'après 6 pour les mélanges préparés au moyen du sang défibriné des cobayes normaux ou sacrifiés 30, 45 ou 60 jours après l'injection intrapéritonéale de protoalbumose; elle l'emporte au bout de 6 heures pour les mélanges préparés au moyen du sang défibriné des cobayes sacrifiés au bout de 5 à 25 jours. Les chiffres absolus d'azote aminé aliphatique sont plus élevés dans les mélanges de protoalbumose et de sang défibriné provenant des cobayes injectés 5 à 45 jours auparavant au moyen de cette protéose que dans les mélanges de sang défibriné de cobayes normaux et de protoalbumose. Il n'en est plus ainsi des mélanges préparés au moyen du sang défibriné des cobayes ayant reçu 60 jours auparavant une injection intrapéritonéale de protoalbumose.

La teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum et de protoalbumose est inférieure à celle des mélanges correspondants de sang défibriné et de cette protéose, à l'exception des mélanges maintenus 2 ou 6 heures à 38° préparés au moyen du sérum ou du sang défibriné des cobayes normaux ou traités 5 jours auparavant par la protoalbumose et des mélanges maintenus 2 heures à 38° préparés au moyen du sérum ou du sang défibriné des cobayes injectés 10 jours auparavant.

Le degré d'hydrolyse des divers mélanges de protoalbumose et de sérum ou de sang défibriné (tableau II) donne les mêmes indications que la teneur en azote aminé aliphatique. Toutefois le mélange de sérum normal et de protoalbumose maintenu 2 heures à 38°, les mélanges de sang défibriné normal et de protoalbumose maintenus 2 et 6 heures à 38°, les mélanges de sang défibriné provenant des cobayes injectés depuis 20 jours et de protoalbumose maintenus 2 et 6 heures à 38° montrent un degré d'hydrolyse supérieur aux chiffres calculés, alors que c'est l'inverse pour la teneur en azote aminé aliphatique.

Le degré d'hydrolyse des mélanges de protoalbumose et de sérum tend à diminuer au fur et à mesure que le sérum provient de cobayes injectés depuis plus longtemps par la protoalbumose. Ceci dépend uniquement de l'affaiblissement graduel de la teneur en azote aminé aliphatique de la solution de protoalbumose soumise à la température de 38°.

Le degré d'hydrolyse du sérum est moindre que celui du sang défibriné correspondant, sauf pour le sérum et le sang défibriné mainte-

nus 6 heures à 38° des cobayes sacrifiés 5 et 45 jours après l'injection intrapéritonéale de protoalbumose. Le degré d'hydrolyse des mélanges préparés au moyen de sang défibriné et de protoalbumose l'emporte sur celui des mélanges analogues préparés au moyen du sérum correspondant, sauf pour les mélanges préparés au moyen du sérum ou du sang défibriné des cobayes normaux ou sacrifiés 5 jours après l'injection de protéose.

Arrivons en à la série d'expériences faite chez des cobayes préparés par une injection intrapéritonéale de sérum bovin (tableaux III et IV, figure 2). Chez ces animaux, la teneur en azote aminé aliphatique du sérum et celle du sang défibriné (tableau III) sont moindres après 6 heures de séjour à 38° qu'après 2, sauf pour le sérum des cobayes sacrifiés 30 jours après l'injection et pour le sang défibriné des cobayes sacrifiés au bout de 25, de 30 ou de 60 jours. La teneur en azote aminé aliphatique du sérum est inférieure à celle du sang défibriné correspondant, sauf pour les liquides maintenus 2 heures à 38° provenant de cobayes normaux et pour ceux restés 6 heures à 38° provenant de cobayes traités 5 jours auparavant par le sérum de bœuf. La teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné tend à augmenter avec le laps de temps écoulé depuis l'injection préparante de sérum bovin. On ne constate par contre pas de modifications appréciables de la teneur en azote aminé du sérum des cobayes traités par le sérum de bœuf.

Le sérum de bœuf fraîchement recueilli ne renferme pas d'azote aminé aliphatique. Il n'en contient souvent que des traces, même après 2 et 6 heures de séjour à 38°. On y constate parfois de l'azote aminé seulement au bout de 6 heures, et cela dans une proportion correspondant de 0,34 à 0,74 % de l'azote total. Dans d'autres cas, l'azote aminé existe déjà au bout de 2 heures et représente alors 0,14 à 0,84 % de l'azote total; il s'accroît ensuite pour atteindre 0,27 à 1,20 % au bout de 6 heures. Le degré d'hydrolyse du sérum de bœuf maintenu 2 ou 6 heures à 38° montre des résultats entièrement parallèles à ceux donnés par la teneur en azote aminé aliphatique.

Le mélange de volumes égaux de sérum de cobaye et de sérum de bœuf possède, après 2 et après 6 heures de séjour à 38°, une teneur en azote aminé aliphatique supérieure à celle donnée par ces 2 sérums maintenus séparément pendant le même nombre d'heures à la même température. On observe la même chose, mais à un bien moindre degré, qu'avec le sérum normal de cobaye si l'on part du sérum de cobayes injectés 5 ou 10 jours auparavant au moyen de sérum de bœuf. Au contraire, la teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum de bœuf et de sérum de cobayes injectés 15, 20, 30 ou 45 jours auparavant au moyen de sérum de bœuf est légèrement inférieure aux chiffres calculés en se basant sur les teneurs en azote aminé respectives des 2 constituants de chaque mélange après la même durée de séjour à la même température. Ces constatations ressortent nettement de l'examen de la figure 2.

Lorsqu'on maintient à 38° un mélange de volumes égaux de sang défibriné de cobaye normal et de sérum de bœuf, sa teneur en azote aminé aliphatique l'emporte d'abord (au bout de 2 heures) sur celle de l'ensemble de ses constituants restés isolément pendant le même laps de temps à 38°, mais bientôt (au bout de 6 heures) l'inverse se produit. C'est ce que décèlent fort bien les résultats obtenus avec des 2 constituants de chaque mélange après la même durée de séjour à la même température. Ces constatations ressortent nettement de l'examen de la figure 2.

La teneur en azote aminé aliphatique des mélanges préparés avec le sang défibriné des cobayes injectés 5 ou 10 jours auparavant au moyen de sérum de bœuf est supérieure aux chiffres calculés. Elle leur est par contre inférieure pour les mélanges préparés avec du sang défibriné de cobayes sacrifiés 15 à 60 jours après l'injection intrapéritonéale de sérum de bœuf, sauf pour le mélange maintenu 2 heures à 38° de sérum de bœuf et de sang défibriné provenant des cobayes sacrifiés 45 jours après l'injection sensibilisatrice. La diminution de la teneur en azote aminé aliphatique s'accroît avec le laps de temps écoulé depuis l'injection préparante. Les différences entre les chiffres trouvés et calculés sont bien plus nettes pour les mélanges préparés au moyen de sang défibriné que pour ceux préparés avec les sérums correspondants.

La teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum ou de sang défibriné de cobaye et de sérum bovin est plus forte au bout de 2 heures de séjour à 38° qu'au bout de 6, sauf pour les mélanges préparés avec les sérums des cobayes sacrifiés 15, 20 ou 45 jours après l'injection intrapéritonéale de sérum de bœuf et pour ceux préparés avec le sang défibriné des cobayes sacrifiés 10 jours après cette injection.

Les chiffres absolus d'azote aminé aliphatique sont moins élevés dans les mélanges préparés au moyen des sérums des cobayes sacrifiés 5 à 45 jours après l'introduction intrapéritonéale de sérum de bœuf que dans ceux préparés au moyen du sérum des cobayes normaux. Les chiffres absolus d'azote aminé aliphatique sont plus considérables dans les mélanges préparés au moyen du sang défibriné des cobayes sacrifiés 5 à 10 jours après l'injection intrapéritonéale de sérum de bœuf que dans ceux préparés au moyen du sang défibriné des cobayes normaux; ils deviennent ensuite moindres que ces derniers chez les cobayes sacrifiés 15 à 60 jours après cette injection préparante, à l'exception du mélange maintenu 2 heures à 38° de sérum bovin et du sang défibriné des cobayes sacrifiés 45 jours après l'injection intrapéritonéale de sérum de bœuf.

La teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum de cobaye et de sérum bovin maintenus 2 heures à 38° est inférieure à celle des mélanges correspondants de sang défibriné et de sérum de bœuf, sauf pour les mélanges préparés avec du sérum ou du sang dé-

fibriné de cobayes normaux. On observe l'inverse pour les mélanges maintenus 6 heures à 38°, à l'exception des mélanges préparés avec le sérum ou le sang défibriné des cobayes sacrifiés 5 ou 10 jours après l'injection préparante de sérum de bœuf.

Le degré d'hydrolyse (tableau IV) varie dans le même sens que la teneur en azote aminé pour le sérum et le sang défibriné des cobayes traités par le sérum de bœuf et pour les mélanges de sérum ou de sang défibriné de ces cobayes et de sérum bovin, à l'exception de ceux préparés avec le sang défibriné des cobayes sacrifiés 10 jours après l'introduction intrapéritonéale de sérum de bœuf.

Le degré d'hydrolyse du sang défibriné tend à augmenter avec le laps de temps écoulé depuis l'injection de sérum de bœuf. Le degré d'hydrolyse l'emporte dans le sang défibriné sur le sérum du même cobaye sauf pour les liquides maintenus 6 heures à 38° provenant des cobayes sacrifiés 5 jours après l'injection préparante de sérum bovin.

Le degré d'hydrolyse des mélanges de sérum de cobaye et de sérum de bœuf maintenus 2 heures à 38° est moindre que celui des mélanges correspondants préparés au moyen de sang défibriné, sauf pour les cobayes normaux. Après 6 heures de séjour à 38°, le degré d'hydrolyse est par contre moins accusé dans les mélanges de sang défibriné et de sérum de bœuf que dans les autres, sauf pour ceux préparés avec le sérum ou le sang défibriné des cobayes sacrifiés 5 ou 10 jours après l'injection préparante de sérum de bœuf.

V. Considérations générales.

Les 2 séries d'expériences effectuées le cobaye amènent en définitive aux constatations suivantes:

L'injection intrapéritonéale d'une dose sensibilisatrice de protoalbumose ou de sérum de bœuf ne modifie guère le pouvoir protéoclastique du sérum de cobaye pour ses propres protéines. Il tend néanmoins à diminuer quelque peu avec le laps de temps écoulé depuis l'injection préparante.

Après l'introduction intrapéritonéale de protoalbumose, le pouvoir protéoclastique du sang défibriné pour ses propres protéines diminue d'abord légèrement. Il subit ensuite un accroissement relativement notable qui débute au bout de 10 jours, atteint son maximum au bout de 20 jours, puis s'atténue lentement.

Le pouvoir protéoclastique pour ses propres protéines du sang défibriné des cobayes traités par le sérum de bœuf ne varie

guère pendant les 15 premiers jours consécutifs à l'injection intrapéritonéale. Il dépasse la normale au bout de 20 jours et atteint son maximum au bout d'un mois et demi à deux mois.

Le pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné pour la protoalbumose s'accroît 5 à 15 jours après l'introduction intrapéritonéale de cette protéose, diminue vers le vingtième jour, puis s'accroît à nouveau 25 à 45 jours après l'injection préparante et subit enfin au bout de 60 jours une notable diminution par rapport à la normale.

Le pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné des cobayes traités par le sérum de bœuf pour les protéines de ce sérum diminue graduellement au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'époque de l'injection préparante. On décèle toutefois dans le sang défibriné des cobayes sacrifiés 5 jours après cette injection une légère augmentation du pouvoir protéoclastique pour les protéines du sérum de bœuf. Mais à partir du dixième jour consécutif à l'injection sensibilisatrice, le pouvoir protéoclastique du sang défibriné pour les protéines du sérum de bœuf diminue dans une plus forte proportion que celui du sérum correspondant.

On peut néanmoins se demander si un autre facteur n'intervient pas lorsqu'on met du sérum de bœuf en présence de sang défibriné ou de sérum de cobaye. Le sérum bovin renferme, en effet, des substances qui entravent l'action des agents protéoclastiques. Or, des expériences¹⁾ faites chez des chiens non soumis à un traitement préalable m'ont amené à constater que dans les mélanges de sang total ou défibriné de chien et de sérum de bœuf, ces substances inhibitrices entravent dans une beaucoup plus grande mesure l'action des agents protéoclastiques que ne le font, dans les mélanges des sérums de chien et de bœuf, les substances inhibitrices de ces sérums. Dès lors l'intervention de ces substances inhibitrices doit certes entrer en ligne de compte dans l'explication des résultats quelque peu différents obtenus chez le cobaye

1) E. Zunz, Bull. de la Soc. chimiq. de Belgique, T. 26, 1912, p. 188—193.

selon la nature de l'injection préparante et selon le milieu (sérum ou sang défibriné) ajouté aux protéines ou aux protéoses sensibilisatrices.

On parviendrait peut être à se rendre compte jusqu'à un certain point du rôle des agents protéoclastiques et des substances inhibitrices dans la diminution graduelle du pouvoir protéoclastique du sang des animaux sensibilisés par le sérum de bœuf pour les protéines de ce sérum en comparant les modifications du pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné de ces animaux, d'une part pour le sérum sensibilisateur, d'autre part pour une protéose (hétéroalbumose, protoalbumose) capable de déchaîner le choc anaphylactique chez un animal sensibilisé.

Zusammenfassung.

1) Bei den mittelst einer intraperitonealen Protoalbumoseeinspritzung behandelten Meerschweinchen steigt das proteoklastische Vermögen des Blutes für Protoalbumose während des präanaphylaktischen Stadiums schon 5 Tage nach der Sensibilisierung. Diese Zunahme des proteoklastischen Vermögens des Blutes für die sensibilisierende Proteose verschwindet aber zeitweise (20 und 60 Tage nach der Sensibilisierung) während des Anaphylaxiezustandes.

2) Bei den mittelst einer intraperitonealen Ochsenenserumeinspritzung vorbehandelten Meerschweinchen sinkt das proteoklastische Vermögen des Blutes für die Proteine des Ochsenenserums allmählich während des präanaphylaktischen Stadiums, um während des Anaphylaxiezustandes zu verschwinden.

Nachdruck verboten.

[Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.]

Recherches sur le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie.

Seconde communication.

Expériences chez le lapin.

Par Edgard Zunz.

Avec 1 figure dans le texte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Dezember 1912.)

I. Introduction.

Si l'on ajoute de l'hétéroalbumose ou de la protoalbumose au sérum d'un lapin sensibilisé 10 à 15 jours auparavant par cette même protéose et si l'on détermine par la méthode de Sørensen la teneur en azote aminé de ce mélange après 2 heures de séjour à 38°, on constate son augmentation. Si l'on fait la même expérience en prenant du sérum d'un lapin neuf ou injecté seulement depuis 2 à 6 jours, on ne remarque pas d'accroissement de la teneur en azote aminé du mélange. Ces résultats semblent indiquer que l'injection préparante d'hétéroalbumose ou de protoalbumose fait réellement apparaître, après quelques jours, un certain pouvoir protéoclastique dans le sérum des animaux ainsi traités.

La méthode de Sørensen présente malheureusement assez bien d'inconvénients lorsqu'il s'agit de déterminer la teneur en azote aminé de mélanges de sérum et de protéines ou de protéoses maintenus 2 ou 6 heures à 38°. Ainsi que je l'ai fait remarquer dans une précédente communication¹⁾, la méthode de Van Slyke me paraît préférable dans ce cas, quoique loin d'être à l'abri de tout reproche.

J'ai choisi dans mes premières expériences le cobaye, parce que cette espèce animale est très sensible aux phénomènes d'anaphylaxie. Mais la faible quantité de sang fournie par un cobaye m'a obligé à sacrifier un nombre considérable de ces animaux et ne m'a permis de contrôler l'existence de l'état d'anaphylaxie que chez un témoin injecté au moyen de protoalbumose ou de sérum de bœuf lors du sacrifice

1) Diese Zeitschr., Bd. 17, p. 241.

des autres animaux du même lot sensibilisés depuis le même laps de temps que le témoin.

Ces diverses considérations m'ont amené à rechercher par la méthode de van Slyke de la façon décrite précédemment si le pouvoir protéoclastique du sang pour la protéose sensibilisatrice subit chez le lapin des variations analogues à celles observées chez le cobaye.

Les protéoses employées (hétéroalbumose de Pick, protoalbumose de Pick, deutéroalbumose de Kühne) ont été dissoutes dans du liquide de Ringer. Les injections préparantes ont eu lieu dans le péritoine lors d'une première série d'expériences, dans la jugulaire lors d'une seconde. Les injections déchainantes ont été effectuées par voie intraveineuse.

II. Première série d'expériences.

L'expérience dont le tableau I donne les résultats, a porté sur 15 lapins de 900 à 1600 grammes. Cinq d'entre eux (F, G, H, I, J) ont été sacrifiés par saignée carotidienne respectivement 6, 12, 18, 24 et 30 jours après l'injection intrapéritonéale de 0.2 c.c. de solution à 1 % d'hétéroalbumose, soit 2 milligrammes de protéose, par 100 grammes de poids. Cinq autres (K, L, M, N, O) ont été sacrifiés 6, 12, 18, 24 et 30 jours après l'injection intrapéritonéale de 0.2 c.c. de solution à 1 % de protoalbumose, c'est à dire 2 milligrammes de protéose, par 100 grammes de poids. On a déterminé avant l'injection intrapéritonéale l'azote total et l'azote aminé aliphatique du sérum de chacun de ces 10 lapins additionné de son volume de liquide de Ringer et maintenu 2 heures à 38—40° C.

On a partagé en 4 portions chacun des sérums recueillis 6, 12, 18, 24 ou 30 jours après l'injection intrapéritonéale de protéose. 3 d'entre elles ont été additionnées respectivement de leur volume de liquide de Ringer, de solution à 1 % d'hétéroalbumose ou de solution à 1 % de protoalbumose. Après 2 heures de séjour à 38° C, on a recherché les quantités d'azote total et d'azote aminé aliphatique renfermées dans ces divers liquides. On a procédé à ces mêmes déterminations dans un mélange de volumes égaux d'hétéroalbumose et de liquide de Ringer, dans un mélange de volumes égaux de protoalbumose et de liquide de Ringer et dans 3 mélanges préparés en partant du sérum d'un lapin normal témoin et de liquide de Ringer, d'hétéroalbumose ou de protoalbumose, maintenus à 38—40° C pendant le même laps de temps que les 3 mélanges analogues préparés en partant du sérum de l'animal soumis depuis 6 à 30 jours à l'influence d'une injection sensibilisatrice de protéose.

La quatrième portion de sérum, recueillie lors du sacrifice des lapins traités par l'hétéroalbumose ou la protoalbumose, a été injectée dans le péritoine de lapins neufs, de 500 à 600 grammes, qui ont reçu le lendemain une injection intraveineuse de 2 centigrammes d'hétéroalbumose

Tableau I.

Mélange employé		Après deux heures de séjour à 38° C, 10 centimètres cubes du mélange renferment						pour-cent de l'azote total trouvés en plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés
		chiffres trouvés			chiffres calculés			
		azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique		azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique		
			en milligrammes	en pour-cent de l'azote total		en milligrammes	en pour-cent de l'azote total	
Sérum du lapin témoin A	Hétéroalbumose + liquide de Ringer	16.78	0.97	5.78
	Protoalbumose + liquide de Ringer	19.69	0.49	2.49
	+ liquide de Ringer	48.30	0.76	1.57
	+ hétéroalbumose	64.29	1.54	2.40	65.08	1.73	2.67	-0.26
Sérum du lapin F	avant traitement + liquide de Ringer	49.35	0.15	0.30
	6 jours après l'in- + liquide de Ringer	55.62	0.29	0.52
	jection d'hétéro- + hétéroalbumose	71.74	1.18	1.64	72.40	1.26	1.74	-0.10
	albumose + protoalbumose	74.96	0.62	0.82	75.31	0.78	1.04	-0.22
Sérum du lapin K	avant traitement + liquide de Ringer	54.50	0.73	1.34
	6 jours après l'in- + liquide de Ringer	59.68	0.54	0.90
	jection de proto- + hétéroalbumose	75.19	1.92	2.55	76.46	1.51	1.97	+0.58
	albumose + protoalbumose	80.45	1.25	1.55	79.37	1.03	1.30	+0.25
Sérum du lapin témoin B	Hétéroalbumose + liquide de Ringer	16.84	0.86	5.11
	Protoalbumose + liquide de Ringer	19.73	0.43	2.18
	+ liquide de Ringer	47.67	0.74	1.55
	+ hétéroalbumose	62.89	1.37	2.18	64.51	1.60	2.48	-0.30
Sérum du lapin G	avant traitement + liquide de Ringer	49.70	0.32	0.64
	12 jours après l'in- + liquide de Ringer	56.10	0.47	0.84
	jection d'hétéro- + hétéroalbumose	71.48	1.73	2.42	72.94	1.33	1.81	+0.61
	albumose + protoalbumose	74.36	1.19	1.60	75.83	0.90	1.19	+0.41
Sérum du lapin L	avant traitement + liquide de Ringer	58.46	0.33	0.56
	12 jours après l'in- + liquide de Ringer	55.82	0.30	0.54
	jection de proto- + hétéroalbumose	71.15	0.80	1.12	72.16	1.16	1.60	-0.48
	albumose + protoalbumose	75.13	0.97	1.31	75.55	0.72	0.97	+0.34
Sérum du lapin témoin C	Hétéroalbumose + liquide de Ringer	16.75	0.74	4.42
	Protoalbumose + liquide de Ringer	19.60	0.37	1.89
	+ liquide de Ringer	51.87	0.47	0.91
	+ hétéroalbumose	67.38	1.36	2.02	68.62	1.21	1.76	+0.26
Sérum du lapin H	avant traitement + liquide de Ringer	56.03	0.25	0.45
	18 jours après l'in- + liquide de Ringer	56.38	0.33	0.59
	jection d'hétéro- + hétéroalbumose	73.48	1.76	2.39	73.13	1.07	1.47	+0.92
	albumose + protoalbumose	74.26	0.62	0.94	75.98	0.70	0.92	-0.08

Tableau I (Suite).

Mélange employé		Après deux heures de séjour à 38° C, 10 centimètres cubes du mélange renferment							
		chiffres trouvés			chiffres calculés				
		azote total, en milligrammes	azote aminé ali- phatique		azote total, en milligrammes	azote aminé ali- phatique		pour-cent de l'azote total trouvés en plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés	
en milligrammes	en pour-cent de l'azote total		en milligrammes	en pour-cent de l'azote total					
Sérum du lapin M	avant traitement	+ liquide de Ringer	49.76	0.79	1.59
	18 jours après l'in-	+ liquide de Ringer	52.02	0.61	1.17
	jection de proto-	+ hétéroalbumose	68.73	1.21	1.91	68.77	1.35	1.96	-0.05
	albumose	+ protoalbumose	71.13	1.76	2.47	71.62	0.98	1.37	+1.10
Sérum du lapin témoin D	Hétéroalbumose	+ liquide de Ringer	16.81	0.73	4.34
	Protoalbumose	+ liquide de Ringer	19.53	0.40	1.63
		+ liquide de Ringer	48.93	0.80	2.05
		+ hétéroalbumose	64.65	1.68	2.60	65.74	1.43	2.18	+0.42
Sérum du lapin I	avant traitement	+ liquide de Ringer	57.28	0.69	1.24
	24 jours après l'in-	+ liquide de Ringer	54.31	0.81	1.49
	jection d'hétéro-	+ hétéroalbumose	68.62	1.76	2.56	71.12	1.54	2.18	+0.38
	albumose	+ protoalbumose	72.90	1.64	2.25	73.84	1.21	1.63	+0.62
Sérum du lapin N	avant traitement	+ liquide de Ringer	57.40	0.58	1.01
	24 jours après l'in-	+ liquide de Ringer	53.72	0.71	1.31
	jection de proto-	+ hétéroalbumose	69.46	1.57	2.26	70.53	1.44	2.04	+0.22
	albumose	+ protoalbumose	72.68	1.98	2.72	73.25	1.11	1.55	+1.20
Sérum du lapin témoin E	Hétéroalbumose	+ liquide de Ringer	16.72	0.48	2.87
	Protoalbumose	+ liquide de Ringer	19.36	0.43	2.22
		+ liquide de Ringer	56.24	0.52	0.92
		+ hétéroalbumose	70.43	0.72	1.02	72.96	1.00	1.37	-0.35
Sérum du lapin J	avant traitement	+ liquide de Ringer	53.17	0.37	0.70
	30 jours après l'in-	+ liquide de Ringer	55.75	0.50	0.90
	jection d'hétéro-	+ hétéroalbumose	72.25	1.14	1.86	72.47	0.98	1.21	+0.65
	albumose	+ protoalbumose	74.60	1.25	1.68	75.11	0.93	1.24	+0.44
Sérum du lapin O	avant traitement	+ liquide de Ringer	53.99	0.55	1.02
	30 jours après l'in-	+ liquide de Ringer	54.06	0.95	1.76
	jection de proto-	+ hétéroalbumose	70.49	2.01	2.86	70.78	1.41	1.99	+0.87
	albumose	+ protoalbumose	72.61	1.92	2.64	73.42	1.36	1.85	+0.79

ont reçu le sérum provenant des lapins (F, G, K, L) sacrifiés 6 ou 12 jours après l'injection préparante. Il en est de même lors de l'injection intraveineuse d'hétéroalbumose chez l'animal traité 24 heures ou de protoalbumose selon le cas par 100 grammes de poids. On n'a

constaté aucun symptôme de choc anaphylactique chez les animaux qui auparavant par le sérum du lapin H, sacrifié 18 jours après l'introduction intrapéritonéale de cette même protéose. Les sérums des autres lapins (I, J, M, N, O) ont amené de l'anaphylaxie passive. Celle ci n'a toutefois entraîné d'issue fatale que chez l'animal ayant reçu le sérum du lapin N, soumis 24 jours auparavant à une injection intrapéritonéale de protoalbumose. Cet animal a succombé 26 heures environ après l'introduction intraveineuse de protoalbumose. Les lapins sacrifiés 24 et 30 jours après l'injection d'hétéroalbumose se trouvaient par conséquent en état d'anaphylaxie. Tel était aussi le cas de ceux sacrifiés 18, 24 et 30 jours après l'introduction intrapéritonéale de protoalbumose.

Après 2 heures de séjour à 38°, le sérum de lapin normal contient, d'après le tableau I, 0.30 à 2.05 % de l'azote total à l'état aminé aliphatique. La proportion d'azote aminé mis en liberté par le sérum maintenu 2 heures à 38° s'accroît à la suite de l'injection d'hétéroalbumose. A la suite de l'injection de protoalbumose, elle augmente 2 fois (lapins N et O), mais diminue par contre les 3 autres fois (lapins K, L, M). Ces modifications de la teneur en azote aminé aliphatique du sérum sous l'influence des injections de protéoses sont comprises entre les chiffres extrêmes obtenus avec le sérum de lapin neuf. Elles représentent 0.14 à 0.25 % de l'azote total pour les lapins traités par l'hétéroalbumose, 0.02 à 0.74 % pour ceux traités par la protoalbumose. On ne peut donc point en conclure avec certitude à une influence de l'injection préparante sur le pouvoir protéoclastique du sérum de lapin pour ses propres protéines.

Sauf chez les lapins L, I et N, les chiffres absolus d'azote total du sérum sont plus élevés dans le second échantillon de sérum que dans le premier. Les chiffres absolus d'azote aminé aliphatique augmentent aussi de la première saignée à la seconde, à l'exception des lapins K, L et M.

Les mélanges de protoalbumose ou d'hétéroalbumose et du sérum des lapins témoins, maintenus 2 heures à 38°, offrent 6 fois sur 10 des chiffres un peu inférieurs (0.04 à 0.35 % de l'azote total), 4 fois des chiffres légèrement supérieurs (0.15 à 0.42 % de l'azote total) à ceux donnés par les 2 constituants du mélange restés séparément pendant le même laps de temps à la même température.

Le sérum du lapin F ayant reçu 6 jours auparavant une injection intrapéritonéale d'hétéroalbumose donne, après 2 heures de séjour à 38°, avec un volume égal de solution à 1 % d'hétéroalbumose ou de

protoalbumose des chiffres d'azote aminé légèrement inférieurs (0.10 à 0.22 % de l'azote total) à ceux calculés en partant des 2 constituants du mélange après la même durée de séjour à la même température. Il en est de même du mélange de protoalbumose et de sérum du lapin H traité 18 jours auparavant par l'hétéroalbumose, tandis qu'au contraire le mélange de ce sérum et de protoalbumose renferme une proportion d'azote aminé qui dépasse de 0.92 % de l'azote total celle calculée d'après les teneurs en azote aminé du sérum et de la protéose maintenus séparément 2 heures à 38°. Les mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et du sérum de l'un des 3 autres lapins traités par l'hétéroalbumose donnent des chiffres d'azote aminé légèrement supérieurs à ceux obtenus par l'addition des teneurs respectives en cette espèce d'azote du sérum et de la protéose après 2 heures de séjour à 38°.

L'injection préparante d'hétéroalbumose fait apparaître ou accroît dans une certaine mesure le pouvoir protéoclastique du sang pour la protéose sensibilisatrice dès la période pré-anaphylactique (lapins G, H). Puis, lorsque l'état d'anaphylaxie s'est installé, le pouvoir protéoclastique du sérum vis-à-vis de l'hétéroalbumose sensibilisatrice redescend dans des limites normales (lapin I) pour les dépasser légèrement par la suite (lapin J) sans atteindre néanmoins un niveau aussi élevé que chez le lapin H pendant la période préanaphylactique. Le pouvoir protéoclastique pour la protoalbumose du sérum des lapins traités par l'hétéroalbumose est resté dans les limites normales pendant la période préanaphylactique et l'état d'anaphylaxie, sauf chez le lapin I, chez lequel il dépasse légèrement la normale et l'emporte sur le pouvoir protéoclastique du même sérum pour l'hétéroalbumose sensibilisatrice, alors qu'on observe sinon toujours l'inverse. L'injection préparante d'hétéroalbumose a donc une influence nette, quoique peu considérable, sur le pouvoir protéoclastique du sang pour la substance déchaînante. Cet accroissement du pouvoir protéoclastique se manifeste déjà pendant la période préanaphylactique et disparaît au début de l'état d'anaphylaxie pour reparaitre ensuite. Ces variations du pouvoir protéoclastique du sang sont à rapprocher des faits analogues signalés chez les cobayes traités par la protoalbumose, tout en étant moins marquées que dans ce cas.

Passons aux lapins traités 6 à 30 jours auparavant par de la protoalbumose. Les mélanges de sérum et de protoalbumose possèdent, après 2 heures de séjour à 38°, une teneur en azote aminé aliphatique

supérieure à celle prévue. L'accroissement de la teneur en azote aminé rentre pour les sérums des lapins K et L, sacrifiés 6 et 12 jours après l'injection préparante, dans les limites des variations observées avec les sérums des lapins normaux. Au contraire chez les 3 lapins M, N, O, sacrifiés en état d'anaphylaxie 18, 24 et 30 jours après l'introduction intrapéritonéale de protoalbumose, la teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum et de la protéose sensibilisatrice dépasse de 0.79 à 1.20 % de l'azote total les chiffres calculés d'après les teneurs respectives en azote aminé des 2 constituants de chaque mélange maintenus séparément 2 heures à 38°.

Il semble donc bien que, chez les lapins injectés au moyen de protoalbumose, le sérum voit s'accroître pendant l'état d'anaphylaxie son pouvoir protéoclastique pour la protéose sensibilisatrice; il devient alors 2 à 3 fois plus considérable qu'à l'état normal. Cet accroissement ne débute pas déjà pendant la période préanaphylactique comme chez les lapins traités par l'hétéroalbumose ou les cobayes traités par la protoalbumose; il ne présente pas non plus les variations constatées dans les 2 cas précédents.

Les mélanges d'hétéroalbumose et de sérum des lapins préparés au moyen de la protoalbumose renferment dans 2 cas (lapins L, N) moins d'azote aminé aliphatique (0.05 à 0.48 % de l'azote total) que les chiffres calculés en additionnant les teneurs respectives en cette espèce d'azote des 2 constituants du mélange maintenus séparément 2 heures à 38°. Dans les 3 autres cas, la teneur en azote aminé aliphatique de ces mélanges s'est accrue de 0.22 à 0.87 % de l'azote total. Elle a dépassé à 2 reprises (lapins K et O) la proportion d'azote aminé trouvée dans les mélanges du même sérum et de protoalbumose.

Les modifications du pouvoir protéoclastique pour l'hétéroalbumose du sérum des lapins traités par la protoalbumose ne sont en rapport ni avec le laps de temps écoulé depuis l'injection préparante ni avec l'absence ou l'existence de l'état d'anaphylaxie chez ces animaux.

III. Deuxième série d'expériences.

3 lapins A, B, C, pesant respectivement 2050, 2150 et 2150 gr. ont servi à la seconde expérience, dont le tableau II indique les résultats. On a procédé à intervalles de 10 jours à 4 injections intraveineuses de 2 c.c. de liquide de Ringer chez le premier, de solution à 1 % d'hétéroalbumose chez le second, de solution à 1 % de protoalbumose chez le troisième. On a prélevé avant chaque injection 40 à 50 c.c.

de sang dans la carotide et l'on en a séparé le sérum. On a introduit lors des 2 dernières saignées une partie du sérum dans le péritoine d'un lapin de 500 à 600 grammes, auquel on a injecté le lendemain par voie intraveineuse 5 c.c. de liquide de Ringer, de solution à 1 % d'hétéroalbumose ou de solution à 1 % de protoalbumose. On a partagé le restant du sérum ou tout le sérum selon le cas en 4 portions, auxquelles on a ajouté le même volume soit de liquide de Ringer, soit de solution à 1 % d'hétéroalbumose, de protoalbumose ou de deutéroalbumose. On a maintenu 2 heures à 38—40° C. les 4 mélanges ainsi préparés aux dépens de chaque sérum en même temps que des mélanges témoins de volumes égaux de liquide de Ringer et de solution à 1 % d'hétéroalbumose, de protoalbumose ou de deutéroalbumose. On a alors déterminé les quantités d'azote total et d'azote aminé aliphatique renfermées dans ces divers liquides. 4 heures après la dernière injection, on a de nouveau prélevé du sérum sanguin qu'on a examiné de la même manière que les autres échantillons.

Tableau

Mélange employé	Avant la première injection							
	10 centimètres cubes de mélange renferment après deux heures de séjour à 38° C							
	chiffres trouvés			chiffres calculés				
	azote total, en milli-grammes	azote aminé aliphatique		azote total, en milli-grammes	azote amine aliphatique		pour-cent de l'azote total trouvés en plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés	
	en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total		en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total			
Hétéroalbumose + liquide de Ringer	21.10	1.48	7.01	
Protoalbumose + liquide de Ringer	17.26	1.08	6.26	
Deutéroalbumose + liquide de Ringer	21.60	1.13	5.36	
Sérum du lapin A recevant tous les 10 jours des injections de liquide de Ringer	+ liquide de Ringer	53.93	0.90	1.63	.	.	.	
	+ hétéroalbumose	74.20	2.54	3.42	75.03	2.38	3.17 + 0.25	
	+ protoalbumose	70.31	1.65	2.35	71.19	1.98	2.78 - 0.43	
Sérum du lapin B recevant tous les 10 jours des injections d'hétéroalbumose	+ deutéroalbumose	74.98	1.85	2.47	75.53	2.03	2.70 - 0.23	
	+ liquide de Ringer	52.06	1.28	2.46	.	.	.	
	+ hétéroalbumose	73.10	3.38	4.62	73.16	2.76	3.77 + 0.85	
Sérum du lapin C recevant tous les 10 jours des injections de protoalbumose	+ protoalbumose	69.27	3.49	5.04	69.32	2.36	3.41 + 1.63	
	+ deutéroalbumose	73.67	2.82	3.88	73.66	2.41	3.27 + 0.61	
	+ liquide de Ringer	48.73	0.83	1.70	.	.	.	
Sérum du lapin C recevant tous les 10 jours des injections de protoalbumose	+ hétéroalbumose	69.76	3.18	4.56	69.83	2.31	3.32 + 1.24	
	+ protoalbumose	65.89	2.62	3.22	65.99	1.91	2.91 + 0.31	
	+ deutéroalbumose	68.45	1.72	2.51	69.33	1.96	2.83 - 0.32	

Aucun des 3 lapins A, B, C n'a présenté de symptômes du choc anaphylactique à la suite des seconde et troisième injections. La quatrième n'a pas davantage entraîné de phénomènes spéciaux chez les lapins traités par la protoalbumose ou par le liquide de Ringer. 5 heures 1/2 après la dernière injection, le lapin traité par l'hétéroalbumose a commencé à montrer des secousses musculaires aux membres postérieurs, auxquelles ont succédé d'abord des convulsions généralisées, puis de l'abattement. L'animal paraissait néanmoins déjà entièrement rétabli le lendemain.

On n'est parvenu à obtenir des symptômes, d'ailleurs pas très accusés, du choc anaphylactique dans les essais d'anaphylaxie passive que chez les lapins injectés le jour précédent au moyen du sérum recueilli avant la quatrième injection d'hétéroalbumose ou de protoalbumose. Il semble donc que l'état d'anaphylaxie n'a été réalisé qu'après la troisième injection de protéose. La figure ci-contre illustre la marche des phénomènes chez le lapin C traité par la protoalbumose.

II.

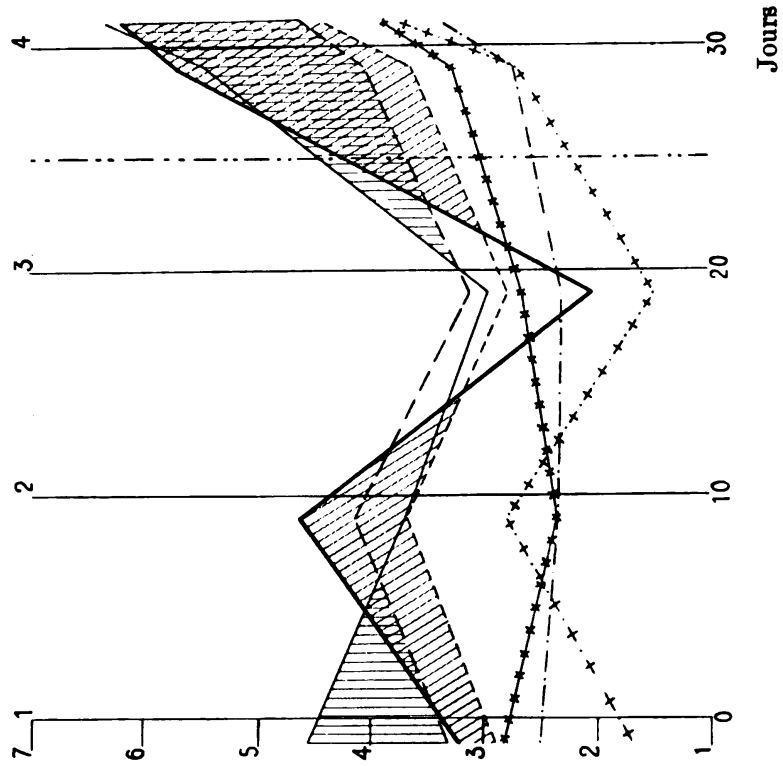
Avant la seconde injection							Avant la troisième injection						
10 centimètres cubes de mélange renferment après deux heures de séjour à 38° C							10 centimètres cubes de mélange renferment après deux heures de séjour à 38° C						
chiffres trouvés			chiffres calculés				chiffres trouvés			chiffres calculés			
azote total, en milli-grammes	azote aminé aliphatique		azote total, en milli-grammes	azote aminé aliphatique		pour-cent de l'azote total trouvés en plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés	azote total, en milli-grammes	azote aminé aliphatique		azote total, en milli-grammes	azote aminé aliphatique		pour-cent de l'azote total trouvés en plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés
	en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total		en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total			en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total		en milli-grammes	en pour-cent de l'azote total	
21.00	1.52	7.24	21.00	1.49	7.10
17.20	1.06	6.16	17.22	1.12	6.50
21.00	1.10	5.24	20.77	1.12	5.39
55.30	0.88	1.59	52.03	0.85	1.63
76.07	2.05	2.69	76.30	2.40	3.15	- 0.46	69.78	2.22	3.18	73.03	2.34	3.20	- 0.02
72.80	2.29	3.14	72.50	1.94	2.68	+ 0.46	68.17	1.95	2.86	69.25	1.97	2.84	+ 0.02
74.60	1.18	1.58	76.30	1.98	2.60	- 1.02	72.45	1.66	2.39	72.80	1.97	2.71	- 0.32
49.80	1.94	3.89	52.96	1.50	2.83
70.00	2.60	3.91	70.80	3.46	4.89	- 0.98	73.80	2.81	3.81	73.96	2.99	4.04	- 0.23
66.95	3.47	5.18	67.00	3.00	4.48	+ 0.70	69.40	3.42	4.93	70.18	2.62	3.73	+ 1.20
69.82	1.50	2.15	70.80	3.04	4.29	- 2.14	73.52	2.16	2.94	73.73	2.62	3.55	- 0.61
48.30	1.35	2.79	49.07	0.73	1.49
69.65	2.56	3.68	69.30	2.87	4.14	- 0.46	70.02	2.07	2.96	71.07	2.22	3.12	- 0.16
65.50	3.03	4.63	65.50	2.41	3.68	+ 0.95	66.18	1.34	2.03	66.29	1.85	2.79	- 0.76
67.94	1.59	2.34	69.30	1.64	2.36	- 0.02	68.97	1.59	2.31	69.84	1.85	2.65	- 0.36

Tableau II (Suite).

Mélange employé	Avant la quatrième injection				Quatre heures après la quatrième injection														
	10 centimètres cubes de mélange renfermant après deux heures de séjour à 38° C		chiffres trouvés		10 centimètres cubes de mélange renfermant après deux heures de séjour à 38° C		chiffres trouvés												
	azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique en pour-cent de l'azote total	azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique en pour-cent de l'azote total	azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique en pour-cent de l'azote total	azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique en pour-cent de l'azote total											
Hétéroalbumose	21.07	1.54	7.31	20.96	1.32	6.30	20.96	1.32	6.30	20.96	1.32	6.30	20.96	1.32	6.30	20.96	1.32	6.30	
Protoalbumose	17.13	1.12	6.53	17.28	1.05	6.07	17.28	1.05	6.07	17.28	1.05	6.07	17.28	1.05	6.07	17.28	1.05	6.07	
Deutéroalbumose	20.95	0.98	4.68	21.13	0.87	4.16	21.13	0.87	4.16	21.13	0.87	4.16	21.13	0.87	4.16	21.13	0.87	4.16	
Sérum du lapin A rece-	56.15	0.67	1.19	50.40	0.78	1.55	50.40	0.78	1.55	50.40	0.78	1.55	50.40	0.78	1.55	50.40	0.78	1.55	
vant tous les 10 jours	77.21	2.06	2.67	70.95	1.94	2.73	70.95	1.94	2.73	70.95	1.94	2.73	70.95	1.94	2.73	70.95	1.94	2.73	
des injections de li-	71.96	1.47	2.04	73.28	1.79	2.44	66.85	1.70	2.54	66.85	1.70	2.54	66.85	1.70	2.54	66.85	1.70	2.54	
quide de Ringer	76.93	1.42	1.85	77.10	1.65	2.14	69.86	1.54	2.20	69.86	1.54	2.20	69.86	1.54	2.20	69.86	1.54	2.20	
Sérum du lapin B rece-	47.14	1.82	3.86	40.37	2.08	5.15	40.37	2.08	5.15	40.37	2.08	5.15	40.37	2.08	5.15	40.37	2.08	5.15	
vant tous les 10 jours	68.02	4.50	6.62	68.21	3.36	4.93	61.42	4.23	6.88	61.42	4.23	6.88	61.42	4.23	6.88	61.42	4.23	6.88	
des injections d'hétéro-	64.20	3.73	5.81	64.27	2.94	4.57	57.17	3.41	5.96	57.17	3.41	5.96	57.17	3.41	5.96	57.17	3.41	5.96	
albumose	66.75	2.17	3.25	68.09	2.80	4.11	60.96	2.38	3.90	60.96	2.38	3.90	60.96	2.38	3.90	60.96	2.38	3.90	
Sérum du lapin C rece-	51.30	1.38	2.69	42.40	1.58	3.73	42.40	1.58	3.73	42.40	1.58	3.73	42.40	1.58	3.73	42.40	1.58	3.73	
vant tous les 10 jours	72.31	3.93	5.43	72.37	2.92	4.03	63.00	3.97	6.33	63.00	3.97	6.33	63.00	3.97	6.33	63.00	3.97	6.33	
des injections de proto-	68.16	3.88	5.69	68.43	2.46	3.63	59.50	3.68	6.18	59.50	3.68	6.18	59.50	3.68	6.18	59.50	3.68	6.18	
albumose	78.68	1.92	2.72	72.25	2.36	3.27	62.85	2.10	3.34	62.85	2.10	3.34	62.85	2.10	3.34	62.85	2.10	3.34	

Figure 1. Lapin C (tableau II) traité par la protoalbumose.

En abscisse au dessous le nombre de jours depuis la première injection intraveineuse de protoalbumose au lapin C, en abscisse au dessus le nombre d'injections intraveineuses de protoalbumose, en ordonnée les % d'azote aminé aliphatique après 2 heures de séjour à 38° C de mélanges de volumes égaux de sérum et de liquide de Ringer ou de deutéroalbumose dans le liquide de Ringer.



- } % d'azote aminé ali-
 } phatique calculés
- } + sérum
 } + protoalbumose
- } % d'azote aminé ali-
 } phatique trouvés
- } + sérum
 } + hétéroalbumose
- } % d'azote aminé ali-
 } phatique calculés
- } + sérum
 } + deutéroalbumose
- * * * * * } % d'azote aminé ali-
 } phatique calculés
- } % d'azote aminé ali-
 } phatique trouvés
- } + sérum
 } + liquide de Ringer
- ////// } Accroissement du pouvoir protéoclastique du
 } sérum pour la protoalbumose
- |||||| } Accroissement du pouvoir protéoclastique du
 } sérum pour l'hétéroalbumose
- } Époque à partir de laquelle l'état d'anaphy-
 } laxie existe chez le lapin C

19*

Après 2 heures de séjour à 38°, le sérum additionné de son volume de liquide de Ringer renferme chez les 3 lapins A, B, C ayant servi à l'expérience résumée dans le tableau II 1.63 à 2.46 % de l'azote sous forme aminée aliphatique.

La proportion d'azote aminé mis en liberté par le sérum présente des variations assez notables chez le même lapin lors des 4 saignées pratiquées avant chaque injection intraveineuse de liquide de Ringer, d'hétéroalbumose ou de protoalbumose. Chez le lapin témoin A, elle oscille entre 1.19 et 1.63 % de l'azote total, chez le lapin B entre 2.46 et 3.86 %, chez le lapin C entre 1.49 et 2.79 %.

La teneur en azote aminé aliphatique du sérum augmente chez les lapins B et C à la suite de la première injection de protéose, diminue à la suite de la seconde et remonte à la suite de la troisième à peu près au même niveau que lors de la seconde saignée. Ces oscillations dépassent 1 % de l'azote total et la moitié de la teneur initiale en azote aminé. Elles ne sont nullement parallèles aux très faibles modifications constatées chez l'animal témoin A. Elles décèlent peut être des variations du pouvoir protéoclastique du sérum pour ses propres protéines en relation avec l'établissement de l'état d'anaphylaxie.

Lors de la saignée pratiquée 4 heures après la dernière injection, la teneur en azote aminé du sérum des 3 lapins A, B, C s'est accrue par rapport à la saignée effectuée avant l'injection. Cet accroissement rentre chez le lapin témoin dans les limites des oscillations normales. Au contraire, pour les lapins traités par l'hétéroalbumose ou la protoalbumose, on obtient alors des chiffres d'azote aminé dépassant respectivement de 1.29 et 1.07 % de l'azote total les chiffres obtenus avant la quatrième injection, de 2.32 et 2.24 % ceux constatés avant la troisième injection, de 1.26 et 0.97 % ceux observés avant la seconde injection, de 2.69 et 2.03 % ceux trouvés avant tout traitement. Cette augmentation relativement considérable de la teneur en azote aminé du sérum pour ses propres protéines est plus marquée chez le lapin B traité par l'hétéroalbumose et qui a montré 1 heure $\frac{1}{2}$ après la saignée les phénomènes d'un choc anaphylactique atténué que chez le lapin A traité par la protoalbumose et chez lequel, bien qu'il fût en état d'anaphylaxie, la dernière injection n'a pas entraîné de manifestations spéciales.

Les mélanges de sérum et de deutéroalbumose, maintenus 2 heures à 38°, ont une teneur en azote aminé aliphatique inférieure à celle donnée par les 2 constituants du mélange maintenus séparément dans les mêmes conditions, à l'exception du mélange préparé au moyen du sérum du lapin B avant tout traitement.

Les mélanges de sérum du lapin témoin et d'hétéroalbumose ou de protoalbumose présentent 7 fois des chiffres d'azote aminé légèrement inférieurs à ceux calculés, 3 fois des chiffres quelque peu supérieurs. Les oscillations en les deux sens sont comprises entre 0.02 et 0.46 %

de l'azote total; elles ne semblent nullement dépendre du nombre de saignées ou d'injections subies par l'animal.

Les mélanges d'hétéroalbumose et de sérum du lapin B ou du lapin C traités par les protéoses donnent des chiffres d'azote aminé supérieurs à ceux calculés, sauf lors des deuxième et troisième saignées. Il en est de même dans tous les cas des mélanges de protoalbumose et de sérum du lapin B et, à l'exception de la troisième saignée, des mélanges de protoalbumose et de sérum du lapin C. Sauf pour les mélanges de protoalbumose et de sérum du lapin B, la proportion d'azote aminé aliphatique de ces divers mélanges dépasse les chiffres calculés dans de bien plus grandes limites lors des saignées pratiquées avant et 4 heures après la dernière injection d'hétéroalbumose ou de protoalbumose que lors des saignées antérieures. Les différences entre les chiffres trouvés et calculés sont plus considérables pour le mélange de la protéose sensibilisatrice et du sérum du lapin traité par celle-ci que pour le mélange de ce même sérum et de l'autre protéose. Lors de la saignée faite 4 heures après la dernière injection, les différences entre les chiffres trouvés et calculés diminuent pour les mélanges de protoalbumose ou d'hétéroalbumose et de sérum du lapin B, s'accroissent par contre encore pour les mélanges de protoalbumose ou d'hétéroalbumose et de sérum du lapin C.

La teneur en azote aminé des mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et de sérum ne subit que des variations peu considérables lors des 3 premières saignées chez le lapin B. On observe des variations un peu plus accusées de la teneur en azote aminé pour les mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et des échantillons de sérum recueillis lors des 3 premières saignées chez le lapin C. La teneur en azote aminé s'accroît nettement lors de la quatrième saignée chez les 2 lapins B et C, et cela davantage pour le mélange contenant la protéose sensibilisatrice et le sérum correspondant que pour l'autre. La teneur en azote aminé aliphatique du mélange d'hétéroalbumose et de sérum du lapin B recueilli lors de la quatrième saignée dépasse de 2.00 à 2.81 % de l'azote total les chiffres antérieurs, celle du mélange de protoalbumose et de sérum du lapin B de 0.63 à 1.08 %, celle du mélange d'hétéroalbumose et de sérum du lapin C de 0.87 à 2.47 %, celle du mélange de protoalbumose et de sérum du lapin C de 1.06 à 3.66 %. De la quatrième à la cinquième saignée, la teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum du lapin B ou C et d'hétéroalbumose ou de protoalbumose s'accroît encore, surtout pour les mélanges préparés avec le sérum du lapin C. Elle atteint lors de la dernière saignée 6 à 7 % de l'azote total.

En résumé, la teneur en azote aminé aliphatique des mélanges d'hétéroalbumose ou de protoalbumose et de sérum des lapins traités par l'une ou l'autre de ces substances ne se modifie guère après les deux premières injections intra-

veineuses. Elle s'accroît par contre notablement après la troisième injection et dépasse de 1 à 2% les chiffres calculés en additionnant les teneurs en azote aminé des deux constituants du mélange restés séparément 2 heures à 38°. Cette augmentation de la teneur en azote aminé est plus considérable pour les mélanges de sérum et de protéose sensibilisatrice que pour ceux du même sérum et de l'autre protéose. Elle s'accroît encore après la quatrième injection.

Ces résultats décèlent un accroissement manifeste du pouvoir protéoclastique du sérum des lapins en état d'anaphylaxie pour la protéose sensibilisatrice et à un bien moindre degré pour l'autre protéose capable de déclencher le choc anaphylactique chez un animal sensibilisé. On constate, en outre, au cours de l'état d'anaphylaxie, un accroissement tardif du pouvoir protéoclastique du sérum de lapin pour ses propres protéines et pendant la période préanaphylactique des variations de ce pouvoir, jusqu'à un certain point en relation avec l'établissement de l'état d'anaphylaxie.

Zusammenfassung.

1) Die intraperitonealen oder intravenösen Heteroalbumose- oder Protoalbumoseeinspritzungen bewirken beim Kaninchen eine minder oder mehr ausgeprägte Zunahme des proteoklastischen Vermögens des Blutes für die sensibilisierende Proteose sowie, wenn auch in viel geringerem Grade, für die andere den anaphylaktischen Shock erzeugende Proteose.

2) Bei den entweder mittels einer intraperitonealen Protoalbumoseeinspritzung oder mehreren intravenösen Heteroalbumose- oder Protoalbumoseeinspritzungen vorbehandelten Kaninchen erscheint diese Zunahme des proteoklastischen Vermögens des Blutes erst während des Anaphylaxiezustandes. Sie besteht hingegen schon während des präanaphylaktischen Stadiums bei den mittels einer intraperitonealen Heteroalbumoseeinspritzung vorbehandelten Kaninchen, bei welchen sie zeitweise während des Anaphylaxiezustandes verschwindet.

Nachdruck verboten.

[Travail de l'Institut de thérapeutique de l'Université de Bruxelles.]

Recherches sur le pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie.

Troisième communication.

Expériences chez le chien et considérations générales.

Par **Edgard Zunz.**

Avec 1 figure dans le texte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Dezember 1912.)

I. Introduction.

Dans deux communications précédentes¹⁾, j'ai étudié les modifications du pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie provoquée chez le cobaye et le lapin par l'introduction intrapéritoneale ou intraveineuse d'hétéroalbumose, de protoalbumose ou de sérum de bœuf. Il m'a paru utile de procéder aussi à quelques recherches chez le chien. Les résultats ainsi obtenus sont encore fort incomplets. Ils appellent de nouvelles expériences qui exigeront un laps de temps assez considérable. On doit néanmoins déjà en tenir compte et les mettre en relation avec les données observées chez le lapin et chez le cobaye. C'est pourquoi je me suis cru autorisé à rapporter les constatations effectuées jusqu'à présent chez le chien à la suite de l'introduction intraveineuse de sérum de bœuf.

II. Expériences chez le chien.

On a injecté 20 c.c. de sérum de bœuf dans la jugulaire d'un chien A de 8¹/₂ kilogrammes. On a introduit le même jour 20 c.c. de liquide de Ringer dans la jugulaire d'un chien témoin B pesant 8700 grammes. On a répété ces injections au bout de 28 jours. Lors de la réinjection, le premier chien a montré d'abord une vive excitation, puis un abattement très profond, qui a débuté 2 heures après l'introduction intraveineuse de sérum de bœuf, a atteint son plus fort degré au bout de 4 à 5 heures, existait encore au bout de 8 heures et avait entièrement disparu le lendemain. La température rectale du chien A

1) Diese Zeitschr., Bd. 17, p. 241, 265.

Tableau I.

Mélange employé		Après deux heures de séjour à 38° C						Plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés	
		10 centimètres cubes du mélange renferment		chiffres calculés					
		chiffres trouvés		azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique en pour-cent de l'azote total	azote total, en milligrammes	azote aminé aliphatique en milligrammes		en pour-cent de l'azote total
Chien A	Avant la première injection de sérum de bœuf	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum + liquide de Ringer + sérum de bœuf	73.10					0.04	
		{ sang défibriné + liquide de Ringer + sérum de bœuf	52.50	0.18	0.34	125.60	0.22	0.18	+ 0.18
			125.30	0.45	0.36				
	6 heures après la première injection de sérum de bœuf	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum + liquide de Ringer + sérum de bœuf	161.00	1.78	1.11	234.10	1.82	0.78	+ 0.48
			233.15	2.93	1.26				
		{ sang défibriné + liquide de Ringer + sérum de bœuf	72.95	0.00	0.00				
		49.85	0.14	0.28	122.90	0.14	0.11	+ 0.43	
		120.60	0.65	0.54					
		163.65	4.25	2.70	236.50	4.25	1.80	- 0.39	
		231.80	3.26	1.41					

Chien A	28 jours après la première injection de sérum de bœuf	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + sérum de Ringer + sérum de bœuf sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } } }	71.90	0.00	0.00	0.92	0.67	.	.	
			65.75	1.55	137.65	0.92	0.67	.	.	+ 1.30
			135.80	1.97	244.80	6.38	2.61	.	.	+ 2.01
Chien A	6 heures après la seconde injection de sérum de bœuf	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } } }	72.05	0.00	.	0.43	.	.	.	
			86.20	0.48	158.25	0.43	0.27	.	.	- 0.02
			157.30	0.25	263.50	4.12	1.55	.	.	- 0.07
Chien B	Avant la première injection de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } } }	72.85	0.00	
			63.20	0.36	136.05	0.12	0.09	.	.	+ 1.00
			135.00	1.09	227.45	1.74	0.76	.	.	+ 0.34
Chien B	6 heures après la première injection de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } } }	71.90	0.00	
			74.10	0.49	146.00	0.49	0.34	.	.	+ 0.14
			139.90	0.67	234.80	1.53	0.65	.	.	- 0.06
Chien B	28 jours après la première injection de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } } }	71.45	0.00	
			59.45	0.38	130.90	0.38	0.29	.	.	+ 0.15
			127.65	0.56	228.05	5.65	2.48	.	.	+ 0.30
Chien B	6 heures après la seconde injection de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } } }	71.60	0.00	
			63.70	1.15	135.30	0.73	0.55	.	.	+ 0.12
			132.95	0.67	245.80	4.80	1.95	.	.	- 0.63

Tableau II.

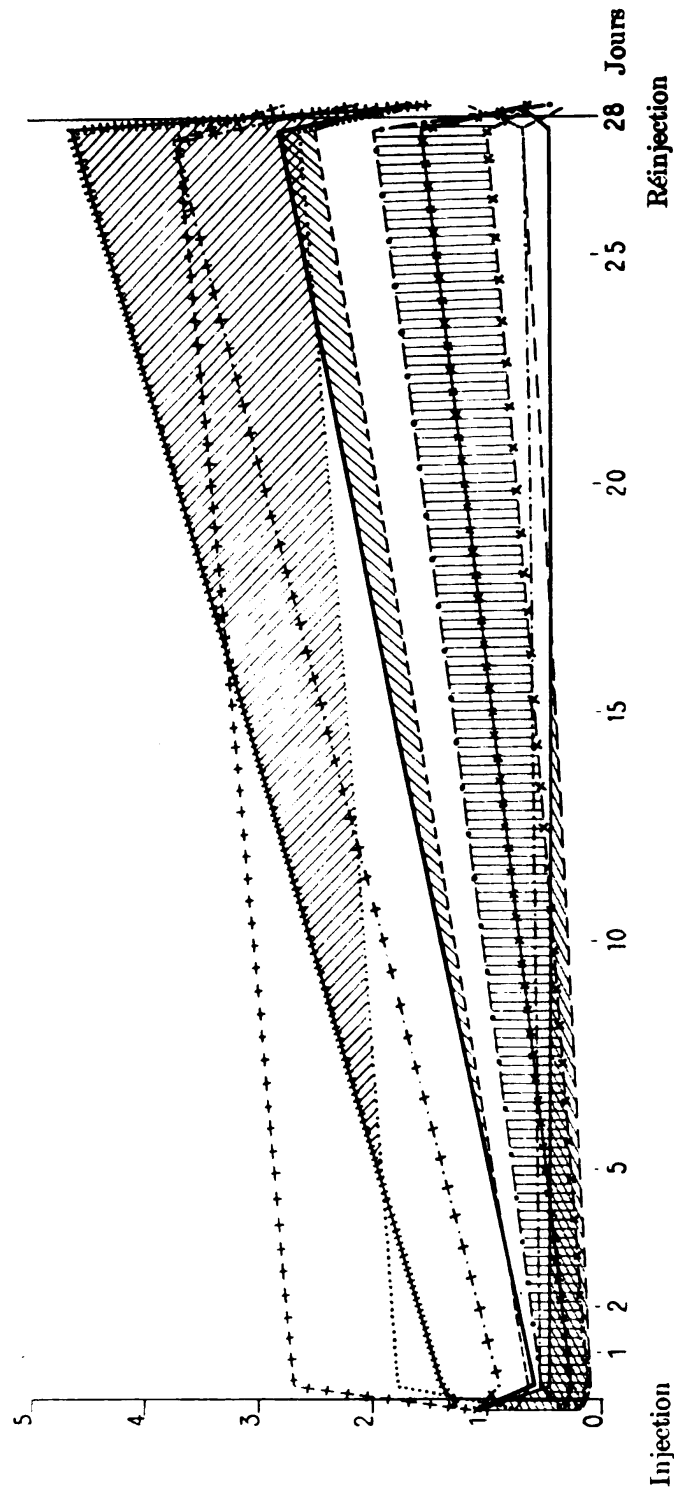
		Après six heures de séjour à 38° C						Pour-cent de l'azote total trouvés en plus ou en moins à l'état d'azote aminé aliphatique que les chiffres calculés		
		10 centimètres cubes du mélange renferment								
		chiffres trouvés			chiffres calculés					
		azote aminé aliphatique		azote aminé aliphatique		azote aminé aliphatique				
		en milli-grammes		en pour-cent de l'azote total		en milli-grammes		en pour-cent de l'azote total		
Chien A	Avant la première injection de sérum de bœuf	sérum de bœuf	73.15	0.12	0.16	
			liquide de Ringer	52.50	0.14	0.27
		sérum	125.65	0.34	0.27	125.65	0.26	0.21	+	0.06
			liquide de bœuf	161.35	1.97	1.22	234.50	2.09	0.89	+
		sang défibriné	233.75	2.21	0.90
			liquide de bœuf	73.20	0.07	0.09
	6 heures après la première injection de sérum de bœuf	sérum de bœuf	49.95	0.17	0.34	
			liquide de Ringer	120.80	0.60	0.50	123.15	0.24	0.19	+
		sérum	165.80	3.68	2.22	239.00	3.75	1.57	+	0.89
			liquide de bœuf	234.50	5.77	2.46
		sang défibriné
			liquide de bœuf

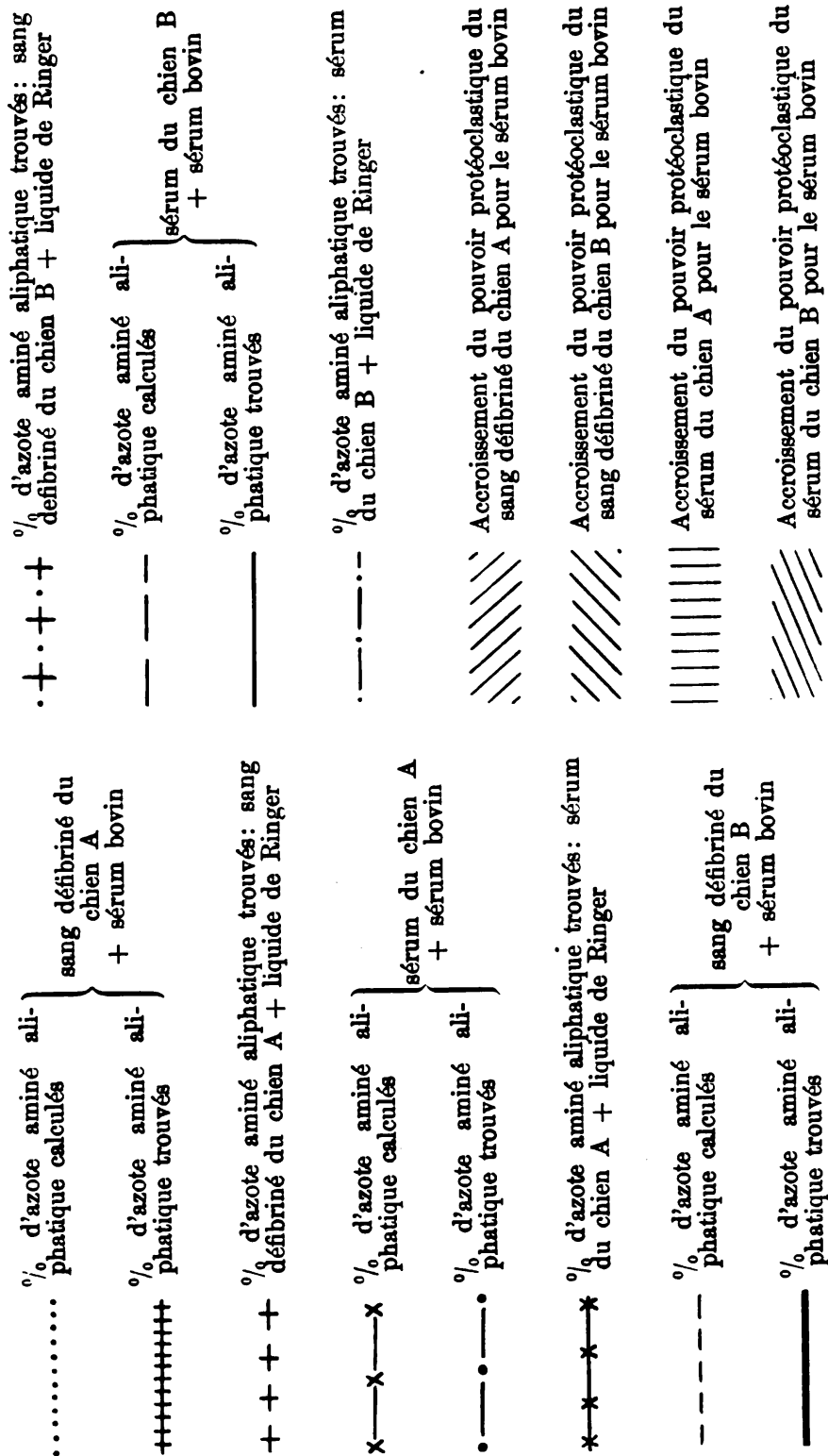
Mélange employé

Chien A	28 jours après la première injection de sérum de bœuf	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf }	72.60	0.09	0.12	
			66.10	0.84	1.29
Chien A	6 heures après la seconde injection de sérum de bœuf	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf }	138.60	2.32	1.67	0.93	0.67	+ 1.00	.	.	
			176.40	9.64	5.46	9.73	3.91	+ 1.14	.	.	
			242.85	12.26	5.06
			72.75	0.12	0.17
			87.35	0.29	0.33
			158.25	0.45	0.28	0.41	0.26	- 0.02	.	.	.
Chien B	Avant la première injection de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf }	195.30	3.97	2.03	4.09	1.49	- 0.55	.	.	
			261.40	2.45	0.94	268.05	1.49	- 0.55	.	.	
			73.00	0.06	0.08
			68.60	0.34	0.98
			136.75	1.84	1.35	0.40	0.28	+ 1.07	.	.	.
			155.95	5.62	3.60	5.68	2.48	- 1.26	.	.	.
Chien B	6 heures après la première injection de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf }	225.30	2.74	1.22	
			72.45	0.04	0.06
			75.65	0.43	0.57
			142.05	1.25	0.88	0.47	0.32	+ 0.56	.	.	.
			162.40	1.87	1.15	1.91	0.80	- 0.14	.	.	.
			232.75	1.54	0.66	238.05	0.80	- 0.14	.	.	.
Chien B	28 jours après la première inject. de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf }	72.20	0.08	0.10	
			60.30	0.52	0.86
			129.45	0.49	0.38	0.58	0.44	- 0.06	.	.	.
			159.10	7.23	4.54	7.31	3.16	- 0.21	.	.	.
			225.85	6.47	2.95	231.30	3.16	- 0.21	.	.	.
			72.05	0.06	0.08
Chien B	6 heures après la seconde inject. de liquide de Ringer	{ sérum de bœuf + liquide de Ringer sérum { + liquide de Ringer + sérum de bœuf } sang défibriné { + liquide de Ringer + sérum de bœuf }	64.35	0.82	1.27	
			133.70	0.95	0.71	0.88	0.65	+ 0.06	.	.	.
			175.95	5.28	3.00	5.34	2.16	- 0.47	.	.	.
			242.60	4.09	1.69	248.00	2.16	- 0.47	.	.	

Figure 1. Chien A traité par le sérum de bœuf et chien B témoin (tableaux I et II).

En abscisse, le nombre de jours depuis la première injection de sérum de bœuf au chien A, de liquide de Ringer au chien B. En ordonnée, les % d'azote aminé après 2 heures de séjour à 38° C de mélanges de volumes égaux de sang défibriné ou de sérum du chien A ou du chien B et de sérum de bœuf ou de liquide de Ringer. Les deux lignes verticales indiquent l'injection et la réinjection.





est tombée de 39.7 avant la réinjection à 37.2 au bout de 2 et à 36.4 au bout de 4 heures pour remonter à 36.9 au bout de 6 et à 38.2 au bout de 8 heures. La température rectale du chien témoin B s'est légèrement accrue (0.6°) après la réinjection; elle a passé de 39.5 avant la réinjection à 39.8 au bout de 2, 40.1 au bout de 4, 39.7 au bout de 6, 39.9 au bout de 8 heures. Cet animal n'a pas présenté d'autres symptômes spéciaux. Le lendemain de la réinjection, la température rectale du chien A correspondait à 39.2, celle du chien B à 39.3.

On a prélevé du sang à chacun des 2 chiens avant l'injection ou la réinjection et 6 heures après celles-ci. On a préparé du sérum et du sang défibriné aux dépens de chaque prise de sang. On a partagé chaque échantillon de sérum ou de sang défibriné en 2 portions auxquelles on a ajouté le même volume soit de liquide de Ringer, soit de sérum de bœuf. Ces 4 mélanges et un mélange témoin formé par du sérum de bœuf additionné de son volume de liquide de Ringer sont maintenus pendant 6 heures à 38—40° C, mais on en a prélevé la moitié au bout de 2 heures. On a déterminé les quantités d'azote total et d'azote aminé aliphatique contenues dans ces divers mélanges après 2 et après 6 heures de séjour à 38—40° C. Les tableaux I et II mentionnent les chiffres ainsi obtenus. La figure ci-contre reproduit les données recueillies après 2 heures de séjour à 38° des divers mélanges examinés.

Le sérum renferme chez les 2 chiens A et B moins d'azote aminé aliphatique que le sang défibriné provenant de la même saignée. On observe la plus forte teneur en azote aminé au bout de 2 heures de séjour à 38° pour le sérum du chien A tant avant toute injection qu'avant et après la réinjection, pour le sang défibriné du chien A après l'injection et la réinjection. Dans tous les autres cas, le sérum et le sang défibriné renferment plus d'azote aminé après 6 heures de séjour à 38° qu'après 2. La teneur en azote aminé aliphatique ne présente pas toujours son maximum au même moment dans le sérum et dans le sang défibriné provenant d'une même saignée.

L'injection de sérum de bœuf amène au bout de 28 jours un notable accroissement du pouvoir protéoclastique pour ses propres protéines du sérum du chien A ainsi traité. Il est à ce moment 5 fois plus fort qu'auparavant pour retomber à peu près à la normale 6 heures après la réinjection. La teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné atteint le double du chiffre initial 6 heures après la première injection de sérum bovin. Elle dépasse au bout de 28 jours le triple ou le quadruple du chiffre initial pour redescendre ensuite considérablement, sans avoir néanmoins encore regagné tout à fait la normale 6 heures après la réinjection.

On observe chez le chien témoin B 28 jours après l'injection de liquide de Ringer un accroissement de la teneur en azote aminé aliphatique du sang défibriné, mais pas du sérum. L'injection et la réinjection de liquide de Ringer entraînent une augmentation de la

teneur en azote aminé aliphatique du sérum, une diminution au contraire de celle du sang défibriné.

Le mélange de sérum de chien et de sérum de bœuf contient moins d'azote aminé que le mélange correspondant préparé au moyen de sang défibriné, sauf pour les mélanges maintenus 6 heures à 38°, préparés au moyen des échantillons de sang prélevés au chien B avant et après la première injection de liquide de Ringer.

Les mélanges de sérum bovin et de sérum ou de sang défibriné de chien présentent une plus forte teneur en azote aminé au bout de 6 heures qu'au bout de 2, à l'exception de ceux préparés au moyen du sérum du chien A avant ou après la première injection et avant la réinjection, du sérum du chien B avant la réinjection, du sang défibriné du chien A avant la première injection.

La teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum bovin et de sérum ou de sang défibriné recueilli avant tout traitement dépasse, tant après 2 qu'après 6 heures de séjour à 38°, les chiffres calculés en partant des 2 constituants du mélange maintenus séparément pendant le même laps de temps à 38°, sauf pour le mélange du sang défibriné du chien témoin et de sérum bovin après 6 heures de séjour à 38°.

La teneur en azote aminé de ces mélanges s'accroît par rapport aux chiffres calculés 6 heures après la première injection de sérum de bœuf, soit sous son influence, soit sous celle de la saignée, sauf pour le mélange de sang défibriné et de sérum de bœuf maintenu 2 heures à 38°, dont la teneur en azote aminé, quoique plus élevée qu'avant l'injection, n'atteint pas le chiffre calculé en partant des 2 constituants envisagés isolément. 28 jours après l'injection de sérum de bœuf, la teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum ou de sang défibriné et de sérum bovin a beaucoup augmenté; elle atteint près du quadruple au sextuple des chiffres initiaux et dépasse de 1 à 2 % les chiffres calculés en additionnant les teneurs en cette espèce d'azote des 2 constituants examinés séparément après la même durée de séjour à 38°. Les mélanges de sérum de bœuf et de sérum recueilli 6 heures après la réinjection sérique ayant entraîné le choc anaphylactique présentent à peu près la même teneur en azote aminé aliphatique, très faible d'ailleurs, que celles données par leurs 2 constituants maintenus isolément pendant le même laps de temps à 38°. La teneur en azote aminé aliphatique des mélanges de sérum de bœuf et de sang défibriné recueilli 6 heures après la réinjection sérique est inférieure aux chiffres calculés en partant des 2 constituants envisagés séparément. Les mélanges de sérum de bœuf et de sérum ou de sang défibriné recueilli pendant le choc anaphylactique déchainé par la seconde introduction intraveineuse de sérum bovin ont des teneurs en azote aminé aliphatique analogues à celles obtenues avant toute injection et par conséquent fort inférieures à celles constatées pendant l'état d'anaphylaxie avant la réinjection sérique.

Les sérums recueillis après la première ou la deuxième réinjection de liquide de Ringer forment avec le sérum de bœuf des mélanges dont les teneurs en azote aminé dépassent légèrement, au bout de 2 et de 6 heures de séjour à 38°, les chiffres calculés d'après les teneurs en cette espèce d'azote des 2 constituants du mélange maintenus isolément pendant le même laps de temps à 38°. Les mélanges de sérum bovin et de sang défibriné recueilli dans ces mêmes conditions présentent au contraire des teneurs en azote aminé inférieures aux chiffres calculés. Les mélanges de sérum bovin et de sérum ou de sang défibriné recueilli 28 jours après la première injection de liquide de Ringer possèdent des teneurs en azote aminé aliphatique légèrement supérieures aux chiffres calculés après un séjour de 2 heures à 38°, légèrement inférieures par contre après un séjour de 6 heures à 38°.

Les résultats précédents décèlent des différences notables entre les 2 chiens en expérience. Chez celui soumis à l'influence d'une injection préparante de sérum de bœuf, on constate un accroissement considérable du pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné pour les protéines du sérum sensibilisateur. Il atteint un niveau relativement élevé pendant l'état d'anaphylaxie et diminue dans une forte mesure pendant le choc anaphylactique. Le pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné pour ses propres protéines subit des variations analogues. Chez le chien témoin, on n'observe par contre pas de modifications bien nettes du pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné pour leurs propres protéines et pour celles du sérum de bœuf.

III. Considérations générales.

Si l'on fait abstraction des variations du pouvoir protéoclastique du sérum et du sang défibriné pour leurs propres protéines, on peut résumer de la façon suivante les principaux faits mis en lumière par les recherches dont les résultats ont été relatés dans cette communication et dans les deux précédentes:

1° Sauf chez les cobayes traités par le sérum de bœuf, le pouvoir protéoclastique du sang pour les protéines ou protéoses sensibilisatrices s'accroît dans une plus ou moins grande mesure après l'injection ou les injections préparantes.

2° Cet accroissement du pouvoir protéoclastique ne s'observe qu'après l'établissement de l'état d'anaphylaxie chez les lapins soumis soit à une injection intrapéritonéale de proto-

albumose, soit à plusieurs injections intraveineuses de cette protéose ou d'hétéroalbumose. Il se constate par contre déjà à la période préanaphylactique chez les lapins soumis à une injection intrapéritonéale d'hétéroalbumose et chez les cobayes traités de la même manière par la protoalbumose pour disparaître à certains moments pendant l'état d'anaphylaxie.

3° L'augmentation considérable du pouvoir protéoclastique du chien en état d'anaphylaxie sérique disparaît pendant le choc anaphylactique.

4° Chez les cobayes traités par le sérum de bœuf, le pouvoir protéoclastique du sang diminue pendant la période préanaphylactique et disparaît pendant l'état d'anaphylaxie.

Ces constatations ne permettent pas de se rendre compte pour le moment avec précision des relations entre l'état d'anaphylaxie ou le choc anaphylactique d'une part et les modifications du pouvoir protéoclastique du sang d'autre part. Bien des points restent encore à élucider auparavant. En voici les plus importants:

Quelle part prennent les substances inhibitrices du sérum bovin à la diminution graduelle du pouvoir protéoclastique du sang des cobayes traités par le sérum?

A quel moment apparaît l'accroissement du pouvoir protéoclastique du sang chez le chien soumis à une injection préparante de sérum?

Le pouvoir protéoclastique du sang des chiens et des autres animaux en état d'anaphylaxie subit-il d'habitude des variations semblables à celles constatées chez les cobayes traités par la protoalbumose et dans certaines conditions chez les lapins traités par l'hétéroalbumose, c'est à dire disparaît-il à certains moments?

Le pouvoir protéoclastique revient-il à la normale pendant le choc anaphylactique chez le cobaye et chez le lapin? Ce retour à la normale survient-il seulement lors du choc déchaîné par l'introduction intraveineuse de sérum ou bien aussi lors du choc provoqué soit par l'injection intrapéritonéale de sérum, soit par l'injection intraveineuse ou intrapéritonéale d'hétéroalbumose ou de protoalbumose?

Que se passe-t-il chez les animaux ayant survécu au choc anaphylactique? Le pouvoir protéoclastique reparait-il et s'accroît-il de nouveau au bout d'un certain laps de temps? Quel effet exerce sur le pouvoir protéoclastique du sang d'un animal en état d'anaphylaxie ou d'ananaphylaxie une nouvelle injection intraveineuse des protéoses sensibilisatrices?

Tant qu'on ne disposera pas de données suffisantes relativement à ces divers points, on ne pourra guère donner une interprétation rationnelle des modifications du pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie. Certains rapprochements s'imposent néanmoins dès à présent entre les résultats de mes recherches et des données obtenues par d'autres méthodes expérimentales.

Le pouvoir protéoclastique du sang apparaît chez le cobaye et parfois aussi chez le lapin au stade préanaphylactique. Ceci est entièrement d'accord avec les observations faites au moyen de la méthode optique par Abderhalden et ses collaborateurs.

D'après Heilner¹⁾, lorsqu'on introduit sous la peau chez le lapin de grandes quantités de protéines étrangères à l'organisme, leur combustion s'accomplit en 3 jours grâce à l'apparition dans l'économie d'un ferment spécifique ad hoc. Un tel ferment protecteur ou immunisant, selon l'heureuse expression de Heilner adoptée par Abderhalden²⁾, apparaît dans l'organisme peu de temps après la première injection de petites quantités de protéines hétérologues. Ce ferment protecteur manifeste une grande activité pendant le stade préanaphylactique. Si l'on injecte à ce moment pour la seconde fois les mêmes protéines, elles sont très vite brûlées. Mais si l'on ne procède à la réinjection qu'au stade anaphylactique proprement dit, c'est à dire au moment où les phénomènes du choc anaphylactique sont déchaînés par cette réinjection, on constate une forte diminution dans la destruction des protéines étrangères introduites dans l'organisme. Heilner pense que le même ferment protéolytique forme les mêmes produits de scindage des protéines au stade préanaphylactique et pendant l'état d'anaphylaxie, mais que les modifications ultérieures de ces composés ne sont pas identiques pendant ces 2 périodes. Les phénomènes du choc anaphylactique seraient donc dûs selon Heilner non pas à la production de produits intermédiaires de désintégration nocifs pour l'organisme, mais bien plutôt à la persistance relativement longue de ces composés toxiques dans l'organisme lors de l'état d'anaphylaxie.

Les variations du pouvoir protéoclastique du sang observées chez les cobayes traités par la protoalbumose et chez les lapins traités par l'hétéroalbumose viennent à l'appui des constatations si intéressantes faites par Heilner chez le

1) E. Heilner, *Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 50, 1907, p. 26—37; *ibid.* Bd. 56, 1911, p. 75—86; *ibid.* Bd. 58, 1912, p. 333—354.

2) E. Abderhalden, *Schutzfermente des tierischen Organismus*, Berlin 1912.

lapin. De Waele³⁾ signale des variations oscillantes analogues dans le temps de coagulation chez le chien et chez le lapin à la suite de l'injection d'extraits d'organes, de venin de cobra et de toxine diphthérique, additionnés ou non d'alexine. Selon De Waele, ces oscillations dans la réaction de l'organisme à une introduction parentérale de protéines étrangères exprimeraient la prédominance alternative de l'effet thromboplastique et de la sécrétion d'antithrombine. S'il en est bien ainsi, les variations du pouvoir protéoclastique du sang au cours de la période préanaphylactique proviendraient de la coexistence de deux actions antagonistes, celle des agents protéoclastiques et celle d'agents inhibiteurs de ceux ci.

Mes expériences tendent à faire croire que le pouvoir protéoclastique se manifeste peu à peu sous l'influence de l'injection sensibilisatrice pour atteindre son degré le plus élevé à l'époque où l'organisme est parvenu à l'état d'anaphylaxie et où l'on peut déchaîner le choc anaphylactique. Si la réinjection des protéines ou des protéoses sensibilisatrices provoque alors des effets nocifs, cela provient du rapide envahissement de l'organisme par des produits toxiques, formés en grande quantité au cours de la désintégration soit de ces protéines ou protéoses, soit d'éléments protéiques renfermés dans le sang de l'animal en état d'anaphylaxie. Rien ne nous permet, en effet, de conclure avec certitude au scindage de l'antigène, quelque tenté qu'on en soit à première vue. Le clivage des éléments protéiques propres à l'organisme sensibilisé permettrait même de mieux concevoir comment, malgré l'extrême diversité des antigènes, les symptômes du choc anaphylactique restent pour ainsi dire identiques dans la même espèce animale. Quelle que soit, du reste, leur origine, ces composés dangereux pour l'économie se forment sans doute déjà lors d'une réinjection effectuée au stade préanaphylactique quelques jours après l'injection préparante, mais ou bien leur quantité est moindre à ce moment que lorsque l'état d'anaphylaxie est réalisé, ou bien les agents inhibiteurs de la désintégration des protéines exercent alors des effets plus considérables qu'à une époque plus éloignée de l'injection sensibilisatrice. Dans ces conditions, l'organisme parvient à

1) H. De Waele, diese Zeitschr., Bd. 14, 1912, p. 200—220.

désintoxiquer, par des processus de scindage ou de synthèse, ces composés nocifs suffisamment vite pour qu'ils n'aient pas le temps d'exercer leurs funestes effets dans l'économie. Au contraire, pendant l'état d'anaphylaxie, l'accroissement d'intensité du pouvoir protéoclastique du sang amène l'envahissement de l'organisme par une telle masse de produits toxiques de la désintégration soit des protéines ou des protéoses sensibilisatrices, soit d'éléments protéiques propres à l'organisme même de l'animal réinjecté, que les processus désintoxiquants de scindage ou de synthèse ne réussissent plus à protéger l'organisme contre l'action néfaste de ces composés nocifs que dans de faibles limites.

Pendant le choc anaphylactique, le pouvoir protéoclastique du sang subit une diminution marquée ou disparaît même entièrement. Ceci est d'accord avec des observations de H. Pfeiffer, d'après lesquelles les propriétés enzymatiques du plasma disparaîtraient pendant quelque temps lors du stade d'antianaphylaxie consécutif au choc anaphylactique pour réparaître ensuite. Cette disparition du pouvoir protéoclastique du sang pendant le choc anaphylactique me paraît présenter une grande importance. Est-elle due à l'utilisation des agents protéoclastiques par l'antigène sensibilisateur réinjecté, soit par la formation d'un complexe colloïdal entre l'antigène et une partie des protéines du plasma sanguin ¹⁾ ou d'autres éléments de celui-ci, soit par l'action sur l'antigène d'un complexe acides aminés-alexine ayant pris naissance à la suite de l'injection préparante ²⁾, soit par tout autre processus non encore élucidé? Traduit-elle plutôt une disparition ou une diminution réelle de la teneur du sang en agents protéoclastiques due à une inhibition de l'activité de certaines cellules, provoquée par l'ébranlement considérable de tout l'organisme lors du choc anaphylactique. S'agit-il au contraire de la prédominance dans le tonent circulatoire à ce moment des agents inhibiteurs de la désintégration des protéines. Il serait prématuré de se prononcer à ce sujet, alors que nous ignorons si

1) P. Nolf, Arch. int. de Physiol., T. 10, 1910, p. 37—77; Bull. de la Cl. des Sc. de l'Acad. roy. de Belgique, 1910, p. 669—688.

2) H. De Waele, diese Zeitschr., Bd. 12, 1912, p. 605—666; *ibid.*, Bd. 15, 1912, p. 193—200.

la réapparition éventuelle du pouvoir protéoclastique du sang après le choc anaphylactique est brusque ou graduelle et dans quel délai elle survient.

Les travaux de Pfeiffer, de Schittenhelm, de Weichardt¹⁾ et de leurs collaborateurs apportent de puissants arguments en faveur de la réapparition du pouvoir protéoclastique du sang quelque temps après la cessation des effets du choc anaphylactique et de la désintoxication de plus en plus parfaite et rapide des produits de désintégration nocifs pour l'organisme par des processus appropriés de synthèse ou de clivage. Il ne faut cependant pas perdre de vue la caractère hypothétique des considérations précédentes, surtout pour ce qui concerne le stade d'antianaphylaxie ou d'anaphylaxie. Des expériences actuellement en cours au moyen de la méthode optique d'Abderhalden et du procédé gasométrique de van Slyke fourniront peut être des éléments nouveaux au sujet des modifications du pouvoir protéoclastique du sang au cours de la période préanaphylactique, de l'état d'anaphylaxie, du choc anaphylactique et de l'état d'antianaphylaxie ou d'anaphylaxie²⁾.

Ainsi qu'Abderhalden le fait remarquer à juste titre, il ne faut pas attacher pour le moment une trop grande importance à l'apparition dans le sang d'un ferment protéoclastique à rôle immunisant ou protecteur à la suite d'une première injection de protéines ou de protéoses sensibilisatrices et aux variations du pouvoir protéoclastique nouvellement acquis ou considérablement accru. Le tableau III montre, en effet, que la teneur maxima en azote aminé aliphatique des

1) H. Pfeiffer und S. Mita, diese Zeitschr., Bd. 6, 1910, p. 18—87. — A. Schittenhelm und W. Weichardt, Münch. med. Wochenschrift, Bd. 57, 1910, p. 1769—1771; *ibid.*, Bd. 58, 1911, p. 841—844; *ibid.*, Bd. 59, 1912, p. 67—69, 1089—1092; diese Zeitschr., Bd. 14, 1912, p. 609—636; Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap., Bd. 11, 1912, p. 69—101. — A. Schittenhelm, W. Weichardt und W. Grisshammer, *ibid.*, Bd. 10, 1912, p. 412—447. — A. Schittenhelm, W. Weichardt und F. Hartmann, *ibid.*, Bd. 10, 1912, p. 448—478. — A. Schittenhelm und H. Ströbel, *ibid.*, Bd. 11, 1912, p. 102—117. — A. Schittenhelm, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 38, 1912, p. 489—493.

2) Dès à présent, elles permettent de conclure à la réapparition du pouvoir protéoclastique du sang chez les chiens qui survivent au choc anaphylactique.

mélanges de sérum ou de sang défibriné et de liquide de Ringer, de sérum de bœuf, de protoalbumose ou d'hétéroalbumose n'atteint pas 2 % de l'azote total dans les expériences effectuées chez le cobaye et ne dépasse pas 6 à 7 % de l'azote total dans les recherches faites chez le chien et le lapin. L'accroissement de la teneur en azote aminé aliphatique sous l'influence d'une injection préparante de protéines ou de protéoses sensibilisatrices correspond au maximum à un peu plus de 1 % de l'azote total chez le cobaye, à près de 3 % chez le lapin et à un peu plus de 4 % chez le chien.

Tableau III.

Mélange examiné	Teneur maxima en azote aminé aliphatique, en pour-cent de l'azote total	Accroissement maximum de la teneur en azote aminé aliphatique, en pour-cent de l'azote total
Sérum de cobaye + protoalbumose	1.20	0.38
Sang défibriné de cobaye + liquide de Ringer	1.40	0.93
Sang défibriné de cobaye + protoalbumose	1.80	1.25
Sérum de lapin + liquide de Ringer	5.15	2.69
Sérum de lapin + hétéroalbumose	6.88	2.26
Sérum de lapin + protoalbumose	6.18	2.96
Sérum de chien + liquide de Ringer	1.55	1.21
Sérum de chien + sérum de bœuf	1.97	1.61
Sang défibriné de chien + liquide de Ringer	5.46	4.24
Sang défibriné de chien + sérum de bœuf	5.05	4.15

Peut être serait on parvenu à déceler un pouvoir protéoclastique plus considérable en opérant avec du plasma au lieu de sérum ou de sang défibriné, en faisant varier les proportions respectives des deux constituants de chaque mélange envisagé et en maintenant ces mélanges à 38° pendant des laps de temps plus ou moins considérables que ceux choisis dans les présentes recherches d'après les données d'expériences antérieures effectuées chez des animaux normaux. Il y a lieu de tenir compte de ces divers facteurs dans les nouvelles recherches entreprises au sujet des modifications du pouvoir protéoclastique du sang au cours de l'anaphylaxie.

Quoi qu'il en soit, les modifications du pouvoir protéoclastique du sang ne suffisent certes pas à expliquer tous les phénomènes de l'anaphylaxie. On ne peut que se rallier aux justes réserves émises à ce propos par Abderhalden¹⁾. Les modifications du pouvoir protéoclastique du sang reflètent

1) E. Abderhalden, Die Schutzfermente, p. 56 et suiv.

peut être seulement de façon plus ou moins atténuée l'antagonisme, déjà signalé plus haut, entre les agents protéoclastiques et les agents inhibiteurs de cette activité enzymatique spéciale de l'organisme.

Les agents protéoclastiques ne sont peut être nullement spécifiques, comme on tend d'habitude à le croire. Ils préexistent peut être dans le sang circulant, comme les principes actifs qui entrent en jeu lors de la coagulation. A l'état normal, l'action des uns et des autres est entravée par des agents antagonistes. L'injection de protéines ou de protéoses étrangères provoque dans l'organisme des troubles profonds qui retentissent sans doute sur la production et la répartition dans l'économie des agents désintégrants et de leurs antagonistes. Les variations du pouvoir protéoclastique du sang pendant le stade préanaphylactique traduisent ces modifications du chimisme intime de l'organisme.

Nolf a attiré l'attention sur la part prépondérante prise par le foie, „organe producteur de la très grosse masse des albuminoïdes du sang et régulateur de la constitution protéique du milieu interne“¹⁾, dans la genèse de l'état d'anaphylaxie et du choc anaphylactique. D'après Nolf²⁾, l'organisme du lapin réagit moins vite et de façon moins intense que celui du chien dans ce qui a trait aux transformations de la coagulation du sang. Selon De Waele, le lapin sécrète l'antithrombine plus lentement et surtout moins abondamment que le chien. Les différences, nullement essentielles d'ailleurs, observées dans mes expériences entre le lapin et le chien pour ce qui concerne les modifications du pouvoir protéoclastique du sang pendant l'état d'anaphylaxie et après la réinjection des protéines ou protéoses sensibilisatrices, proviennent peut être du degré d'intensité et de rapidité de l'intervention spéciale du foie dans ces 2 espèces animales.

On a attribué de divers côtés un rôle important dans l'état d'anaphylaxie et le choc anaphylactique à l'alexine envisagée soit comme un ferment protéoclastique, soit comme un dissolvant³⁾. On a aussi

1) P. Nolf, Arch. di Fisiol., Vol. 7, 1909, p. 16.

2) P. Nolf, Arch. int. de Physiol., T. 3, 1905, p. 218—228.

3) L. Burkhardt, diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, p. 87—106. — H. De Waele, loc. cit. — E. Friedberger, *ibid.*, Bd. 2, 1909, p. 208—214; *ibid.*, Bd. 3, 1909, p. 133—143; *ibid.*, Bd. 8, 1911, p. 239—294; Berl. klin. Wochenschr., Bd. 48, 1910, p. 1490—1492, 1922—1927, 2303—2307; Münch. med. Wochenschr., Bd. 57, 1910, p. 2628—2633, 2699—2701. — E. Friedberger und G. Castelli, diese Zeitschr., Bd. 6, 1910, p. 279—283. — E. Friedberger und Goldschmidt, *ibid.*, Bd. 6, 1910, p. 299—304. — E. Friedberger und O. Hartoch, *ibid.*, Bd. 2, 1909, p. 208—214. —

fait intervenir dans ces phénomènes des transformations des conditions de coagulation du sang dues soit à des modifications des protéines du plasma¹⁾ soit à des coagulations sur l'endothélium vasculaire sous l'influence de l'antigène réinjecté agissant comme substance thromboplastique²⁾.

Selon Bauer³⁾, Doerr⁴⁾, Heilner⁵⁾, Ritz et Sachs⁶⁾, Traube⁷⁾, Turro⁸⁾, des troubles de l'équilibre osmotique et physico-chimique de l'organisme se produisent au cours de l'anaphylaxie et contribuent au tableau symptomatique du choc anaphylactique lors de la réinjection de l'antigène sensibilisateur. Des phénomènes d'adsorption, des modifications de la tension superficielle paraissent se produire dans ces conditions. Il est inutile de s'étendre davantage sur les diverses conceptions émises à propos de l'anaphylaxie. Peut être plusieurs d'entre elles renferment elles une part de vérité.

En tout cas, on doit admettre avec Nolf l'absence d'antagonisme entre l'anaphylaxie et l'immunité⁹⁾. L'état d'ana-

E. Friedberger und E. Jerusalem, *ibid.*, Bd. 7, 1910, p. 748—761. — E. Friedberger und C. Vallardi, *ibid.*, Bd. 7, 1910, p. 94—151. — U. Friedemann, *ibid.*, Bd. 2, 1909, p. 591—643; *ibid.*, Bd. 3, 1909, p. 726—730; *Berl. klin. Wochenschr.*, Bd. 47, 1910, p. 2198—2200; *Fol. serol.*, Bd. 7, 1911, p. 365—366. — F. C. Löffler, *diese Zeitschr.*, Bd. 8, 1910, p. 129—144. — J. G. Sleeswijk, *ibid.*, Bd. 2, 1909, p. 133—158; *ibid.*, Bd. 7, 1910, p. 661—664. — A. Wassermann und C. Bruck, *Deutsche med. Wochenschr.*, Bd. 32, 1906, p. 449—454.

1) R. Doerr und J. Moldovan, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 41, 1912, p. 27—50.

2) P. Nolf, *Arch. int. de Physiol.*, Bd. 3, 1905, p. 1—43; *ibid.*, Bd. 6, 1908, p. 1—72; *ibid.*; Bd. 9, 1910, p. 204—261, 407—549; *Bull. de la Cl. des Sc. de l'Acad. de Belgique*, 1911, p. 71—83.

3) J. Bauer, *Berl. klin. Wochenschr.*, Bd. 49, 1912, p. 344—345. — J. Bauer und K. Wüsthoff, *Deutsche med. Wochenschr.*, Bd. 38, 1912, p. 894—895.

4) R. Doerr und R. Pick, *Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig.*, Bd. 62, 1912, p. 146—159. — R. Doerr und V. K. Russ, *ibid.*, Bd. 63, 1912, p. 243—257.

5) E. Heilner, *Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 50, 1908, p. 476—487.

6) H. Ritz und H. Sachs, *Berl. klin. Wochenschr.*, Bd. 58, 1911, p. 987; *Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref.*, Bd. 51, 1911, Supplementheft, p. 43—49.

7) I. Traube, *diese Zeitschr.*, Bd. 9, 1911, p. 246—274; *Münch. med. Wochenschr.*, Bd. 59, 1912, p. 1020—1027.

8) R. Turro und P. Gonzalez, *diese Zeitschr.*, Bd. 9, 1911, p. 556—561.

9) P. Nolf, *Bull. de la Cl. des Sc. de l'Acad. de Belgique*, 1910, p. 669—688.

phylaxie et le stade d'antianaphylaxie ou d'anaphylaxie représentent tous deux des stades différents de la défense de l'organisme contre l'introduction parentérale de protéines étrangères.

Dans le tube digestif, les protéines subissent une dislocation progressive assez profonde. La résorption azotée porte probablement surtout sur des fragments assez simples de la molécule albuminoïde et, par conséquent, déjà fort éloignés de celle ci¹). Cette décomposition des albumines alimentaires en fragments assez simples me paraît indispensable pour permettre aux processus de synthèse consécutifs d'assurer le maintien de l'intégrité de la constitution chimique des protéines spéciales à chaque organisme²).

Les différences qui existent entre les diverses matières protéiques s'atténuent au fur et à mesure des progrès de leur désintégration. Les mêmes acides aminés constituent, en effet, la charpente commune des diverses protéines. Celles ci diffèrent les unes des autres surtout par leur teneur en chacun de ces acides aminés et par la façon dont ceux ci se combinent entre eux. Les premiers termes de la dislocation des protéines varient, par conséquent, davantage d'une protéine à l'autre que les suivants. Les derniers produits de clivage

1) E. Abderhalden und Fr. Samuely, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, Bd. 46, 1906, p. 193—200. — E. Abderhalden, C. Funk und E. S. London, *ibid.*, Bd. 51, 1907, p. 269—273. — E. Abderhalden, K. Kautzsch und E. S. London, *ibid.*, Bd. 48, 1906, p. 549—556. — E. Abderhalden, L. Baumann und E. S. London, *ibid.*, Bd. 51, 1907, p. 384—390. — E. Abderhalden, K. von Körösy und E. S. London, *ibid.*, Bd. 53, 1907, p. 148—163. — E. Abderhalden, E. S. London und B. Oppler, *ibid.*, Bd. 55, 1908, p. 447—454. — E. Abderhalden, E. S. London und E. B. Reemlin, *ibid.*, Bd. 58, 1909, p. 432—434. — E. Abderhalden, F. Medigreceanu und E. S. London, *ibid.*, Bd. 58, 1909, p. 435—437. — E. Abderhalden, A. Gigon und E. S. London, *ibid.*, Bd. 53, 1907, p. 113—118. — E. Abderhalden, O. Prym und E. S. London, *ibid.*, Bd. 53, 1907, p. 326—333. — E. Abderhalden, E. S. London und C. Voegtlin, *ibid.*, Bd. 53, p. 334—339. — E. Abderhalden, W. Klingemann und Th. Pappenhuse, *ibid.*, Bd. 61, 1911, p. 411—420. — O. Prym, C. Oppenheimers *Handb. d. Biochemie*, Bd. 3, 2. Hälfte, 1909, p. 95—123. — E. H. Starling, *ibid.*, Bd. 3, 2. Hälfte, 1909, p. 206—242.

2) E. Zunz, *Rev. de l'Univ. de Bruxelles*, T. 8, 1903, p. 755—770; *Mém. de l'Acad. roy. de Méd. de Belgique*, T. 20, 1908, fasc. 1.

(polypeptides à structure moléculaire assez simple, acides aminés) sont nécessairement les mêmes pour toutes les protéines. Si les protéoses «primaires» ne sont pas ou guère toxiques, cela tient peut être à leur nature colloïdale, à leur grandeur moléculaire assez considérable, à la présence de certains acides aminés ou de certaines chaînes d'acides aminés dans leurs molécules. Les protéoses, les peptones et les polypeptides qui en dérivent directement, ne possèdent plus ces caractères à un degré suffisant pour atténuer ou entraver la nocivité due aux différences de composition qu'ils présentent par rapport aux composés analogues rencontrés dans l'organisme. Dès lors, on conçoit aisément la faible nocivité ou même l'innocuité absolue des termes ultimes du scindage des protéines, la toxicité relativement élevée des produits intermédiaires, dérivés des premiers composés issus de la désintégration des substances albuminoïdes.

Z u s a m m e n f a s s u n g .

1) Nach einer intravenösen Ochsen-serumeinspritzung besitzt das Blut des im Anaphylaxiezustande befindlichen Hundes ein relativ erheblich vermehrtes proteoklastisches Vermögen für die Proteine des Ochsen-serums. Diese Zunahme des proteoklastischen Vermögens des Blutes verschwindet während des anaphylaktischen Shocks.

2) Mit Ausnahme der intraperitonealen Ochsen-serumeinspritzungen beim Meerschweinchen bewirken die sensibilisierenden Einspritzungen eine mehr oder minder ausgeprägte Zunahme des proteoklastischen Vermögens des Blutes für die sensibilisierenden Proteine oder Proteosen.

3) Diese Zunahme des proteoklastischen Vermögens erscheint, je nach den Fällen, entweder erst während des Anaphylaxiezustandes oder während des präanaphylaktischen Stadiums. Sie verschwindet aber in letzterem Falle manchmal zeitweise während des Anaphylaxiezustandes.

4) Die Veränderungen des proteoklastischen Vermögens des Blutes genügen keineswegs zur völligen Erklärung der Anaphylaxieerscheinungen. Ueber ihre eigentliche Deutung läßt sich zurzeit noch nichts Sicheres behaupten.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität
Straßburg (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

**Untersuchungen mit Eigelbantisera, zugleich ein Beitrag
zu den Beziehungen der verschiedenen Eigelbarten
zueinander.**

Von Dr. **Emil Emmerich.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Januar 1913.)

Die große Bedeutung der Uhlenhuthschen Präzipitationsmethode für Blut- und Fleischuntersuchungen ist heute überall anerkannt und oft gewürdigt worden; doch ist es merkwürdig, daß sie sich nicht auch bei den Untersuchungen von Eierpräparaten, worauf Uhlenhuth schon 1900¹⁾ in richtiger Erkenntnis ihres Wertes namentlich für den Nahrungsmittelchemiker hinwies, mehr eingebürgert hat. In seiner ersten Arbeit aus diesem Gebiet befaßt sich Uhlenhuth mit dem spezifischen Nachweis von Eiereiweiß und kommt zu dem Schluß, daß es gelingt, Hühnereiweiß durch die Präzipitation nachzuweisen, daß aber die Reaktion für Hühnereiweiß nicht absolut spezifisch ist, da auch das Eiweiß verwandter Vogelarten eine, wenn auch abgeschwächte, positive Reaktion gibt. Uhlenhuth war jedenfalls imstande, mit Hilfe des spezifischen Eierklar-Antiserum, das Eiereiweiß vom Serumeiweiß der verschiedensten Tiere zu unterscheiden, andererseits auch wieder im Handel befindliche Eiereiweißpräparate als solche biologisch festzustellen und in anderen das Fehlen von Eiereiweiß nachzuweisen. Diese Tatsache beanspruchte für die Nahrungsmittelchemie ein großes praktisches Interesse, zumal da Uhlenhuth auch feststellen konnte, daß die Reaktion außerordentlich fein und empfindlich ist, so daß der spezifische Nachweis von Eiweiß noch möglich war bei Verdünnung von 1:100 000, während die gebräuchlichen chemischen Eiweißreaktionen schon bei Verdünnungen über 1:1000 versagten. Nach weiteren

1) Deutsche med. Wochenschr., 1900, No. 46.

Untersuchungen wurde dann von Uhlenhuth und Ottolenghi festgestellt, daß es mit Hilfe der Präzipitation auch einwandfrei gelingt, Eidotter auch unter den verschiedensten Verhältnissen der Praxis (Margarine, Nudeln etc.) nachzuweisen.

Bei Durchsicht der Literatur fand ich, abgesehen von den eben zitierten Arbeiten, nur eine Mitteilung von Schütze¹⁾, der auch bei Untersuchungen verschiedener Eigelbmargarinesorten auf Eigelb mittels der Präzipitationsmethode positive Resultate bekam und der ebenso bei Prüfung von Eiernudeln auf ihren Eigelbgehalt unter 12 Sorten 10 positiv fand; außerdem eine Arbeit aus der allerletzten Zeit von Galli-Valerio und Bornand²⁾, die eine Prüfung der Brauchbarkeit der „Ovosera“ zum Zweck hat. Selbst in dem ausgezeichneten Buche von Nuttall vermisste ich ein Eingehen auf die Verwendbarkeit der Eier- und namentlich der Eigelbantiseren. Ich habe deswegen auf Veranlassung des Herrn Geheimrat Uhlenhuth einige Versuche mit Eigelbantiseren gemacht, über deren Ergebnisse ich kurz berichten möchte.

Das präzipitierende Serum stellte ich mir in der Weise her, daß ich einem Kaninchen dreimal in Zwischenräumen von je 3 Tagen je 2 ccm einer Hühnereigelbaufschwemmung in einer Verdünnung von 1:50 in physiologischer Kochsalzlösung intravenös injizierte. Auch bediente ich mich mit Vorteil der von Uhlenhuth angegebenen Methode, um Eigelb rein zu gewinnen: Man gießt das Ei vorsichtig in flüssig gemachte Gelatine, läßt sie erstarren und schneidet dann die Kuppe der hartgewordenen Gelatinemasse ab, bis man auf die Kuppe des Eigelbes kommt, das man dann mittels Pipette bequem aufsaugen kann.

3 Tage nach der letzten Injektion wurde aus der Ohrvene eine Probelutentnahme gemacht. Die Titration des Serums ergab in einer Eigelbverdünnung von 1:100 000 nach 5 Minuten eine Präzipitation. Erwähnt sei, daß es sich nach meinen Erfahrungen empfiehlt, zur Gewinnung hochpräzipitierender Sera junge Tiere zu nehmen, da diese meistens ein höherwertiges Serum liefern als ältere Tiere.

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, 1904.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1912.

Das durch Entbluten des Tieres in die Brusthöhle gewonnene Serum wurde vor der Benutzung im Uhlenhuthschen Apparat filtriert.

Ein Vorversuch mit Hühnereiweißaufschwemmung ergab vollständig negative Resultate. Neben dem selbsthergestellten Antiserum benutzte ich bei den folgenden Versuchen ein von den Sächsischen Serumwerken bezogenes hochwertiges Eigelbantiserum (Titer 1 : 20 000).

Ich prüfte zunächst zahlreiche käufliche Teigwaren, so Nudeln, Spätzle, Maccaroni, ABC. Als Kontrolle und gleichzeitig zur quantitativen Schätzung des enthaltenen Eigelbes dienten mir selbsthergestellte Nudeln.

Die verschiedenen Präparate wurden fein zerkleinert, mit der dreifachen Menge 0,85-proz. Kochsalzlösung versetzt und dann zur Extraktion über Nacht in den Eisschrank gebracht. Am nächsten Tage wurden dann die Extrakte durch gehärtete Filter filtriert und in den verschiedenen Verdünnungen der Versuch angesetzt; dabei zeigten die selbsthergestellten Nudeln noch in der Verdünnung 1 : 60 nach 2 Minuten starke Präzipitation, während die anderen Nahrungsmittel nur in einer Verdünnung 1 : 15 nach 2 Minuten schwache Präzipitation gaben. Bei Maccaroni fiel einmal auch im unverdünnten Extrakt die Reaktion vollständig negativ aus, ein anderes Mal trat nur ganz schwache Präzipitation auf.

Protokoll des Versuches vom 8. XI. 1912.

I. Selbsthergestellte Nudeln (Extrakt).

Salpetersäure, Kochprobe:	Präzipitation:
1 : 60 positiv	1 : 60 nach 2 Min. positiv
1 : 120 negativ	1 : 120 negativ

II. Gekaufte Nudeln (Extrakt).

1 : 6 positiv	positiv
1 : 15 schwach positiv	schwach positiv nach 2 Min.

III. Spätzle.

1 : 15 positiv	positiv nach 2 Min.
1 : 30 negativ	negativ

IV. ABC.

1 : 10 positiv	negativ
	1 : 5 positiv nach 2 Min.

V. Maccaroni.

1 : 5 schwach positiv	negativ
-----------------------	---------

Kontrollen mit Normkaninchenserum und Kochsalzkontrolle waren negativ.

Die Untersuchungen wurden nun auf eine große Reihe von Nahrungsmitteln ausgedehnt, die zum Teil als Eiereigelbpräparate in den Handel kommen. Die stark alkoholhaltigen, angeblich Eigelb enthaltenden Eisenweine wurden vor Anstellung der Reaktion im Vakuum alkoholfrei gemacht. Die Extrakte wurden in der Verdünnung angewandt, daß die Salpetersäure-Kochprobe eine deutliche Trübung zeigte. Alle untersuchten Präparate zeigten mit Ausnahme von Ovomaltin vollständig negativen Befund. Das berechtigt natürlich nicht zu dem Schluß, daß die Präparate kein Eigelb enthielten, sondern es wäre möglich, daß entweder nur die Extraktivstoffe des Eigelbs (Lecithin, Vitellin) darin enthalten waren, oder daß die Vorbehandlung der Präparate das bei der Herstellung verwandte Eigelb nach irgendeiner Seite hin verändert hatte, Es wäre denkbar, daß man durch anaphylaktische Versuche präzisere Resultate nach dieser Richtung hin bekäme. In dem untersuchten Eierkognak, der ebenfalls vorher im Vakuum alkoholfrei gemacht war, gab der Extrakt noch in der Verdünnung 1:200 mit Eigelbantiserum nach 5 Minuten starke Ringbildung.

Uhlenhuth hat seinerzeit schon, wie oben erwähnt, darauf hingewiesen, daß es auf dem Wege der Präzipitation nicht gelingt, Hühnereiereigelb von dem der Ente und Gans zu trennen. Auch Galli-Valerio und Bornand bekamen bei ihren Versuchen mit „Vogeleiern“ (!) immer eine deutliche, wenn auch schwache Präzipitation. Mich interessierte nun, ob vielleicht auch die Eier anderer Tierarten mit Hühnereiereigelbantiserum präzipitierten; zunächst wurden verschiedene Fischeier untersucht.

Kaviarextrakt in der Verdünnung 1:1000 (d. h. es wurde ein Extrakt aus 10 g Kaviar und 90 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, der über Nacht im Eisschrank stand und hiervon wurde nochmals eine Verdünnung 1:100 zum Versuch verwendet) gab mit beiden Eigelbantisera eine starke Präzipitation, während die Kontrollen mit Normalkaninchen-serum absolut negativ waren. Daraufhin wurden mehrere Kaviarsorten untersucht und alle bis auf eine gaben noch in der Verdünnung 1:200 eine starke Präzipitation. Der Ge-

danke, daß bei Herstellung des Kaviars vielleicht ein Eigelbzusatz verwendet wurde, ließ sich dadurch widerlegen, daß auch Eier von Karpfen und Rotaugen mit Hühnereigelbantiserum eine deutliche Präzipitation gaben, während Lachs- sowie Schleien- und Brasseneier eine vollständig negative Reaktion zeigten.

Protokolle der Versuche vom 20. und 23. XI. 1912.

Sämtliche Fischeierextrakte wurden in der Verdünnung 1:1000 verwandt (siehe oben).

Salpetersäure-Kochprobe bei allen gleich stark positiv.

	Präzipitation:
Kaviar I	stark positiv
Lachs	negativ
Karpfen	positiv
Schleien	negativ
Brassen	negativ
Rotauge	positiv
Kaviar II (Verdünnung 1:200)	fraglich
„ III („ 1:200)	sehr stark positiv
„ IV („ 1:200)	stark positiv

Kontrollen mit Normalkaninchenserum negativ.

Da Herr Dr. Kodama in unserem Institut zu dieser Zeit gerade zum Nachweis von Kaviarverfälschungen ein Kaviarantiserum herstellte, so prüfte er dieses Serum gegen Hühnereigelb, doch waren seine Befunde durchweg negativ. Diese auffallenden Ergebnisse bedürfen noch der weiteren Aufklärung.

Ein interessanter Befund ließ sich noch bei der Prüfung von Schildkröteneigelb (*Testudo graeca*) erheben, indem dieses noch in einer Verdünnung von 1:1000 mit Hühnereigelbantiserum deutliche Präzipitation gab, während eine Aufschwemmung vom Eierstock der Schildkröte zu absolut negativen Resultaten führte. Daraus geht wohl unschwer hervor, daß sich wesentliche Unterschiede in der Zusammensetzung des unreifen und reifen Eies finden; diese interessanten Ergebnisse sollen, sobald das Material leichter zu beschaffen ist, noch genauer nachgeprüft werden, ebenso die Beziehungen der verschiedenen Eigelbsorten zueinander.

Zusammenfassung.

Durch ein hochwertiges Eigelbantiserum gelingt es, in käuflichen Teigwaren das Eigelb nachzuweisen.

Bei den untersuchten Nährpräparaten kann der Nachweis des vorhandenen Eigelbs durch die Präzipitation nur ausnahmsweise geführt werden.

Mehrere Fischeiersorten, so Kaviar, Karpfen und Rotaugen, geben mit Hühnereigelbantiserum positive Präzipitation, ebenso Schildkröteneigelb, während das Eigelb des Eierstockes der Schildkröte vollständig negative Resultate lieferte.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut Pasteur, Paris; Direktor Prof. Dr. E. Metschnikoff (Leiter: Prof. Dr. A. Besredka).]

Ein experimenteller Beitrag zur „Anaphylatoxin“-Frage.

Von **N. Sukiennikowa.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Januar 1913.)

Die zahlreichen Ergebnisse und Beobachtungen, welche man beim Studium der Infektionskrankheiten sammelte, haben als Material für die Immunitätslehre gedient. Die Gesetzmäßigkeiten, welche sie beherrschen, werden allgemein anerkannt und es stützen sich darauf in gleicher Weise Anhänger von beiden Hauptschulen der Immunitätslehre — der humoralen und der phagocytären.

Sorgfältige Untersuchungen über den Anaphylaxiemechanismus haben es erlaubt, die Anaphylaxie unter die Immunitätserscheinungen zu bringen. Man darf trotzdem wohl kaum das Anaphylaxiekapitel als ein abgeschlossenes auffassen, denn jeder kommende Laboratoriumstag kann neues Licht auf die unklaren Seiten dieser Frage werfen und in sie neue Gesichtspunkte tragen.

Noch weniger genau sind unsere Kenntnisse zurzeit über die Natur und die Eigenschaften jenes künstlich zusammengestellten Giftes, das im Anaphylaxiesinne spezifisch sein soll und über welches, wie bekannt, von Friedberger (1) be-

richtet worden ist. Mit dem Erscheinen dieser Mitteilung hat die Anaphylaxielehre eine neue Entwicklungsphase betreten. Das ohnedies an mannigfaltigsten Experimenten reiche Material erweiterte sich durch neue Versuchsreihen und die spezielle Literatur wuchs bedeutend.

Es gestattet leider weder der Umfang noch das unmittelbare Ziel dieses Beitrages, bei allen interessanten Betrachtungen, Theorien, Thesen und Antithesen, welche auf Veranlassung verschiedenster Anaphylatoxine gemacht wurden, längere Zeit zu verweilen. Einiges muß dennoch berücksichtigt werden. Da es sich aber um Wiederholen schon ausgesprochener Gedanken und um Paraphrasieren fremder Worte handelt, so verweise ich auf die Originalquelle. Ich meine denjenigen Artikel von Doerr und Russ (2), in welchem die Autoren im Vorübergehen auch einige Beispiele und Meinungen pro et contra Anaphylatoxin erwähnen und besprechen. Sie vertiefen sich nicht in alle diese Fragen, indem sie sich auf das Studium der einen beschränken: der Bedeutung des Komplementes für die Anaphylatoxinherstellung. Aber sie halten es für angebracht, jene Forderungen vorzuführen, welche an das Anaphylatoxin gestellt werden müssen, weil es ein spezifisches, *in vitro* hergestelltes Gift ist. Es ist klar, daß die Reihe derartiger Forderungen sich in demselben Maße vergrößert und wechselt, wie sich die Versuche ändern und der Wunsch wächst, die Natur des verwickelten Prozesses aufzuklären.

Indem wir die feinere chemische Struktur des Giftes beiseite lassen und es nur vom rein biologischen Gesichtspunkte studieren, dürfen wir von ihm mit vollem Rechte erwarten, daß das Anaphylatoxin sich demjenigen Tatsachenkomplex fügt, dem auch die typische klassische Anaphylaxie unterworfen ist. Dieser leitende Gedanke hat die Anstellung jener weiter zu beschreibenden Versuche gefordert, deren Plan und Ausführung mir auf lebenswürdige Weise von Herrn Prof. Besredka überlassen wurde.

Das zu untersuchende Anaphylatoxin sollte aus dem Hühnereiklar hergestellt werden. Ueber ein solches sind bis jetzt in der Literatur — soviel mir bekannt — keine Angaben

vorhanden gewesen. Die Art einer Anaphylatoxinherstellung nach Friedberger ist vom Verfasser in seiner vierten Anaphylaxiearbeit (1) veröffentlicht und in der IX. Mitteilung kurz rekapituliert.

Es sei an dieser Stelle die Angabe in ihren Hauptzügen wiederholt, Präzipitierendes Serum + Antigen gibt einen Niederschlag, welcher von der Flüssigkeit befreit und mit dem Komplement versetzt wird. Es entsteht das Anaphylatoxin I. Nachdem dasselbe abzentrifugiert wird, versetzt man den zurückgebliebenen Niederschlag abermals mit Komplement: Anaphylatoxin II. Die Einzelheiten sind im ersten der ebengenannten Artikel zu finden.

Als Antigen diente für meine Versuche Hühnereiklar, in steriler Weise entnommen und 10-fach mit Kochsalzlösung verdünnt. Für den in-vitro-Vorgang habe ich das Eiereiweiß durch einfache Trichter und Filter filtriert, die vorher sterilisiert waren. Für sämtliche Injektionen aber ist das Eiweißklar unfiltriert in derselben Verdünnung genommen worden.

Es geschah dies aus folgendem Grunde: 1) Es befinden sich, wie bekannt, im unfiltrierten Hühnerei-Eiweiß gröbere und dichtere Partikelchen. Sie können nun sehr leicht ein Präzipitat vortäuschen, wenigstens was seine Menge betrifft. Es diente also das Filtrierpapier gewissermaßen als ein mechanisches Sieb, was 2) von Bedeutung erschien, weil ja nicht alle Hühnereiklare im Eiweißgehalt äquivalent sind (Essbachsche Probe). Ja es hat auch dasselbe Ei in verschiedenen Stellen verschiedene Eiklarkonsistenz.

Daß das Filtrierpapier dabei wirklich die Rolle eines regulierenden Siebes spielte, geht aus folgendem Versuche hervor: Es sind zwei Verdünnungen 1:5 und 1:10 hergestellt worden, beide filtriert und darauf 1 ccm von jeder mit 1 ccm Antiserum versetzt worden. Die entstandene Präzipitatzmenge war in beiden Versuchsröhrchen die gleiche. Nun ist unfiltriertes Eiereiweiß 1:10 — je 0,5 — hinzugekommen. Es vermehrte sich der Niederschlag, aber es wurde die Menge in beiden Röhrchen verschieden. Dieselbe elektive Rolle eines solchen Siebes spielt bei Injektionen die dünne Spritzenadel, allerdings in einem noch größerem Maße als das Filtrierpapier.

Der Mitteilung von Doerr und Russ (2) zufolge über die komplementfreie Herstellung der Anaphylatoxine habe ich nicht nur das typische, nach Friedberger erhaltene Anaphylatoxin, d. h. Präzipitat I + Komplement untersucht, sondern auch jene Flüssigkeit für Versuche verwendet, die nach der ersten Reaktion, d. h. nach der ersten Ausfällung, zurückbleibt. Da ich aber kein spezielles Ziel über Aufklärung der Komplementrolle verfolgte, habe ich weder das Antiserum

noch die zu untersuchende Flüssigkeit längerem Stehen unterworfen; diese letztere ist außerhalb der Versuche im Eisschrank aufbewahrt worden.

Es hat nun diese Nebenuntersuchung, die keine unmittelbare Beziehung zu meiner Aufgabe hatte, ein interessantes Resultat ergeben. Es stellte sich heraus, daß in allen Fällen, ohne Ausnahme — im ganzen habe ich präzipitierendes Serum von 7 Kaninchen untersucht — diese Flüssigkeit giftiger wirkte als das Toxin, welches aus dem Niederschlag + Komplement hergestellt wurde. So genügten z. B. Dosen von 3 ccm und von einem Kaninchen 2,5 ccm, um, intravenös injiziert, ein Meerschweinchen von 200 g Gewicht akut zu töten. Der betreffende Niederschlag + Komplement war insofern schwächer, als gleiche Dosen bei den Tieren kaum merkbare Zeichen von Unbehagen erweckten. Erst mit der Dosisvergrößerung etwa um 1—1,5 ccm konnte man dasselbe blitzartige Resultat erreichen. Als das Serum von anderen Kaninchen genommen wurde und die Dosis letalis der nach der ersten Präzipitatusfällung zurückgebliebenen Flüssigkeit 4 und 5 ccm darstellte, mußte auch die für den tödlichen Ausgang erforderliche Menge des betreffenden Niederschlages + Komplement auf 5 und 6 ccm vergrößert werden. Dieses letzte Anaphylatoxin aber habe ich als ein für die Arbeit ungeeignetes gehalten und nur in jenen Fällen Versuche angestellt, wo die Dosis letalis 5,5 ccm nicht überschritt.

Auf diese Weise wurde die Frage nach der Möglichkeit, aus Hühnerei-Eiweiß ein toxisches Produkt zu bekommen, im positiven Sinne gelöst. Nun konnte ich zur Ausführung des Hauptteiles meiner Arbeit — zum Studium der anaphylaktischen Eigenschaften des Giftes — übergehen.

Als Ausgangspunkt diente die Tatsache, daß sich Tiere gegen Anaphylaxie immunisieren lassen (3, 4, 5, 6), daß man der Anaphylaxieerscheinung diejenige der Antianaphylaxie gegenüberzustellen vermag.

Wie Antianaphylaxie eigentlich entsteht, welches der Mechanismus dieses Prozesses ist, wird nicht von allen Autoren auf gleiche Weise erklärt. So teilt z. B. H. Pfeiffer (7) die Ansichten von Besredka nicht. Für uns aber spielt in dieser Frage nicht die Erklärung eines Prozesses, der jedenfalls in die Immunitätserscheinungen eingereicht wird, eine Rolle, son-

dem die Tatsache selbst, daß die Antianaphylaxie existiert und daß sie beim Erfüllen gewisser Bedingungen mit konstanter Regularität wiederkommt. Anders gesagt, ist also von Wichtigkeit jene Gesetzmäßigkeit, welcher sich die Antianaphylaxie unterwirft.

Kann man nun auch gegen Anaphylatoxinwirkung immunisieren? Gehören die Anaphylatoxinreaktionen zu den Immunitätsreaktionen? Mit anderen Worten: Kann jene spezifische Reaktion *in vitro* stattfinden, welche — in Form des anaphylaktischen Shocks oder, im Gegenteil, als Verhütung desselben — dem lebenden Organismus eigentümlich ist?

Um die Wiedergabe einer langen Anzahl von Versuchsreihen zu vermeiden, die alle zu einer negativen Antwort führten, begnüge ich mich mit der Aufstellung der zwei unten wiedergegebenen Tabellen. Sie dienen zugleich als Versuchsprotokolle und sind einer großen Anzahl von Notizen entnommen. Nach diesem Schema sind alle Versuche entworfen worden und sie sollten alle, wie schon betont, die Frage beantworten, ob von dem aus Hühnerei-Eiweiß + Antiserum zusammengestellten Gifte wahre Anaphylaxie hervorgerufen wird, weil das Gift Meerschweinchen akut zu töten und ähnliche Symptome herbeizuführen vermag, wie sie beim typischen anaphylaktischen Shock zu beobachten sind. Sollte dieses starkwirkende Gift ein wirkliches Anaphylatoxin sein, so müßte es nur unvaccinierte Meerschweinchen töten. Vaccinierte Tiere aber werden darauf ebensowenig reagieren wie auf die Antigeninjektionen.

Man hat also im Versuche einerseits vaccinierte, andererseits unvaccinierte Meerschweinchen. Zwei andere dienen als Kontrolle; auch von diesen wird das eine vacciniert. Anstatt des Anaphylatoxins bekommen die Kontrolltiere letale Dosen von Antigen (intravenöse Injektionen). Die tödlichen Dosen eines jeden Anaphylatoxins werden vor dem Versuche in einer Serie von Meerschweinchen bestimmt. In den ersten Serien hat man einige Schwankungen im Auftreten der Todeszeit bemerken können. Das hing offenbar mit der verschiedenen Stärke eines jeden gegebenen Giftes zusammen und damit, daß im Anfang die letalen Dosen tastend gesucht werden mußten. In der Mehrzahl der letzten Versuche trat der Tod momentan ein. Was nun die Wirkung des Antigens betrifft,

so sind niemals Abweichungen beobachtet worden, und es geschah kein einziges Mal, daß ein vacciniertes Tier nach intravenöser Antigenzufuhr (Hühnereiklar 1:10 + Kochsalzlösung) einging oder auch nur erkrankte.

Tabelle I.

	No. 41, 215 g	No. 32, 175 g	No. 33, 180 g	No. 69, 210 g
10. VIII.	Passive Sensibilisierung. Intraperitoneale Injektionen von Antieei-Eiweißserum vom Kaninchen No. 2			
11. VIII.	1,0 Hühnerei- eiweiß 1:10 iv. † sofort	Vaccination mit Hühnerei-Eiweiß 1:10 intraperitoneal		
		4,0 ccm	4,0 ccm	5,0 ccm
12. VIII.		1,0 ccm Eiklar 1:10 intravenös I Das Tier zeigt keine Symptome u. bleibt normal	4,5 ccm Anaphyl. nach Friedberger intraven. Krämpfe und andere ana- phylaxieähnliche Symptome. Am anderen Morgen wurde das Tier tot aufgefunden	4,0 ccm der nach d. ersten Fällung zurückgeblieben. Flüssigkeit. Starke Dyspnoë, Urinentleerung usw. In 1/2 Stunde Para- lyse und Tod
		Die Dosis letalis ist vorher als 4,0 und 4,5 ccm bestimmt worden		

Tabelle II.

	No. 38, 230 g	No. 39, 290 g	No. 35, 250 g	No. 36, 250 g	No. 100, 215 g
21. IX.	Passive Sensibilisierung. Intraperitoneale Injektionen von Antieei-Eiweißserum vom Kaninchen No. 6				
22. IX.	1,0 ccm Hühnerei- eiweiß 1:10 iv. † in 1 1/2 Min.	Vaccination mit Hühnerei-Eiweiß 1:10 intraperitoneal je 5,0 ccm			
23. IX.		1,0 ccm Hühnereiklar 1:10 intrav. Das Tier rea- giert nicht u. bleibt gesund	Je 5,5 ccm Anaphylatoxin I nach Friedberger intraven. Beide Tiere werden krank † in 1 Std.	† während der Nacht	4,5 ccm des nach d. ersten Fällung zu- rückgeblieb. Toxins iv. Tod auf der Stelle
		Die Dosis letalis ist vorher als 4,0 und 4,5 ccm bestimmt worden			

Wie das Resultat der angestellten Experimente ausgefallen ist, ergibt sich aus den oben angeführten Tabellen. Sie

sprechen gegen die Identifizierung der Anaphylatoxinreaktion mit den Erscheinungen typischer Anaphylaxie im lebenden Organismus. Durch diese Versuche wird das Fehlen einer biologischen Gleichheit der beiden Prozesse festgestellt. Die einzige Analogie, vielmehr die einzige Aehnlichkeit zwischen dem wahren anaphylaktischen Shock und dem durch Anaphylatoxin hervorgerufenen Tode — es ist zunächst nur von Hühner-Eiweißanaphylatoxin die Rede — besteht also in den gemeinschaftlichen klinischen Symptomen, die in beiden Fällen bei den erkrankten Tieren zutage treten. Man darf aber wohl kaum irgendwelche Schlüsse allein auf Grund dieser Symptome ziehen. Dieser Gedanke ist so klar von Doerr und Russ (2) ausgesprochen, daß ich mich veranlaßt fühle, ihre Worte buchstäblich zu zitieren:

„Nun genügt aber die rein pharmakodynamische Identität nicht, um die von Friedemann und Friedberger dargestellten vitro-Gifte mit dem im anaphylaktischen Shock wirkenden Agens zu identifizieren. Es wäre daher, da wir über die chemische Natur des wahren anaphylaktischen Giftes einerseits, über die vitro-Gifte andererseits nichts wissen, zumindest die Forderung zu erfüllen, daß ein vitro-Gift nur dann als das wahre Anaphylaxiegift erklärt wird, wenn es sich in der Epruvette aus denselben Komponenten bildet und nach denselben Gesetzen entsteht, die im anaphylaktischen Experiment kooperieren.“

Unser „anaphylaktisches Experiment“ hat nun gezeigt, daß das Anaphylatoxin, wenigstens das Hühner-Eiweißanaphylatoxin sich einem derjenigen Immunitätsgesetze nicht unterwirft, welches für die typische Anaphylaxie als gültig erscheint. Es ist also in diesem Falle der Tod nicht durch Anaphylaxie, sondern durch irgendeine andere Erscheinung hervorgerufen.

Wodurch ist nun die Giftigkeit verschiedenartiger Anaphylatoxine verursacht? Wovon ist speziell die Toxizität der aus Hühner-Eiweiß entstandenen Gifte bedingt? Die oben beschriebenen Versuche geben kein Recht dazu, irgendwelche Vermutungen zu äußern. Sie haben alle ein bestimmtes Ziel verfolgt und waren deswegen streng schematisiert. Ich möchte

mir aber trotzdem erlauben, einige während der Arbeit gemachte Beobachtungen zu erwähnen. Vielleicht könnte das nicht ganz ohne Nutzen bleiben und im Zusammenhang mit der schon vorhandenen Literatur oder in neuen Versuchsanordnungen künftig als Material dienen.

So wurde z. B. von Anfang an die Tatsache notiert, daß die Stärke des Anaphylatoxins immer in direkter Proportion zu der Toxizität des betreffenden Kaninchenserums für ein normales Meerschweinchen stand.

Vor der Anaphylatoxinherstellung wurde normalen Meerschweinchen 1 ccm des Antiserums intravenös injiziert. Es tötete diese Dosis fast immer die Meerschweinchen, meist auf der Stelle, manchmal erst in einiger Zeit. Nur einmal ist ein Kaninchen vorgekommen, dessen Serum nach dem Präparieren für Meerschweinchen völlig indifferent erschien. Aber auch das aus diesem Serum hergestellte Anaphylatoxin ist so wenig wirksam gewesen, daß sogar Dosen von 7 ccm bei Versuchstieren krankhafte Symptome kaum erregten, so daß dieses Anaphylatoxin nicht weiter benutzt wurde.

Eine andere Erscheinung, die augenscheinlich mit der ersten in gewissem Zusammenhange steht, ist bemerkt worden, als für die Herstellung von Antiserum keine Kaninchen, sondern, um zu vergleichen, Meerschweinchen genommen wurden. Dieses Antiserum gab sehr schnell mit Hühner-Eiweiß einen großen Niederschlag¹⁾, aber das aus ihm hergestellte Anaphylatoxin erwies sich als ganz unwirksam für Meerschweinchen. Diese Beobachtung leitet den Gedankengang auf die Bedeutung heterologer Sera.

Von dem eben beschriebenen Anaphylatoxin haben bei Meerschweinchen intravenöse Injektionen von 7 ccm kaum merkbares Unbehagen hervorgerufen. Dieses entstand möglicherweise auf mechanischem Wege, weil eine große Menge von Flüssigkeit plötzlich in die Zirkulation hineingebracht wurde — es wogen nämlich die Versuchstiere selten mehr als 275 g, meist aber 250 g. Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß diese vereinzelte Beobachtung im Widerspruch zu Friedbergers Angaben steht, welche im 2. Kapitel seiner Arbeit über Anaphylatoxine veröffentlicht sind.

1) Es gehört vielleicht hierher auch das folgende Phänomen, das im Sinne unserer Aufgabe nebensächlich war und darum unkontrolliert geblieben ist. Je geringer die Menge des Niederschlages nach der Reaktion Antiserum + Antigen gewesen ist, um so stärker wirkten die beiden Gifte, sowohl dasjenige, welches nach der ersten Ausfällung zurückblieb, als auch das nach Friedbergerschem Modus hergestellte Anaphylatoxin.

Aber schon in seiner VI. Mitteilung (8) sagt derselbe Forscher, daß die giftige Wirkung der Antisera bei artfremden Tieren bedeutend stärker ist, als bei artgleichen. Eine ähnliche Meinung wird von Doerr und Weinfurter (9) geäußert, was alles den angestellten Vergleichungsversuch bestätigt. Als allerletzte Veröffentlichung, welche wiederum die Bedeutung des Komplementes betrifft, sei der Artikel von Heilner und Schneider (10) genannt, erst vor einigen Wochen erschienen. Auch hier besteht eine Ungleichheit der Resultate nach Injektionen von artgleichen Sera einerseits, artfremden andererseits. Die Verschiedenheit hat sich in einem ungleichen Eiweißstoffwechsel gezeigt, als bei den Versuchstieren die Harnmenge verglichen wurde.

Unwillkürlich drängt sich ein Vergleich zwischen primärer Toxizität von Kaninchenantiserum für Meerschweinchen und der Giftwirkung des Anaphylatoxins auf. Was nun die primäre Toxizität betrifft, so ist sie, bekannterweise, zu den Anaphylaxieerscheinungen gerechnet worden. Sehr wertvolle Angaben in dieser Frage sind in der großen Arbeit von E. Friedberger und S. Castelli (8) zu finden. Von den neuen Veröffentlichungen ist die Arbeit von Doerr und Weinfurter (9) aus einem anderen Anlaß schon zitiert worden.

Es ist natürlich unmöglich, in dieser kurzen Notiz die Lehre von der primären Toxizität ihrem Grunde nach zu besprechen. Sollte sie aber als bewiesene Tatsache angenommen sein, so haben wir eben das Recht, zu fragen, ob die primäre Toxizität des Antiserums wirklich da endet, wo die Wirkung des Anaphylatoxins anfängt. Nehmen wir an, das „Anaphylatoxin“ sei wirklich ein wahres spezifisches Gift. Auch in einem solchen Falle ist vielleicht bei letal wirkenden Injektionen nicht eine, sondern Verschmelzung zweier Immunitätsreaktionen vorhanden, die beide nebeneinander verlaufen. Oder aber — sollte nur eine der beiden stattfinden — welche der beiden ist es also? Endlich könnte diese letale Wirkung vielleicht ein Phänomen aus einer ganz anderen Erscheinungsordnung sein, welche nichts mit der Immunitätserscheinung zu tun hat. Als ein solches könnte z. B. eine Vergiftung durch peptonartiges Eiweißgift dienen, demjenigen Toxin verwandt, welches sich beim wahren anaphylaktischen Schocke bildet (11). Daher Aehnlichkeit in den Symptomen.

Als eine Antwort auf eine dieser Fragen — soweit es möglich — erscheinen die experimentellen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

Ich halte es für meine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Professor Besredka meinen verbindlichsten Dank auszusprechen für seine ständige Liebenswürdigkeit und unermüdliche Bereitwilligkeit, mir durch Rat und Tat bei Ausführung dieser Arbeit behilflich zu sein.

Zusammenfassung.

1) Beim Gebrauche des Hühner-Eiweißes als Antigen gelingt es aus dem Kaninchenantiserum und Antigen *in vitro* ein Gift zu bekommen, welches dem Friedbergerschen Anaphylatoxin entspricht.

2) Das Hühner-Eiweißanaphylatoxin unterwirft sich nicht den Gesetzen — nämlich der Vaccination — welche den Anaphylaxieerscheinungen eigen sind. Es ist infolgedessen möglich, daß die von ihm hervorgerufenen Erscheinungen nicht in die Reihe der Anaphylaxiereaktionen gehören, sondern durch andere, noch unbekanntere Bedingungen verursacht werden.

Literatur.

- 1) Friedberger, E., Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 4.
- 2) Doerr und Russ, Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 63, H. 2/3.
- 3) Besredka, A., et Steinhardt, Ed., Annales de l'Inst. Pasteur, 1907, Février.
- 4) — — Ibid., 1907, Mai.
- 5) — Ibid., 1908, Juin.
- 6) Biedl und Kraus, Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 11.
- 7) Pfeiffer, H., Das Problem der Eiweißanaphylaxie. Jena, Gustav Fischer, 1910.
- 8) Friedberger und Castelli, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6.
- 9) Doerr und Weinfurter, Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 63, H. 4/6.
- 10) Heilner und Schneider, Zeitschr. f. Biol., Bd. 59, 1912, H. 8.
- 11) Besredka, A., Ströbel, H., und Jupille, F., Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 16, 1913, H. 3.

Nachdruck verboten.

[Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Université de Gand.]

L'action thromboplastique est générale et commune à toutes les substances introduites dans le sang.Par le Dr. **Henri De Waele**,
médecin-adjoint à l'Hôpital civil de Gand.

Avec 17 courbes dans le texte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Januar 1913.)

Dans une note publiée dans cette revue (Bd. 16, p. 311) sur la coagulation du sang, nous avons eu l'occasion d'annoncer en ces termes les recherches qui font l'objet du présent travail: «non seulement les protéines, mais toute substance capable de se combiner plus ou moins directement aux éléments organiques du sang, ou même simplement capable de rompre l'équilibre colloïdal, développe dès qu'elle est introduite dans le plasma sanguin, une action thromboplastique dont l'intensité varie.»

Cette introduction qui résume en somme ce qui va suivre, nous permet d'exposer les expériences dans un ordre différent de celui dans lequel nous avons été conduits à les faire et de les grouper d'après la complexité progressivement plus grande de leur composition chimique.

Nous employerons successivement:

- 1° un métal colloïdal: l'électrargol, soit des ions (négatifs);
 - 2° des électrolytes: l'acide chlorhydrique,
 - 3° l'iodure de potassium;
- une série de substances de plus en plus complexes:
- 4° le chlorhydrate de quinine,
 - 5° le chlorhydrate de cocaïne,
 - 6° le salvarsan ou chlorhydrate de dioxyaminoarsenobenzol, ainsi que son sel de sodium (solution neutralisée),
 - 7° l'atoxyl ou sel sodique de l'acide paraaminophénylarsénique,
 - 8° l'antipyrine ou diméthylphénylpyrazolone;
 - 9° le coniïne, un alcaloïde soluble dans l'eau;

- 10° l'alcool éthylique;
- 11° le saccharose;
- 12° l'huile d'olives.

Toutes ces substances peuvent être rapprochées des deux premières, si l'on considère que toute combinaison chimique peut être envisagée comme constituée d'ions complexes (par ex. un alcaloïde correspond à un ion NH_3 substitué) et il est d'ailleurs de notion courante que les colloïdes, donc même les protéines et leurs constituants peuvent agir comme électropositifs ou négatifs.

A ce point de vue et en rapprochant ces considérations du fait que toutes ces substances sont thromboplastiques, la coagulation du sang pourrait peut-être dans l'avenir être ramenée à la précipitation de colloïdes plasmatiques normalement en équilibre ou dissous l'un dans l'autre (nous avons déjà considéré la possibilité d'une dissolution du fibrinogène dans le complément).

Ceci n'est cependant qu'une façon différente de présenter le problème sans cependant le simplifier, car il y a lieu de citer ici la remarque de Michaëlis qui relève, à propos d'un travail de Feinschmidt, toute l'importance de la constatation que le maximum de floculation d'une colloïde par l'ion H est influencé par la présence dans le même mélange, d'autres colloïdes, soit protéiques soit lipoïdiens. Combien complexe s'annonce ainsi cette précipitation d'un ou des colloïdes plasmatiques par les ions complexes des nombreuses substances qui peuvent arriver à agir sur eux.

Même considéré ainsi le mécanisme chimique de la coagulation reste évidemment un problème compliqué et de la plus grande importance. Dans nos recherches nous nous sommes limités plus spécialement au point de vue des substances injectées.

Nous insistons sur la généralité du pouvoir thromboplastique des diverses substances, c. à. d. du pouvoir d'intervenir comme agents déterminants capables de troubler l'équilibre colloïdal plasmatique, sur les conséquences de ce pouvoir thromboplastique en tant qu'elles influencent la fixation des substances injectées et l'intoxication qu'elles déterminent; enfin sur les sécrétions secondaires que ces processus provoquent.

I. Électrargol (Clin, Paris).

Lapin 1, reçoit 2.5 c.c. d'électrargol isotonisé au moment de l'emploi, dans la veine de l'oreille.

Avant l'inj.:	Press.	60 mm	Coag.	en 4 min.	
Aussitôt après:	"	64 "	"	"	
15 sec.	"	53 "	"	"	
2 min.	"	53 "	"	"	$\frac{1}{2}$ "
3 "	"	53 "	"	"	1 "
8 "	"	50 "	"	"	20 "
15 "	"	50 "	"	"	7 "
					Courtes hausses de la pression de 15 mm
20 "	"	50 "	"	"	2 "
29 "	"	50 "	"	"	$\frac{1}{2}$ "
36 "	"	50 "	"	"	1 "
					Oscillations respiratoires très petites
41 "	"	50 "	"	"	1 "
45 "	"	47 "	"	"	— "
48 "	"	"	"	"	2 hrs.
58 "	"	45 "	"	"	25 min.
68 "	"	48 "	"	"	2 "
78 "	"	48 "	"	"	4 "
84 "	"	51 "	"	"	6 "
					Oscill. resp. de plus en plus petites

Lapin 2, reçoit 7.5 c.c. d'électrargol.

Avant l'inj.:	Press.	58 mm	Coag.	en 3 min.	
1 min. après:	"	65 "	"	"	1 "
2 "	"	Hausse de pression pendant 20 sec., de 30 mm			
4 "	"	Idem			
6 "	"	Press.	58 mm	Coag.	en 3 min.
18 "	"	"	— "	"	3 "
26 "	"	"	— "	"	4 "
35 "	"	"	56 "	"	$1\frac{1}{2}$ "
45 "	"	"	58 "	"	35 "
47 "	"	"	— "	"	— "
49 "	"	"	— "	"	— "
55 "	"	"	54 "	"	6 "
57 "	"	"	— "	"	5 "
67 "	"	"	46 "	"	35 "
					Oscill. resp. plus grandes, pouls un peu plus lent
					Hausse de press. de 30 mm
					Idem, pendant 20 sec.
					Oscill. resp. et pulsat. pet.

II. L'acide chlorhydrique.

Lapin 3, de 2 kgr., reçoit, dans la veine de l'oreille, 0.03 gr. d'acide en 5 c.c. de liquide physiologique.

Avant l'inj.:	Press.	58 mm	Coag.	en 11 min.	
Aussitôt hausse à	67 "				suivie d'une baisse très rapide à 55
30 sec. après:	Press.	55 "	Coag.	en 1 hr. $\frac{1}{4}$	Ampl. resp. plus forte
2 min.	"	38 "	"	"	30 min. Ampl. resp. plus petites
4 "	"	30 "	"	"	1 hr. $\frac{1}{2}$
9 "	"	58 "	"	"	6 min. Ampl. resp. plus grand
15 "	"	55 "	"	"	8 "
16 "	"	50 "	"	"	— " Ampl. resp. plus petites
18 "	"	49 "	"	"	1 "
29 "	"	50 "	"	"	1 hr. $\frac{1}{2}$
36 "	"	50 "	"	"	1 min.

Chien 4, de 4.5 kgr., reçoit 0.05 gr. d'acide en 25 c. c. de liquide physiologique.

	Press.	Pouls	Ampl.	Coag.
Avant l'inj.:	65 mm	60 mm	15 mm	en 5 min.
40 sec. après:	67 "	60 "	15 "	imméd.
3 min. "	— "	— "	— "	en 2 min.
6 " "	66 "	54 "	10 "	" 2 "
10 " "	65 "	64 "	15 "	" 20 "
23 " "	60 "	66 "	20 "	" 25 "
33 " "	— "	— "	— "	" 10 "
38 " "	— "	— "	— "	" 3 "
48 " "	— "	— "	— "	" 9 "
58 " "	63 "	60 "	15 "	" 8 "

III. Iodure de Potassium.

Lapin 5, reçoit 0.05 gr. en 8 c. c. de liquide physiologique, dans la veine de l'oreille.

Avant l'inj.:	Press. 53 mm	Coag. en 5 min.
20 sec. après:	" 10 "	" " immédiate. L'animal succombe

Lapin 6, reçoit 0.025 gr.

Avant l'inj.:	Press. 36 mm	Coag. en 4 min.
Aussitôt après:	" 51 "	
30 sec. "	" 44 "	
3 min. "	" 42 "	" " 2 "
6 " "	" 48 "	" " 30 " Plusieurs hausses de pression de 10 mm
9 " "	" 49 "	" " 5 "

Lapin 7, reçoit 0.025 gr.

Avant l'inj.:	Press. 55 mm,	coag. en 25 min.
10 sec. après:	Hausse à 70 mm pendant 20 sec.	
30 " "	idem.	
5 min. "	Press. 44 mm	Coag. en 1 min. Oscill. resp. petites
15 " "	" 40 "	" " 30 " Oscill. resp. prog. plus grandes
25 " "	" 36 "	Incoagulable
35 " "	" 40 "	Coag. en 1 heure Oscill. resp. grandes
45 " "	" 36 "	" " 8 min.
55 " "	" 33 "	" " 5 "
58 " "	— "	" " — " Oscill. resp. grandes
65 " "	" 32 "	" " 4 "
75 " "	" 34 "	Incoagulable Oscill. resp. grandes
85 " "	" 36 "	Coag. en 2 hrs.

IV. Chlorhydrate de Quinine.

Lapin 8, reçoit 0.05 gr., en 8 c. c. de liquide physiologique dans la veine de l'oreille.

Avant l'inj.:	Press. 50 mm.	coag., en 6 min.
Aussitôt après:	Chute à 9 mm, coag. immédiate. L'animal succombe.	

Lapin 9, reçoit 0.025 gr.

Avant l'inj.:	Press. 56 mm	Coag. en 4 min.
Imméd. après:	chute à " 28 "	" " — Pouls très accéléré
1 min. après:	" 30 "	" " 6 Oscill. resp. très grandes
2 " "		

La pression commence à remonter par poussées convulsives à 55 mm
4 min. après: Coag. en 3 min. Le pouls devient petit

6	"	"	Press. 54 mm	"	immédiate	
11	"	"	" 50 "	"	Incoagulable	Pulsations plus grandes
16	"	"	" 52 "	"	Coag. en 1 heure	
24	"	"	" — "	"	" 30 min.	
31	"	"	" 54 "	"	" 11 "	Quelques courtes hausses
36	"	"	" — "	"	" — "	De 7 à 20 mm
38	"	"	" — "	"	" 4 "	Chute progr. à 52 mm
46	"	"	" 50 "	"	" 10 "	Légère dyspnée
56	"	"	" 47 "	"	" 10 "	Petites hausses fréquentes par mouvements convulsifs

V. Chlorhydrate de Cocaine.

Lapin 10, de 2 kgr., reçoit 0.015 gr. en 5 c. c. de liquide physiologique.

Avant l'inj.:	Press. 55 mm	Coag. en 10 min.	
Aussitôt chute à	44 "	" "	Dyspnée forte, irrégul.
1 1/2 min. après:	" 48 "	" " 2 hrs.	Fréquentes hausses convulsives
4 1/2 "	" 56 "	" " 5 1/2 min.	Fin des convulsions
8 1/2 "	" — "	" " 2 1/2 "	Oscill. respirat. petites
9 1/2 "	" 70 "	" " immédiate	
12 "	" — "	" " —	Convulsions; osc. petites
13 "	" 73 "	" " 2 hrs.	Convulsions
14 "	" — "	" " "	Fin des convulsions; chute à 55 mm remonte bientôt
18 "	" — "	" " 10 min.	Convulsions dyspnée
19 "	" 65 "	" " 10 min.	Descend progr. à 54
21 "	" — "	" " —	Convulsions; Oscill. pet.
22 "	" 60 "	" " Incoagulable	
29 "	" 55 "	" " —	} Convulsions fortes pro- longées
30 1/2 "	" — "	" " Incoagulable	
38 "	" — "	" " Coag. en —	Convulsions diminuent
39 "	" 51 "	" " 20 min.	
48 "	" — "	" " —	Oscill. plus grandes
49 "	" 60 "	" " 1 hr.	
51 "	" — "	" " —	Convulsions avec hausses et baisses irrégulières
56 "	" irrég.	" " 30 min.	
59 "	" " "	" " —	Convulsions continues, irrégul., pouls irrégulier
63 "	" 45 "	" " 15 min.	

VI. Salvarsan.

Lapin 11, de 2 kgr., reçoit 0.05 gr. en solution neutralisée dans 5 c. c. de liquide physiologique.

Avant l'inj.:	Press. 39 mm	coag. en 27 min.	
Aussitôt hausse à 50, suivie aussitôt d'une chute à 40.			
1 min. après:	Press. 37 mm	Coag. en 10 min.	
3 "	" 34 "	" " 3 "	
9 "	" 36 "	" " 7 "	Oscill. resp. petites; resp. accél. de 2 en 2 min. courtes hausses
12 "	" 36 "	" " 2 "	
15 "	" 35 "	" " 10 "	Oscill. resp. plus grandes

Lapin 12, de 2 kgr., reçoit 0.05 kgr. en solution neutre de 5 c. c.
 Avant l'inj.: Press. 41 mm; Coag. en 25 min.
 Aussitôt courte chute à 38 mm.

1 min. après:	Press.	40 mm	Coag.	en 3 min.	
4 "	"	37 "	"	"	3 "
8 "	"	36 "	"	"	1 "
9 "	"	35 "	"	"	4 "
13 "	"	35 "	"	"	2 "
16 "	"	39 "	"	"	5 "

Oscill. resp. petites
 Oscill. resp. plus grandes

Lapin 13, de 2 kgr., reçoit 0.15 gr. en 7 c. c.
 Avant l'inj.: Press. 54 mm, coag. en 10 min.
 Aussitôt chute à 11 mm, coag. immédiate, mort.

Lapin 14, de 2 kgr., reçoit 0.05 gr. en 5 c. c. de solution acide.
 Avant l'inj.: Press. 54 mm; Coag. en 13 min.
 Aussitôt hausse à 66 mm.

$\frac{1}{2}$ min. après:	Press.	62 mm	immédiate	Oscill. resp. petites
1 "	"	42 "	Coag. en 1 heure	Oscill. resp. plus grandes
6 "	"	47 "	"	1 min. Mouvements convulsifs
8 "	"	43 "	"	Oscill. resp. plus petites
11 "	"	48 "	"	5 "
30 "	"	48 "	"	7 "

Chien 15, de 4 kgr., reçoit 0.125 kgr. en 15 c. c. solution neutre.
 Avant l'inj.: Press. 43 mm, pouls 84, ampl. 10, coag. en 25 min.
 Aussitôt hausse à 80 mm pour redescendre rapidement à 52.

1 min. après:	Press.	48 mm	Pouls 66	Ampl. 12 mm	Coag. en 13 min.
4 "	"	48 "	66	12 "	1 $\frac{1}{2}$ "
8 "	"	48 "	56	15 "	1 "
13 "	"	52 "	60	10 "	4 "
18 "	"	46 "	70	10 "	3 "
20 "	"	46 "	70	10 "	3 "
24 "	"	—	—	—	1 $\frac{1}{2}$ "
28 "	"	45 "	70	10 "	10 "

Chien 16, de 4 kgr., reçoit 0.125 gr. en 15 c. c. solution neutre additionnés de 0.4 gr. de peptone de Witte en 10 c. c. neutralisés. Ce mélange devient immédiatement colloïdal, gélatineux.

Avant l'inj.: Press. 55 mm, pouls 50, ampl. 16 mm, coag. en 10 min.
 Aussitôt chute à 45 mm.

1 min. après:	Press.	45 mm	Pouls 165	Ampl. 1 mm	Coag. en 4 min.
3 "	"	55 "	62	12 "	4 "
8 "	"	—	—	—	15 "
10 "	"	—	—	—	13 "
13 "	"	—	—	—	6 "
19 "	"	—	—	—	12 "
23 "	"	50 "	74	10 "	4 "
27 "	"	—	—	—	4 "

On constate que le salvarsan est très actif comme agent thromboplastique, moins comme excitant de la sécrétion d'anti-thrombine.

La différence très appréciable entre le salvarsan acide et neutre paraît due, si l'on s'en réfère à ce que nous avons

décrit plus haut pour l'acide chlorhydrique, à la fonction acide du salvarsan non neutralisé; la courbe obtenue paraît résulter de l'addition des courbes individuelles du salvarsan et de l'acide. Cette interprétation se trouve confirmée par l'expérience (Chien 16) où manifestement, les courbes du salvarsan et de la peptone se sont superposées.

VII. Atoxyl.

Lapin 17, de 2 kgr., reçoit 0.05 gr. d'atoxyl.

Avant l'inj.:	Press.	45 mm	Coag. en	20 min.	
2 min. après:	"	48	"	"	5 " Oscill. resp. très petites
5 "	"	56	"	"	2 "
8 "	"	44	"	"	2 "
10 "	"	32	"	"	2 1/2 "
12 "	"	45	"	"	— " Ascill. resp. plus grandes
15 "	"	45	"	Incoag.	
18 "	"	42	"	Coag. en	3 min. Oscill. resp. petites convulsions
23 "	"	50	"	"	1 heure Oscill. plus grandes
30 "	"	44	"	"	— Délire cardiaque avec courtes hausses
33 "	"	47	"	"	6 min.
35 "	"	44	"	"	8 min. Fréquentes hausses; oscill. resp. petites
40 "	"	46	"	"	

VIII. Antipyrine.

Lapin 18, reçoit 0.025 gr. en 5 c. c. d'eau distillée, additionnés de 5 c. c. de liquide physiologique.

Avant l'inj.:	Press.	57 mm	Coag. en	20 min.	
Aussitôt après l'animal					présente des mouvements convulsifs avec arrêts respiratoires et courtes baisses de pression.
2 min. après:	Press.	58 mm	Coag. en	11 min.	Amplit. resp. très petites
5 "	"	55	"	"	2 "
16 "	"	54	"	"	immédiate
25 "	"	52	"	"	en 35 min.
30 "	"	52	"	"	2 hrs. Ampl. resp. plus grandes
36 "	"	52	"	"	35 min.
50 "	"	52	"	"	10 "
60 "	"	52	"	"	5 "
64 "	"	47	"	"	5 "

Lapin 19, reçoit 0.025 gr.

Avant l'inj.:	Press.	47 mm	Coag. en	3 min.	
2 min. après:	"	47	"	"	2 "
6 "	"	47	"	"	1 hr. Ampl. resp. plus petites
13 "	"	48	"	"	1 " Ampl. resp. plus grandes
22 "	"	47	"	"	7 min.
24 "	"	46	"	"	8 " Ampl. resp. plus petites
30 "	"	42	"	"	3 " Ampl. resp. plus petites
34 "	"	42	"	"	1 " Ampl. resp. augmentent
42 "	"	42	"	"	2 " Ampl. assez grandes
47 "	"	43	"	"	3 "

IX. Coniine.

Lapin 20, reçoit 0.01 gr. en 5 c. c. de liquide physiologique.

	Avant l'inj.:	Press. 58 mm	Coag. en 3 min.	
20	sec. après:	" 68 "	" "	
2	min. "	" 60 "	" " 1 "	
4	" "	" 58 "	" immédiate	
4 1/2	" "	" 63 "	pendant 10 sec.	
6	" "	" 58 "	Coag. immédiate	
7	" "	" 64 "	pendant 10 sec.	
9	" "	" 59 "	Coag. en 2 min.	
14	" "	" 59 "	" " 2 "	
23	" "	" 56 "	" " 3 "	
30	" "	" 54 "	" " 10 "	
39	" "	" 33 "	" " 1 "	

Lapin 21, reçoit 0.015 gr. en 5 c. c.

	Avant l'inj.:	Press. 54 mm	Coag. en 15 min.	
	Aussitôt après la press. monte à 60 mm.		Accél. resp. avec ampl. petite	
2	min. après:	Press. 60 mm	Coag. en 40 min.	Sang asphyct.
4	" "	" 59 "	" " 10 "	" rouge
6	" "	" 59 "	" " 2 "	Amplit. resp. plus petites
8	" "	" 55 "	" " 1 "	
13	" "	" 56 "	" " 35 "	
16	" "	" 56 "	Incoagulable.	Amplit. resp. plus grandes
19	" "	" 54 "	" "	Amplit. resp. grandes
25	" "	" 54 "	" "	Fréquentes convulsions
33	" "	" 54 "	Coag. en 30 min.	

Lapin 22, reçoit 0.02 gr. en 5 c. c.

	Avant l'inj.:	Press. 46 mm	Coag. en 3 min.	
	Aussitôt après:	" 52 "	" "	
1	min. "	" 58 "	" " 3 "	Oscill. resp. moindres, pouls ralenti, sang asphyctique
	de 30 en 30 sec.		convulsions	
2	min. après:		Coag. en 1 min.	Chute progr. de la pression
5	" "	Press. 36 mm	" " 1 1/2 "	
8	" "	" 30 "	" " 30 "	Sang moins asphyctique; la resp. et le pouls s'accélérent
10	" "	" 40 "	" "	
11	" "	" " "	" " 3 "	Sang plus asphyctique
18	" "	" 30 "	" " 3 "	
22	" "	" 27 "	" " 2 "	Animal mourant

Lapin 23, reçoit 0.02 gr. en 5 c. c. de liq. physiol., contenant en émulsion 0.05 gr. de lécithine.

	Avant l'inj.:	Press. 46 mm,	coag. en 3 min.	
	30 sec. après:	Ascension lente à 63 mm	avec dyspnée	
	3 min. après:	Press. 61 mm	Coag. en 12 min.	Dyspnée, pouls ralenti, fort sang asphyctique
6	" "	" 60 "	" " 5 "	Pouls plus petit, plus fréquent
8	" "	" — "	" " 2 "	Chute progr. de la pres. sang., moins asphyctique
10	" "	" 46 "	" " 2 "	
13	" "	" 44 "	" " 10 "	Pouls ralenti, sang rouge
19	" "	" 40 "	Incoagulable	
25	" "	" — "	Coag. en 30 min.	
35	" "	" 33 "	" " 8 "	

Lapin 24, reçoit 0.015 gr. en 5 c. c. contenant en émulsion 0.05 gr^e de lécithine.

Avant l'inj.: Press. 67 mm, coag. en 17 min.

Aussitôt quelques oscillations; amplit. resp. ne change pas.

3 min. après:	Press. 67 mm,	coag. en 1 min.	Sang pas asphyctique
4 " "	Quelques oscill.	sans mouvements convulsifs	de 8 à 10 mm
6 " "	Press. — mm	Coag. en 11 min.	Amplit. respirat. plus petites
8 " "	" 66 "	" " 2 "	" " " "
12 " "	" 60 "	" " "	Incoagulable
16 " "	" — "	" " "	Coag. en 50 min.
22 " "	" 43 "	" " "	Incoagulable

Chien 25, de 4 kgr., reçoit 0.03 gr. de Coniine en 12 c. c. de liq. physiol.

Avant l'inj.: Press. 38 mm, pouls 60, ampl. 15, coag. en 18 min.

Aussitôt la pression monte à 110 pour 10 secondes et retombe à 90

2 min.	après:	Press. 83 mm	Pouls 76	Ampl. 12	Coag. en 15 min.
4 "	" "	" 87 "	" 84 "	" 9 "	" 8 "
8 "	" "	" 50 "	" 130 "	" 2,5 "	" " 1 ¹ / ₂ hr.
21 "	" "	" — "	" — "	" — "	" " 1 ³ / ₄ "
44 "	" "	" 53 "	" 86 "	" 8 "	Incoagulable
1 heure	" "	" — "	" — "	" — "	Coag. en 1 heure
1 ¹ / ₂ heure	" "	" — "	" — "	" — "	" " 40 min.
2 hrs.	" "	" 62 "	" 104 "	" 10 "	" " 10 "
2 " 5 min.	" "	" 63 "	" — "	" — "	" " 3 "
2 " 20 "	" "	" — "	" — "	" — "	" " 6 "
2 " 40 "	" "	" 58 "	" 104 "	" 4 "	" " 6 "

Les diverses courbes obtenues avec la coniine montrent qu'une dose faible développe une action thromboplastique, laquelle est suivie d'une phase antithrombique peu accusée. Avec une dose plus forte la phase antithrombique devient très manifeste, et nous retrouvons tous les éléments des courbes sur lesquelles nous avons appelé l'attention dans notre travail antérieur (Bd. 15, p. 200). Enfin avec une très forte dose on provoque une phase thromboplastique très violente et très rapide, à laquelle l'animal succombe par choc.

Les courbes sont donc tout à fait semblables à celles que nous avons obtenues avec des toxines et des venins, et avec des protéines.

X. Alcool éthylique.

Lapin 26 de 2 kgr., reçoit 5 c. c. d'alcool à 94°, soit 4.7 gr. d'alcool en 5 c. c. de liquide, soit dilué à 47 %.

Avant l'injection Press. 55 mm Coag. en 10 min.

30 sec. après " 10 " " " 1¹/₂ " L'animal succombe

Lapin 27, de 2 kgr., reçoit 2 c. c. d'alcool à 94°, soit 1.18 gr. en 6 c. c. de liq. physiol., soit dilué à 23.5 %.

Avant l'inj.: Press. 52 mm, coag. en 13 min.

Aussitôt pendant l'injection la pression tombe à 28

20 sec.	après: Press. 65 mm	Coag. en — min.	Oscill. resp. fortes, pouls accél.
2 min.	„ „ 60 „	„ „ 2 hrs.	
4 „	„ „ 50 „	„ „ 40 min.	
9 „	„ „ 48 „	„ „ 5 „	Oscill. resp. moindres
11 ¹ / ₂ „	„ „ 46 „	„ „ 1 ¹ / ₂ „	Oscill. resp. très petites
15 „	„ „ 50 „	„ „ 1 „	
17 „	„ brusque chute 40	„ „ — „	
17 ¹ / ₂ „	après: Press. 62 „	„ „ — „	
22 „	„ „ 53 „	„ „ 25 „	Oscill. resp. grandes
32 „	„ hausse 73 „	pendant 10 sec.,	puis chute rapide
33 „	„ Press. 49 „	Coag. en 12 min.	Oscill. resp. plus petites, mais pouls fort
44 „	„ „ 51 „	„ „ 5 „	
56 „	„ „ 57 „	„ „ 1 „	
57 „	„ hausse 66 „	pendant 15 sec.,	puis chute rapide à 56
67 „	„ Press. 52 „	Coag. en 12 min.	

XI. Saccharose.

Chien 28, de 5 kgr., reçoit, après avoir subi une saignée de 25 c. c., une injection intraveineuse de 55 c. c. d'une solution isotonique de saccharose (c'est à dire à 7.8 gr. % dans l'eau distillée), soit 4.3 gr. en tout et 0.8 gr. par kgr. d'animal.

Avant l'inj.:	Press. 48 mm	Pouls 100	Ampl. 2 mm	Coag. en 20 min.
30 sec. après:	„ 35 „	„ — „	„ — „	„ — „
40 „	„ 35 „	Pouls 90	Ampl. 4 mm	Coag. en — min.
1 ¹ / ₂ min.	„ 50 „	„ 150	„ 5 „	„ 4 „
5 ¹ / ₂ „	„ 53 „	„ — „	„ — „	„ 4 „
10 „	„ — „	„ — „	„ — „	„ 2 „
17 „	„ 51 „	„ — „	„ — „	„ 3 „
19 „	„ — „	„ — „	„ — „	„ 1 „
27 „	„ 50 „	„ 130	„ 4 „	„ 5 „
60 „	„ 47 „	„ 130	„ 3 „	„ 10 „

Chien 29, de 5 kgr., reçoit 40 c. c. d'une solution de saccharose à 17 %, soit hypertonique du double. Cette dose correspond à 6 gr. en tout, et 1.2 gr. par kgr. d'animal.

Avant l'inj.:	Press. 46 mm	Pouls 94	Ampl. 6 mm	Coag. en 30 min.
19 sec. après:	„ 35 „	„ — „	„ — „	„ — „
40 „	„ 41 „	„ 88	„ 8 „	„ 2 hrs.
2 ¹ / ₂ min.	„ 41 „	„ 78	„ 8 „	„ 1 ¹ / ₂ „
4 ¹ / ₂ „	„ 45 „	„ 70	„ 9 „	„ 20 min.
18 „	„ — „	„ — „	„ — „	„ 7 „
28 „	„ 41 „	„ — „	„ — „	„ 2 „
36 „	„ 43 „	„ 52	„ 12 „	„ imméd.
36 „	„ 38 „	„ 52	„ 6 „	„ en 1 min.
52 „	„ 43 „	„ 56	„ 10 „	„ 6 „
62 „	„ 43 „	„ — „	„ — „	„ 8 „
73 „	„ 45 „	„ 72	„ 6 „	„ 7 „
83 „	„ 50 „	„ — „	„ — „	„ 4 „
88 „	„ 54 „	„ — „	„ — „	„ 1 ¹ / ₂ „
95 „	„ 50 „	„ — „	„ — „	„ 11 „

Comme on le voit, la saccharose a surtout une action thromboplastique.

Dans la seconde expérience la solution injectée est bien plus fortement hypertonique que dans aucune des expériences qui ont précédé. Cette hypertonie ne parait pas provoquer de symptômes bien spéciaux; le ralentissement du pouls ainsi que le renforcement de son amplitude ne peuvent être attribués à l'hypertonie puisque on la retrouve partiellement dans l'expérience où la solution employée est exactement isotonique, mais où la dose est plus faible.

XII. Huile d'olive.

Chien, de 4 kgr., reçoit 1,5 gr. d'huile d'olives émulsionnés dans 25 c.c. de liquide physiologique, à l'aide de 0.01 gr. de savon sodique.

Avant l'inj.: Press. 47 mm, pouls 46, ampl. 25 mm, coag. en 30 min.

Aussitôt après: Courte chute à 36 mm pendant 15 sec.

Temps	Press.	Pouls	Ampl.	Coag.
1 $\frac{1}{2}$ min.	49 mm	48	25 mm	en 10 min.
4 "	49 "	44 "	25 "	13 "
9 "	50 "	42 "	30 "	20 "
16 "	—	—	—	1 $\frac{1}{2}$ heure
24 "	—	—	—	7 min.
25 "	Courte chute à 35 mm pendant 15 sec.			
27 "	49 mm	46	30 mm	45 "
30 "	Seconde injection pareille à la première			
32 "	—	—	—	4 "
33 "	Courte chute à 35 mm pendant 10 sec.			
38 "	—	—	—	10 "
47 "	43 mm	36	55 mm	10 "

Chien, de 5 kgr., reçoit 5 c.c. d'huile d'olives émulsionnés dans 25 c.c. de liquide physiologique à l'aide de 0.02 gr. de savon sodique.

Avant l'inj.: Press. 35 mm, Pouls 56, Ampl. 12 mm, Coag. en 20 min.

Temps	Press.	Pouls	Ampl.	Coag.
4 min. après:	36 "	50 "	16 "	2 hrs.
7 "	36 "	40 "	20 "	1 h.
16 "	—	—	—	2 hrs.
31 "	—	—	—	1 $\frac{1}{2}$ h.
46 "	35 "	40 "	18 "	2 hrs.
1 h. 13 min.	37 "	58 "	13 "	Incoagulable
1 " 26 "	—	—	—	Coag. en 2 hrs.
1 " 49 "	34 "	60 "	13 "	2 min.
2 hrs.	34 "	très rapide et très faible		immédiate
2 " 7 m.	34 "	Pouls 130	Ampl. 3 mm	en 15 min.
2 " 15 "	—	—	—	40 "

Courbes voir p. 326—327.

Les temps des prises de sang sont indiqués suivant les abscisses; les temps de coagulation suivant les ordonnés.

La courbe pointillée indique la pression sanguine correspondante.

L'amplitude des oscillations de second ordre de nos tracés (amplitude respiratoire et concurremment des pulsations) est indiquée schématiquement par des lignes marquées R.

Les taches noires sous les courbes de la conïne, renseignent le degré de veinosité du sang, conséquemment l'intensité de l'intoxication.

Les traits indiqués par C, sous la courbe du lapin 10 représentent les moments où l'animal présentait des convulsions, ainsi que leur intensité.

On voit par les deux courbes de l'antipyrine, obtenues avec la même dose, que le temps de coagulation chez l'animal avant l'expérience influence la courbe en ce sens que dans le second cas la courbe de l'antipyrine s'est superposée à une courbe à oscillations assez grandes, qui se déroulait chez l'animal considéré comme normal: il se trouvait à une phase thromboplastique qui allait être suivie d'une phase anti-thrombique, laquelle a contrarié la première phase thromboplastique de l'injection d'antipyrine.

Comme nous l'avons fait remarquer à propos de la coniïne, les courbes données par cette substance, tout comme celles du salvarsan, du chlorhydrate de quinine etc., montrent que des doses faibles sont déjà thromboplastiques, mais faiblement. Elles excitent donc très peu la sécrétion d'antithrombine, qui d'ailleurs ne se traduit que par des inflexions faibles de la courbe de coagulation.

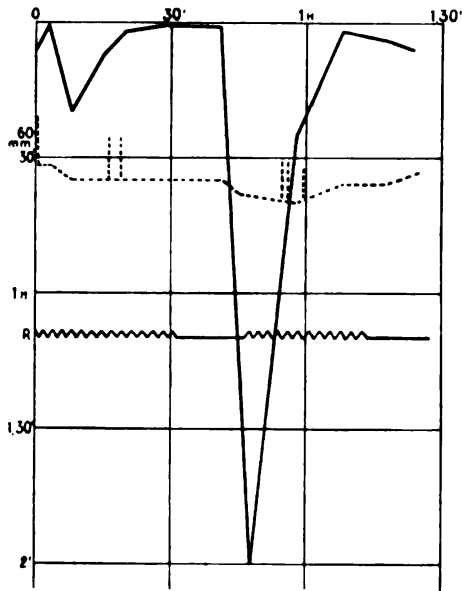
Avec des doses plus fortes les deux phases sont nettes et on retrouve dans les courbes obtenues tous les éléments à l'étude desquels nous nous sommes appliqués dans plusieurs de nos travaux.

Avec des doses très fortes on observe une action thromboplastique intense et rapide, à laquelle l'animal succombe par choc.

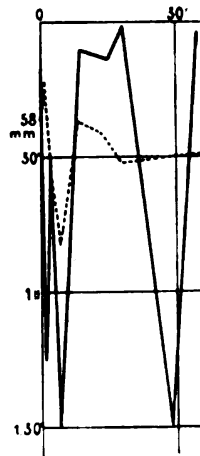
Afin de ne pas encombrer nos protocoles, nous avons laissé de côté les expériences où les doses étaient trop fortes, et par conséquent l'action thromboplastique tellement intense qu'elle était immédiatement mortelle.

Rappelons enfin que l'addition de lécithine à la coniïne, comme nous le savons, par un travail antérieur sur l'influence des lipoïdes sur les alcaloïdes, ralentit et diminue l'effet toxique; dans les présentes courbes cette intervention se traduit très nettement.

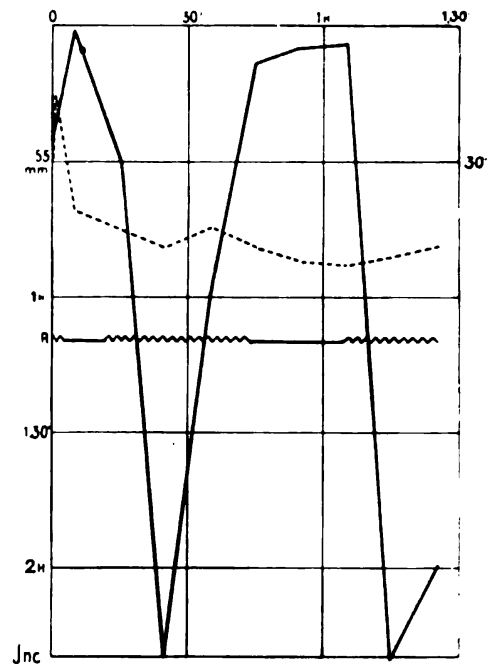
Toutes ces substances possèdent donc la fonction thromboplastique, soit que cette fonction s'exerce par une combinaison directe, soit qu'elle doive se faire par l'intermédiaire de lipoïdes ou d'autres dissolvants communs.



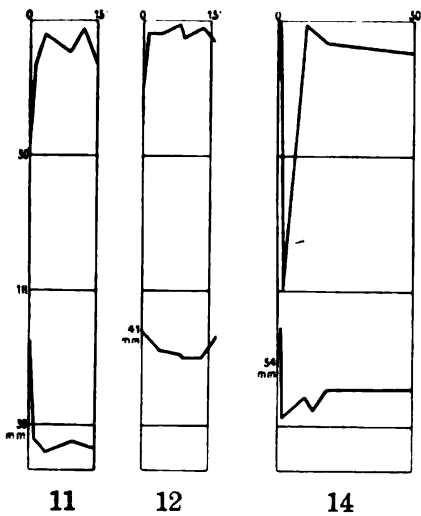
Lapin 1.
Electrargol Clin 2.5 c. c.



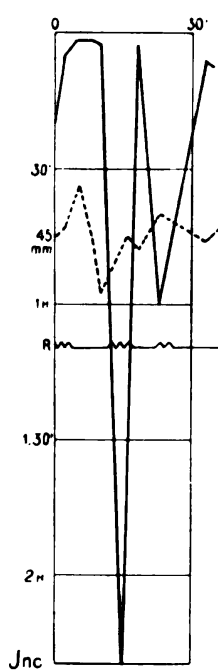
Lapin 3.
Acide chlorhydrique 0.03 gr.



Lapin 6.
Iodure de Potassium 0.025 gr.



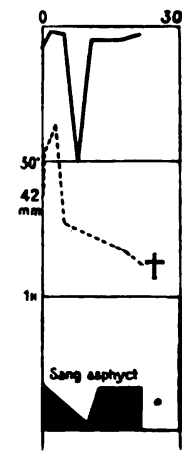
Lapins. Salvarsan 0.05 gr.
11 et 12. Solution neutre,
14. Solution acide.



Lapin 17.
Atoxyl 0.05 gr.

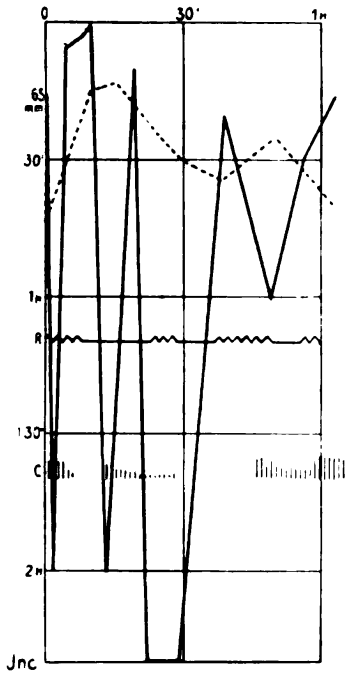


Lapin 20.

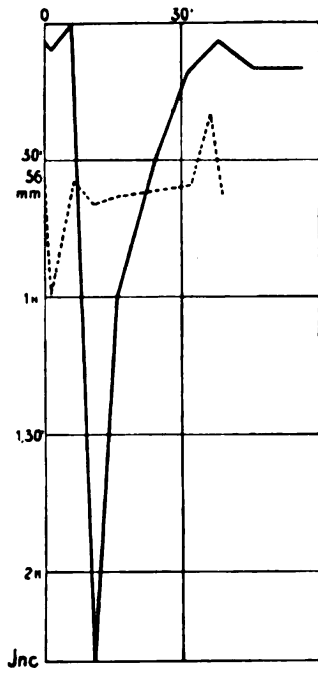


Lapin 22.

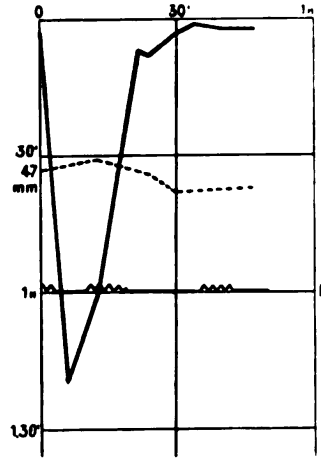
Lapins. Coniine.
20. 0.01 gr. 22. 0.02 gr.



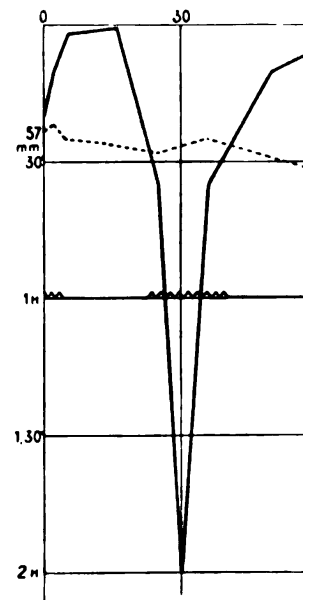
Lapin 10.
Chlorhydrate de Cocaïne
0.015 gr.



Lapin 9.
Chlorhydrate de Quinine
0.025 gr.

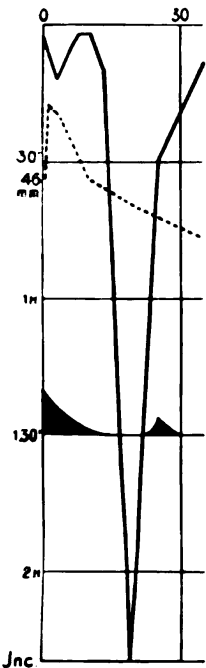


(Sang normalement
très coagulable avant
l'injection.)

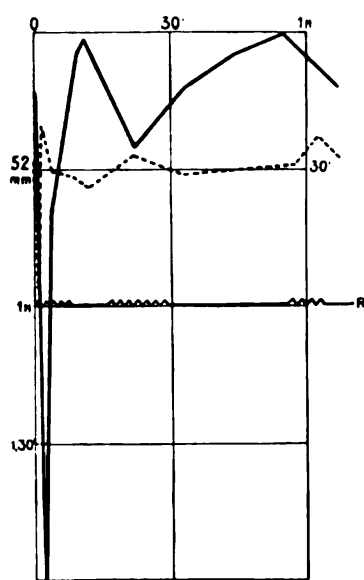


(Sang normalement
peu coagulable avant
l'injection.)

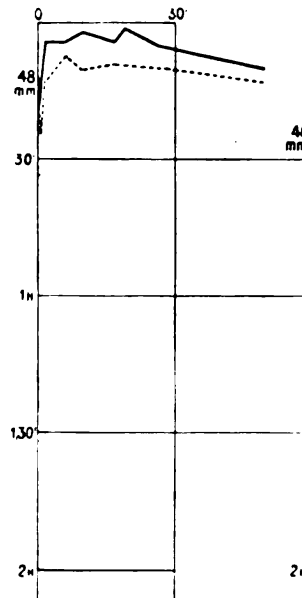
Lapin 18 et 19. Antipyrine 0.025 gr.



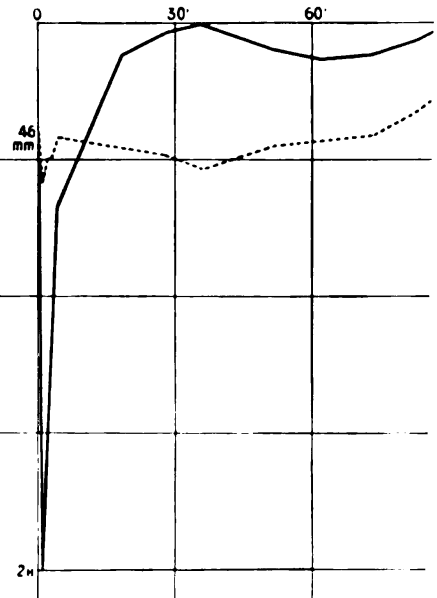
Lapin 23.
Coniine 0.02 +
lécithine 0.05 gr.



Lapin 27.
Alcool éthylique 1.18 gr.



Chien 28.
Saccharose 0.8 gr. pro kgr.
Solution isotonique.



Chien 29.
Saccharose 1.2 gr. pro kgr
Solution hypertonique.

Sans essayer pour le moment d'élucider le mécanisme chimique intime de cette action, nous la considérons comme suffisamment caractérisée par la constatation que le sang devient plus coagulable.

A tout trouble de l'équilibre des colloïdes plasmatiques, dans le sens d'une augmentation de la coagulabilité, l'organisme répond par une sécrétion d'antithrombine. Cette sécrétion est caractérisée par le fait qu'il suffit d'ajouter de ce sang riche en antithrombine à du sang frais à parties égales, pour rendre ce sang frais incoagulable ou tout au moins retarder notablement son temps de coagulation: nous avons fréquemment, au cours de ces expériences, pratiqué ce contrôle.

Cette sécrétion d'antithrombine est, dans ses grandes lignes, proportionnelle à l'intensité de la phase thromboplastique qui l'a précédée.

Avec les substances bien actives ces phases thromboplastique et antithrombique se succèdent assez rapidement et se répètent ensuite en donnant les courbes oscillantes sur lesquelles nous avons appelé l'attention. Il suffit que ces oscillations soient assez fortes et assez rapprochées pour que l'on puisse les observer.

Les quelques courbes que nous donnons ici, et qui résument certaines des expériences décrites plus haut, montrent toute l'identité du phénomène avec celui que nous avons appris à connaître pour les protéines.

Seulement ces substances sont directement actives, tandis que les protéines, si inattendu que cela puisse paraître, le sont très peu, à moins bien entendu de se trouver dans les conditions favorables, c. à. d. quand elles trouvent l'intermédiaire obligé que nos recherches antérieures ont appris à connaître.

La marche du phénomène observé avec ces diverses substances répond exactement au programme que nous y avons démêlé et que nous avons formulé dans notre note: «Sur les rapports entre la coagulabilité du sang et la pression sanguine dans l'anaphylaxie», paru dans cette revue (Bd. 16, p. 318).

La pression sanguine suit la courbe de la coagulabilité: elle baisse quand la coagulabilité est forte et qu'il se produit des précipitations thromboplastiques pariétales et des vaso-

dilatations. La pression remonte quand la sécrétion d'antithrombine a libéré les parois vasculaires.

Mais bientôt l'action thromboplastique prédomine de nouveau et ainsi de suite.

Parfois, et ce surtout quand la sécrétion d'antithrombine est brusque, la courbe de pression ne remonte pas aussi vite que celle de la coagulabilité.

Enfin, en présence de la généralité absolue du phénomène, il est évident que constamment il doit se produire et se déverser dans le sang des substances qui provoquent à un degré plus ou moins fort des oscillations que l'on pourrait appeler normales du délai de coagulation.

L'expérience que l'on fait introduit un nouveau facteur qui va provoquer de nouvelles oscillations. Si la dose n'est pas forte, où si à ce moment l'animal se trouve avoir son sang riche en antithrombine, la courbe que l'on pourrait appeler normale peut influencer et altérer la courbe que l'on attend du fait de l'injection expérimentale.

C'est ainsi que pratiquement l'anesthésie et plus spécialement la morphinisation des chiens en expérience peuvent, par les oscillations propres qu'elles déterminent, avoir une certaine répercussion sur les résultats de l'injection expérimentale qui suit. Il faut donc morphiner au moins une heure à l'avance, afin que les oscillations dues à la morphine soient déjà devenues faibles.

C'est en raison de ces faits que nous avons surtout employé des lapins pour les recherches qui précèdent.

Malheureusement, en raison de sa petite taille, après une série de prises de sang, cet animal ne se prête pas bien à rechercher si une première injection d'une des substances quelconques dont il est question, développe un état analogue à l'immunité propeptonique.

Il est cependant probable qu'il en est ainsi. Nous savons que pour les protéines cette immunité dite propeptonique dépend de la richesse du sang en antithrombine. Ici aussi nous savons qu'il existe des périodes analogues mais courtes, qui doivent sûrement se traduire par une résistance augmentée vis à vis de l'action thromboplastique d'une nouvelle injection.

D'ailleurs on trouve dans la bibliographie des indications précieuses à cet égard: elles ont été obtenues avec des métaux colloïdaux par Foà e Aggazzotti: Ces auteurs démontrent que l'argent colloïdal à petits grains injecté à des chiens provoque une chute de la pression, puis retour à la normale; pendant cette période il existe un état d'immunité qui fait qu'une nouvelle injection ne produit plus de chute de la pression. Cette immunité due à l'argent, qui est électronégatif, s'étend même à l'arsenic colloïdal, qui est également électronégatif, mais pas au fer colloïdal, qui est électropositif; cette immunité est très courte et passagère.

Bref., la fonction thromboplastique est générale et commune à toutes les substances. Elle est suivie d'une sécrétion d'antithrombine, et l'ensemble du phénomène se traduit par une courbe oscillante analogue à celle que nous avons pu démontrer pour les protéines, les toxines, les venins, les extraits d'organes.

Peut-on, parce que toutes ces substances développent cette action thromboplastique parler encore dans ces cas de syndrome anaphylactique et rendre en quelque sorte ce mot synonyme d'action thromboplastique. Elargir ce concept à ce point serait, nous semble-t-il, lui faire perdre toute son utilité.

Il y a au contraire tout avantage à lui maintenir sa signification première, précisée de la façon suivante.

Tandis que d'une part les substances chimiques employées dans les recherches qui précèdent et qui peuvent se combiner avec le plasma sanguin développent une activité immédiate (IK, Ag colloïdal, antipyrine, alcaloïdes et leurs sels etc., puis les toxines, les venins¹), on voit d'autre part que les protéines n'ont qu'un faible pouvoir thromboplastique et qu'elles ne troublent que lentement l'équilibre colloïdal du plasma, à moins de trouver des conditions particulièrement favorables,

1) Même les symptômes anaphylactiques obtenus par Richet avec la congestine sont à séparer des manifestations toxiques proprement dites et reposent sur le mélange intime de ces produits toxiques avec des protéines (E. Pick).

en l'espèce les intermédiaires obligés que nous leur avons reconnus, sous la forme d'acides aminés spécifiques.

C'est cette sensibilisation spécifique due à la présence de ces intermédiaires qui crée l'anaphylaxie: toutes les substances sont thromboplastique mais l'anaphylaxie n'existe que pour les protéines (ou éventuellement d'autres substances) qui ont besoin d'intermédiaires spécifiques pour se combiner facilement et vite au plasma sanguin.

Ainsi limité, le concept « anaphylaxie » conserve toute son utilité, il désigne des circonstances spéciales, surtout importantes par le rôle énorme qui est dévolu aux protéines dans les phénomènes vitaux.

Nous avons vu que cet état peut être réalisé par:

- 1) l'alimentation, c'est l'anaphylaxie naturelle vis à vis des protéines alimentaires;
- 2) les sécrétions et les matériaux d'usure des tissus: c'est l'anaphylaxie naturelle vis à vis des extraits d'organes;
- 3) par les produits des parasites: c'est l'anaphylaxie antimicrobienne etc.;
- 4) par toutes sortes de protéines injectées expérimentalement.

Les rapports entre cet état et l'immunité feront l'objet de recherches ultérieures.

Zusammenfassung.

I. Jede beliebige Substanz, welche in das Blutplasma hineingebracht wird und sich dort zu verbinden fähig ist, wirkt thromboplastisch. Auf diese thromboplastische Phase folgt eine antithrombische usw. Die ganze Erscheinung läßt sich durch Kurven darstellen, welche die vollste Aehnlichkeit besitzen mit den schon in einer vorigen Arbeit von mir beschriebenen (für Proteine, Toxine, Schlangengifte, Organextrakte).

Eine zu geringe Dosis wirkt thromboplastisch, ruft aber nur eine geringe Antithrombinsekretion hervor. Eine zu große Dosis dagegen wirkt so heftig und so schnell thromboplastisch, daß das Tier an dem Iktus akut zugrunde geht.

II. Obwohl die thromboplastische Wirkung dieser Substanzen das anaphylaktische Syndrom nachahmt, ist man nicht berechtigt, das Wort „Anaphylaxie“ hier anzuwenden. Denn diese Substanzen verbinden sich direkt, während die Proteine nur sehr wenig wirksam sind, und zur Entfaltung ihrer Wirkung das Vorhandensein eines spezifischen Zwischenkörpers (Aminosäure) vorzufinden brauchen, wie wir schon früher gezeigt haben.

Gerade in dessen Bestehen oder dessen Hervortreten im Organismus besteht der „status anaphylacticus“.

III. Dieser Status anaphylacticus ist äußerst wichtig durch die enorm große Rolle, welche die Proteine in den Lebensprozessen spielen.

Er ist bekanntlich hervorgerufen durch:

1) die Ernährung: natürliche Anaphylaxie gegen die verschiedenen Nahrungsproteine, welche das betreffende Tier gewöhnlicherweise zu sich nimmt;

2) die Sekretions- resp. die Abbauprodukte der Gewebe: das ist unter anderen die Anaphylaxie gegen Gewebsextrakte und gegen die Kenotoxine Weichardts;

3) parasitäre Produkte: natürliche oder pathologische Anaphylaxie gegen Bakterienprodukte usw.;

4) allerhand Proteine, welche experimentell angewandt werden: experimentelle Anaphylaxie.

Bibliographie.

Foà et Aggazotti, Ueber die physiologische Wirkung der kolloidalen Metalle. Biochem. Zeitschr., Bd. 19, 1909.

Feinschmidt, Biochem. Zeitschr., Bd. 38, 1912.

Nos travaux dans cette revue: Sur les alcaloïdes, Bd. 3, 1909; Sur l'anaphylaxie, Bd. 13, 1912, Bd. 15, 1912, Bd. 16, 1913.

Nachdruck verboten.

[Institut de Bactériologie de Louvain (Directeur Prof. J. Denys).
Laboratoire du Prof. R. Bruynoghe.]

Contribution à l'étude de l'anaphylaxie.

Par le Dr. A. Bessemans.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Januar 1913.)

Dans ces dernières années, on s'est efforcé de faire rentrer le phénomène de l'anaphylaxie dans le groupe des réactions complexes de l'immunité.

A la suite d'intéressantes recherches sur la production, par injection de sérums normaux, d'anticorps capables de favoriser l'hémolyse¹⁾ et la cytolyse²⁾, Friedberger et ses élèves furent frappés de l'analogie qui semblait exister entre leurs expériences et l'hypersensibilité. Cet auteur³⁾ en vint bientôt à considérer l'anaphylaxie comme un cas particulier des réactions albumino-antialbuminoïdes: ce serait une combinaison *in vivo*, possible aussi *in vitro*, de l'antigène à l'anticorps spécifiques avec participation plus ou moins active du complément.

Vers la même époque parurent les recherches de Sleeswijk⁴⁾ entreprises, à l'Institut Pasteur, indépendamment des travaux précités. Chez le cobaye activement anaphylactisé avec du sérum de cheval, l'auteur mit en évidence une diminution du complément après la seconde injection provocatrice du choc. Cette réduction de l'alexine ne serait décelable que plusieurs minutes après l'injection massive pour atteindre son maximum au bout d' $\frac{1}{2}$ heure environ; commencée *in vivo*, elle peut continuer à se faire *in vitro*.

La théorie nouvelle sur l'hypersensibilité ne tarda pas à trouver de nouveaux appuis dans les travaux de Doerr et Russ⁵⁾, Braun⁶⁾ et autres.

La diminution du complément durant la crise anaphylactique avait déjà été signalée par Michaelis et Fleischmann⁷⁾, travaillant sur des lapins hypersensibilisés avec du sérum de bœuf; toutefois, les recherches d'Otto⁸⁾ avaient nié le fait.

1) Friedberger und Moreschi, *Centralbl. f. Bakt., Abt. II*, Bd. 45, 1907, p. 346.

2) Friedberger und Bezzola, *ibid.*, Bd. 46, p. 412.

3) Friedberger, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 2, 1909, H. 2, p. 208; *ibid.*, Bd. 3, 1909, H. 7, p. 692.

4) Sleeswijk, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 2, 1909, H. 2, p. 133.

5) Doerr und Russ, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 3, H. 2, p. 181; H. 7, p. 706.

6) Braun, *Münch. med. Wochenschr.*, 1909, No. 37.

7) Michaelis und Fleischmann, *Med. Klin.*, 1906, No. 21.

8) Otto, *Münch. med. Wochenschr.*, 1907, No. 34, p. 1665.

Friedemann¹⁾, plus tard, s'occupa spécialement de l'anaphylaxie passive; il put constater aussi une réduction de l'alexine durant le choc.

Vinrent ensuite les travaux complémentaires de Friedberger et de ses collaborateurs: expérimentant avec toutes les mesures de précaution désirables, ils²⁾ constatèrent une diminution constante de l'alexine, dès le début de la symptomatologie morbide. Des recherches ultérieures³⁾ confirmèrent le fait pour les formes les plus variables de l'anaphylaxie.

D'autres auteurs encore aboutirent aux mêmes conclusions; citons notamment les expériences de Doerr et Moldovan⁴⁾, puis celles, plus récentes, de Bächer et Wakushima⁵⁾.

Le phénomène en cause suscita cependant des controverses, surtout au point de vue de son interprétation. Nous ne voulons pas nous attarder à ces longues discussions, auxquelles surtout Kraus et Friedberger prirent une part active: elles n'offrent, au point de vue du présent travail, aucun intérêt particulier. A noter cependant les recherches récentes de Busson et Takahashi⁶⁾, d'accord avec les résultats antérieures d'Otto et de Tsuru: les auteurs n'admettent pas comme phénomène constant la réduction du complément et la considèrent comme nullement essentielle ni caractéristique du choc.

Nous avons, dans nos recherches, repris la question; toutefois, nous l'avons étudiée à un point de vue nouveau, du moins à notre connaissance. Voici ce que nous avons tâché d'éclaircir: au cas où il existe réellement une réduction de l'alexine durant le choc anaphylactique, faut-il l'attribuer à une diminution de l'Endstück, à une diminution du Mittelstück ou à une diminution simultanée des deux constituants du complément?

Pour la technique employé dans la réaction hémolytique et la division de l'alexine, se rapporter à notre communication antérieure parue dans cette revue-même⁷⁾; de même que le premier, le présent travail ne concerne que le cobaye et n'étudie le complément qu'au point de vue de l'hémolyse.

1) Friedemann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, p. 591.

2) Friedberger und Hartoch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, H. 6, p. 581.

3) Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1910, H. 5, p. 635.

4) Doerr und Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, H. 2/3, p. 161; Bd. 7, 1910, p. 223.

5) Bächer und Wakushima, Centralbl. f. Bakt., Bd. 61, 1911, H. 3, p. 238.

6) Busson und Takahashi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, H. 1/3, p. 146.

7) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, 1913, H. 1.

Voici, d'une façon générale, notre façon d'expérimenter : ayant, depuis plusieurs semaines, hypersensibilisé des animaux au moyen d'une injection sous-cutanée de sérum de cheval à faible dose, nous leur soustrayons une quantité minimale de sang en leur ouvrant une des petites veines superficielles du cou ; cette quantité ne dépasse jamais 2 c.c. Après avoir soigneusement recousu la petite plaie et assuré une hémostase aussi parfaite que possible, nous attendons quelques minutes pour nous assurer que l'animal ne présente aucun phénomène morbide. Nous lui injectons alors dans la cavité péritonéale, à l'aide d'une aiguille mousse, une dose massive de sérum variant de 2 à 5 c.c.¹⁾. L'animal est observé ; l'on note le moment exact de l'injection ainsi que tous les symptômes d'anaphylaxie qui se présentent. A un moment donné, variable d'après l'intensité du choc, on prélève, une seconde fois, une petite quantité de sang et on referme la plaie. Au cas où l'animal succombe, visiblement à la suite de l'intoxication anaphylactique, nous faisons son autopsie en nous assurant encore que la mort n'est pas la suite d'une hémorragie éventuelle dans le tissu cellulaire du cou ; dans quelques cas, nous avons enfoncé une aiguille dans la cœur mis à nu et nous avons aspiré dans une seringue stérile tout le sang qu'il contenait encore.

Nous avons de la sorte du même animal tantôt 2 tantôt 3 échantillons de sang qui seront soumis en même temps à l'analyse.

Pour éviter toute cause d'erreur, nous faisons subir les mêmes opérations à un animal témoin c'est-à-dire non encore employé ; même nous lui injectons dans la cavité péritonéale une quantité plus grande de sérum identique à celui injecté au cobaye hypersensible.

Quant à l'analyse des divers échantillons prélevés, nous les conservons à la glacière, laissant le caillot se rétracter durant un temps variable ne dépassant jamais 24 heures. Nous décantons alors le sérum surnageant²⁾ et dosons tout

1) Quelquefois nous avons fait l'injection massive sous la peau.

2) Remarquons, en passant, que le fait suivant, déjà signalé par Friedberger et Sleeswijk, nous a toujours frappé : le sérum sanguin

d'abord son activité au point de vue hémolytique. Ensuite nous le soumettons à la séparation et nous déterminons, comme suit, l'activité de ses deux constituants: après avoir divisé un sérum frais, de force connue par un dosage préalable, nous en prenons des doses constantes de M et d'E pour y ajouter des quantités décroissantes d'E et de M des sérums à examiner.

De même que dans notre travail antérieur, nous avons soin de vérifier chaque séparation en faisant pour chaque E et chaque M un tube contrôle renfermant le double de la dose maximale employée.

Prenons aussitôt un exemple, d'abord d'un cobaye anaphylactisé, ensuite d'un animal témoin.

Cobaye I. Histoire.

Poids: 350 gr. Injecté la 1^{re} fois, sous la peau, avec $\frac{1}{200}$ c. c. de sérum de cheval.

25 jours d'attente.

Temp.: avant la 1^{re} saignée 38.4° (temp. rectale). On lui prélève environ $1\frac{1}{2}$ à 2 c. c. de sang. Après 10 min. on lui injecte 2 c. c. de sérum de la cavité péritonéale.

La 7^e min. après cette injection: l'animal se gratte.

Puis présente de l'inquiétude, du hoquet, des contractions expiratoires cloniques.

La 15^e min.: troubles respiratoires intenses. Puis semble se remettre.

La 30^e min.: le grattage recommence, la dyspnée reprend.

De nouveau une courte période d'accalmie. Temp. à ce moment: 35.4°.

La 70^e min.: crise convulsive; thermomètre n'atteint pas 35.

La 100^e min.: on fait une 2^e saignée.

La 110^e min.: dyspnée devient intense; expiration impossible; apnée; mort.

Autopsie: poumons, fortement insufflés, ne reviennent guère sur eux-mêmes. Pâles.

Pas de liquide dans le péritoine.

Pas d'hémorragie au niveau de la plaie. On fait la ponction du cœur à découvert. Le sang est conservé à la glacière durant 20 h. environ¹⁾.

prélevé pendant le choc est plus rouge que celui prélevé avant l'injection massive. Nous ne faisons que noter le phénomène sans chercher à l'interpréter.

1) Nous ajoutons ce détail parce que la plupart des auteurs, entre autres Friedberger et Sleswijk, ont constaté que la réduction de l'alexine commencée in vivo continue ultérieurement à se faire in vitro. Le moment de l'examen a donc son importance.

Dosage des alexines non encore divisées.

Sérum avant choc	Sérum durant choc	Sérum du cœur
$\frac{1}{10}$ c ¹⁾	$\frac{1}{10}$ c	$\frac{1}{10}$ c
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{30}$ bon I	$\frac{1}{30}$ c
$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{40}$ I	$\frac{1}{40}$ I
$\frac{1}{80}$ c	$\frac{1}{60}$ O	$\frac{1}{60}$ peu
$\frac{1}{100}$ p c	$\frac{1}{80}$ O	$\frac{1}{80}$ O
$\frac{1}{160}$ peu	$\frac{1}{100}$ O	$\frac{1}{100}$ O
	$\frac{1}{160}$ O	$\frac{1}{160}$ O

Dosage des constituants.

a) De leur Endstück.

Dose constante de M frais employée: $\frac{1}{40}$).

Doses décroissantes de:

E avant choc	E durant choc	E du cœur
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c
$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ c
$\frac{1}{80}$ c	$\frac{1}{80}$ I	$\frac{1}{80}$ I
$\frac{1}{100}$ pc	$\frac{1}{80}$ I	$\frac{1}{100}$ I
$\frac{1}{160}$ tr	$\frac{1}{160}$ peu	$\frac{1}{100}$ tr
$\frac{1}{200}$ O	$\frac{1}{180}$?	$\frac{1}{160}$ O
	$\frac{1}{200}$ O	$\frac{1}{200}$ O
Témoins:	Témoin: E id. seul	Témoin: E id. seul
E id. seul $\frac{1}{10}$ O	$\frac{1}{10}$ O	$\frac{1}{10}$ O
M frais seul $\frac{1}{20}$ O		

b) De leur Mittelstück.

Dose constante d'E frais employée: $\frac{1}{40}$.

Doses décroissantes de:

M avant choc	M durant choc	M du cœur
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c
$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ bon I	$\frac{1}{60}$ bon I
$\frac{1}{100}$ c	$\frac{1}{100}$ peu	$\frac{1}{60}$ I
$\frac{1}{140}$ c	$\frac{1}{100}$ tr	$\frac{1}{100}$ peu
$\frac{1}{160}$ c	$\frac{1}{140}$?	$\frac{1}{140}$ peu
$\frac{1}{200}$ I	$\frac{1}{160}$?	$\frac{1}{160}$ tr
$\frac{1}{280}$ peu	$\frac{1}{200}$ O	$\frac{1}{200}$ O
$\frac{1}{360}$?	$\frac{1}{280}$ O	$\frac{1}{280}$ O
	$\frac{1}{360}$ O	$\frac{1}{360}$ O
Témoins:	Témoin: M id. seul	Témoin: M id. seul
M id. seul $\frac{1}{10}$ O	$\frac{1}{10}$ O	$\frac{1}{10}$ O
E frais seul $\frac{1}{20}$ O		

1) Nous indiquons simplement, en c. c., la quantité employée. Les signes conventionnels de l'hémolyse sont les mêmes que dans notre communication antérieure.

2) Le sérum frais dont le M et l'E ont servi de constantes avait comme activité $\frac{1}{80}$ c, $\frac{1}{100}$ pc, $\frac{1}{160}$ tr.

Si nous examinons le dosage des alexines avant leur séparation nous constatons que l'activité hémolytique du complément est descendue de $\frac{1}{80}$ à $\frac{1}{30}$ après un choc de $1\frac{1}{2}$ h. environ; que cette réduction du complément est encore sensiblement la même ($\frac{1}{40}$) dans le sang prélevé après la mort de l'animal.

Le tableau du dosage des constituants est plus intéressant. Il nous montre en effet que la diminution de l'alexine concerne surtout le M; celui-ci en effet perd de son activité du $\frac{1}{160}$ au $\frac{1}{40}$ tandis que l'E ne saute que du $\frac{1}{80}$ au $\frac{1}{60}$.

Avant de reprendre une expérience semblable, il importe de faire suivre les mêmes tableaux concernant un cobaye témoin. Une objection en effet se présente d'elle-même: les diminutions constatées ne sont-elles pas la conséquence tout d'abord de la saignée ensuite de la résorption du liquide injecté, résorption qui doit être d'autant plus active que l'animal vient de perdre une certaine quantité de sang.

Nous choisissons à dessein un cobaye de même poids auquel nous avons injecté, à peu près dans des conditions identiques, 3 fois plus de liquide c'est à dire 6 c. c. de sérum dans la cavité péritonéale.

Cobaye II. Histoire.

Poids: 350 gr. N'a jamais été injecté.

Temp.: avant la 4^e saignée 38.9°.

On lui prélève environ $1\frac{1}{2}$ à 2 c. c. de sang. Après 15 min. on lui injecte 6 c. c. de sérum dans la cavité péritonéale. L'animal ne présente aucun phénomène morbide.

Temp.: prise la 20^e min. après l'injection: 38.3°.

La 30^e min.: l'animal est saigné une 2^e fois. Il se remet complètement.

Le sang est conservé à la glacière durant 20 h.

Dosage des alexines non encore divisées.

Avant l'injection		Après l'injection	
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{100}$ peu	$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{100}$ tr
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{140}$ 0	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{140}$ 0
$\frac{1}{60}$ pc	$\frac{1}{180}$ 0	$\frac{1}{60}$ bon I	$\frac{1}{180}$ 0
$\frac{1}{80}$ I		$\frac{1}{80}$ peu	

Dosage des constituants.

a) De leur E:

Dose constante de M frais employée: $\frac{1}{30}$ 1).

Doses décroissantes de

E avant l'injection	E après l'injection
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{40}$ p c	$\frac{1}{40}$ p c
$\frac{1}{60}$ I	$\frac{1}{60}$ peu
$\frac{1}{80}$ tr	$\frac{1}{80}$?
$\frac{1}{100}$ 0	$\frac{1}{100}$ 0
Témoins: E id. seul $\frac{1}{10}$ 0	Témoin: E id. seul $\frac{1}{10}$ 0
M frais seul $\frac{1}{10}$ 0	

b) De leur M:

Dose constante d'E employée: $\frac{1}{30}$.

Doses décroissantes de

M avant l'injection	M après l'injection
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c
$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ c
$\frac{1}{80}$ c	$\frac{1}{80}$ c
$\frac{1}{100}$ p c	$\frac{1}{100}$ p c
$\frac{1}{160}$ bon I	$\frac{1}{160}$ I
$\frac{1}{160}$ I	$\frac{1}{180}$ I
$\frac{1}{200}$?	$\frac{1}{200}$ I
$\frac{1}{280}$?	$\frac{1}{280}$ 0
Témoins: M id. seul $\frac{1}{20}$ 0	Témoin: M. id. seul $\frac{1}{20}$ 0
E frais seul $\frac{1}{10}$ 0	

Comme on le voit, le cobaye témoin ne présente rien de semblable à ce que nous avons constaté chez l'animal hypersensible. En effet, l'activité de son alexine ne change guère après l'injection massive; la diminution légère qu'on pourrait lui trouver tombe dans la limite des erreurs de technique et devrait, du reste, être attribuée aux deux causes signalées plus haut puisqu'elle concerne, insignifiante aussi, à la fois le M et l'E.

Pour consolider d'avantage nos conclusions nous voudrions encore transcrire en détail l'une ou l'autre de nos recherches. Mais comme ce serait inutilement allonger ce travail, nous avons préféré résumer, dans un tableau d'ensemble (Planche I)

1) Activité du complément dont les constituants ont servi de constantes: $\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{60}$ p c $\frac{1}{80}$ I $\frac{1}{100}$ tr.

Histoire du cobaye ¹⁾				Dosage du Compl. non encore divisé		
Numéro de l'animal	Dose de la 1 ^{re} injection	Moment voie et dose de la 2 ^e injection	Symptômes présentés et moment des saignées (2 ^e et 3 ^e)			
				avant	pendant	ap. mort
1	1/200 c. c.	25 jours d'attente 2 c. c. dans péritoine	Début la 7 ^e minute après l'injection. Grattage. Inquiétude, hoquet. Troubles respiratoires. Crise convulsive, la 70 ^e min. Temp. avant 38.4°, après 35°. La 100 ^e min.: 2 ^{de} saignée. 110 ^e min.: mort par apnée. Autopsie: poumons insufflés. Prise de sang dans cœur à découvert.	1/80 c 1/100 p c 1/160 peu	1/80 c 1/80 I 1/80 O	1/40 c 1/80 I 1/80 peu
2 témoin	.	6 c. c. dans péritoine	Aucun phénomène morbide. Temp. avant 38.8°; après 38.3°. La 80 ^e min. 2 ^{de} saignée; animal survit.	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 peu	1/40 c 1/60 bon I 1/80 peu 1/100 tr	
3	1/200 c. c.	5 c. c. dans périt. 2 mois d'attente	Début la 8 ^e min. Grattage, inquiétude. La 25 ^e minute parésie. Saignée une 2 ^{de} fois après 90 min.; survit.	1/30 c 1/80 p c 1/80 tr	1/20 c 1/30 I 1/60 peu 1/80 O	
4 témoin	.	5 c. c. dans péritoine	Rien. Seconde saignée après 60 min.	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 O	1/40 c 1/40 I 1/80 peu 1/100 ?	
5	1/200 c. c.	4 c. c. dans périt. 2 mois d'attente	Début la 10 ^e min. Inquiétude, grattage. Respiration difficile. Contractions cloniques. La 30 ^e min. 2 ^{de} saignée. Meurt la 35 ^e min. Autopsie: poumons nettement insufflés. Prise de sang dans le cœur mis à nu.	1/80 c 1/100 p c	1/40 c 1/80 tr	1/40 c 1/80 tr
6 témoin	.	10 c. c. dans péritoine	Aucun phénomène morbide. 2 ^{de} saignée après 40 min.; survit.	1/40 c 1/50 p c 1/60 bon I 1/80 I 1/100 peu	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 tr	
7	1/200 c. c.	24 jours d'attente 5 c. c. dans péritoine	Début après 2 minutes. Inquiétude, grattage, toux. Après 5 min. dyspnée, hoquet, convulsions, apnée. 2 ^{de} saignée après 5 min. Mort durant saignée. Autopsie: poumons ne reviennent pas sur eux-mêmes et gardent nettement l'empreinte de la cage thoracique. Encore 2 c. c. de liquide dans la péritoine. Pris sang du cœur mis à découvert.	1/40 c 1/60 p c 1/80 peu 1/80 tr 1/100 O	1/30 I 1/40 O 1/80 O	

1) Tous les cobayes de ce tableau étaient à peu près de poids égal: 350 gr.

d'expériences sur l'anaphylaxie.

Dosages								Remarques	
Dosage des constituants									
de l'Endstück				du Mittelstück				Moment de l'examen des alexines	Dosage de l'alexine dont E et M servent de constantes
Const. de M frais	Doses décroissantes de l'			Const. d'E frais	Doses décroissantes du				
	E avant	E après	E cœur		M avant	M après	M cœur		
1/40	1/80 c 1/100 p c 1/160 tr 1/200 0	1/60 c 1/80 I 1/100 peu 1/160 ?	1/60 c 1/80 I 1/100 tr 1/160 0	1/40	1/160 c 1/200 I 1/280 peu 1/360 ?	1/40 c 1/60 bon I 1/100 peu 1/160 ?	1/40 c 1/60 bon I 1/100 I 1/160 tr	après 20 hrs. de glacière	1/80 c 1/100 p c 1/160 tr
1/30	1/20 c 1/40 p c 1/60 I 1/80 tr	1/20 c 1/40 p c 1/60 peu 1/80 ?		1/30	1/80 c 1/100 p c 1/200 I 1/280 ?	1/80 c 1/100 p c 1/200 I 1/280 0		idem	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 tr
1/20	1/40 c 1/60 p c 1/80 tr 1/100 0	1/40 c 1/60 peu 1/80 tr 1/100 0		1/20	1/160 c 1/200 p c	1/40 c 1/60 peu 1/80 tr 1/100 0		après 24 hrs. de glacière	1/60 c 1/80 peu
1/20	1/30 c 1/40 p c 1/60 I 1/80 0	1/40 c 1/60 tr 1/80 0		1/20	1/100 c 1/160 p c 1/200 I	1/100 c 1/160 bon I 1/200 I		idem	1/60 c 1/80 peu
1/20	1/30 c 1/40 peu 1/60 0	1/20 c 1/40 peu	1/20 c 1/30 peu 1/40 tr	1/20	1/100 c 1/160 I 1/200 peu	1/40 c 1/60 peu 1/80 tr	1/60 c 1/80 I 1/100 peu	idem	1/60 c 1/80 peu
1/20	1/60 c 1/80 p c 1/100 I 1/140 peu	1/60 c 1/80 p c 1/100 I 1/140 peu		1/20	1/240 c 1/280 c	1/240 c 1/280 c		après 20 hrs. de glacière	1/40 c 1/60 I 1/80 peu
1/40	1/40 p c 1/60 tr 1/80 0	1/40 p c 1/60 peu 1/80 0	1/40 bon I 1/60 0	1/40	1/80 c 1/100 p c 1/140 p c 1/180 I 1/280 tr 1/360 0	1/40 c 1/60 I 1/80 I 1/100 tr 1/160 0	1/40 I 1/60 peu 1/80 tr 1/100 0	idem	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 tr

Histoire du cobaye				Dosage du Compl. non encore divisé		
Numéro de l'animal	Dose de la 1 ^{re} injection	Moment voie et dose de la 2 ^e injection	Symptômes présentés et moment des saignées (2 ^e et 3 ^e)			
				avant	pendant	ap. mort
8	1/200 c. c.	18 jours d'attente 2 c. c. sér. dans péritoine	Début après 6 min. Grattage, agitation. Toux répétée. Après 24 min. respir. difficile. La 44 ^e min. paraplégie, convulsions légères. Temp. avant 37.8°, après: moins de 35°. 2 ^{de} saignée la 50 ^e min. Meurt pendant la saignée. Autopsie: rien de spécial.	1/50 c 1/60 bon I 1/80 peu 1/100 ?	1/10 I 1/20 O	
9	1/300 c. c.	18 jours d'attente 1 c. c. dans péritoine	Début à la 8 ^e min. Grattage intense. Après 32 min. agitation, inquiétude. Après 34 min. paraplégie, suivie de paralysie. Temp. avant 39°; après 35.3°. Après 40 min. 2 ^{de} prise de sang. Mort. Autopsie: rien d'anormal, un peu de liquide dans la cav. abd.	1/40 c 1/50 p c 1/60 I 1/80 tr 1/100 O	1/10 I 1/20 ? 1/40 O	
10 témoin	.	10 c. c. dans péritoine	Rien. Temp. avant 38.6°; après 39°. 2 ^{de} saignée après 60 min.	1/20 c 1/40 peu 1/60 O	1/20 c 1/40 peu 1/60 O	
11	1/300 c. c.	44 jours d'attente 1 c. c. dans péritoine	Début après 15 min. Grattage intense. La 45 ^e minute respiration difficile. Contractions clon. du diaphragme. Se couche sur le côté. Convulsions. Se meurt. 2 ^{de} saignée la 50 ^e min. Mort. Temp. avant 38.4°, après: moins de 35°. Autopsie: poumons pâles et insufflés.	1/40 c 1/60 p c 1/80 peu 1/100 O	1/20 c 1/40 tr	
12	1/100 c. c.	44 jours d'attente 5 c. c. sous la peau	Début après 40 min. Grattage. Dyspnée après 45 min. Convulsions. 2 ^{de} saignée à ce moment. Mort. Autopsie: poumons ne reviennent nullement et gardent l'empreinte de la cage thoracique. Plus de liquide sous la peau à l'endroit de l'injection.	1/60 c 1/80 p c 1/100 I 1/140 ?	1/20 c 1/40 p c 1/60 I 1/80 tr	
13	1/200 c. c.	28 jours d'attente 5 c. c. sous peau	Début après 15 min. Grattage intense. Parésie. 2 ^{de} saignée après 40 min. Meurt après 50 min. Pris sang du cœur mis à nu. Autopsie: rien de spécial.	1/80 c 1/80 p c 1/100 peu 1/140 ?	1/20 c 1/40 p c 1/60 tr 1/80 O	

Dosages								Remarques	
Dosage des constituants									
de l'Endstück				du Mittelstück					
Const. de M frais	Doses décroissantes de l'			Const. d'E frais	Doses décroissantes du			Moment de l'examen des alexines	Dosage de l'alexine dont E et M servent de constantes
	E avant	E après	M cœur		M avant	M après	M cœur		
1/40	1/40 c 1/80 p c 1/160 tr 1/320 O	1/40 p c 1/80 I 1/160 O		1/40	1/40 c 1/80 peu 1/160 O	1/5 peu 1/10 tr 1/20 tr 1/40 ? 1/80 O		après 24 hrs. de glacière	1/80 c 1/80 p c 1/80 I 1/100 peu
1/40	1/40 c 1/80 peu 1/160 ?	1/20 c 1/40 I 1/80 tr 1/160 O		1/40	1/80 c 1/160 p c 1/320 ? 1/400 O	1/20 c 1/40 p c 1/80 ? 1/160 O		idem	1/80 c 1/80 p c 1/80 I 1/100 peu
1/40	1/40 c 1/80 bon I 1/160 O	1/40 c 1/80 I 1/160 O		1/40	1/80 c 1/160 I 1/320 tr	1/80 c 1/160 I 1/320 tr		idem	1/80 c 1/80 p c 1/80 I 1/100 peu
1/40	1/30 c 1/60 p c 1/60 peu	1/20 c 1/40 I 1/60 tr		1/40	1/40 c 1/80 p c 1/100 I 1/160 tr	1/20 c 1/40 bon I 1/60 I 1/100 I 1/100 O		idem	1/80 c 1/100 I
1/40	1/80 c 1/80 p c 1/100 bon I 1/160 tr	1/40 c 1/80 p c 1/80 bon I 1/100 I 1/160 tr		1/40	1/100 c 1/160 I 1/200 peu 1/320 peu	1/40 c 1/80 I 1/100 I 1/160 peu		idem	1/80 c 1/100 I
1/40	1/100 c 1/160 I 1/200 peu	1/80 c 1/80 p c 1/100 I 1/160 tr	1/80 c 1/100 bon I 1/160 tr	1/40	1/100 c 1/160 p c 1/200 peu 1/280 tr	1/40 c 1/80 I 1/100 I 1/160 ?	1/40 c 1/80 I 1/100 I 1/160 ?	idem	1/80 c 1/100 p c 1/160 tr

quelques unes de nos expériences: elles représentent divers cas de choc anaphylactique tant pour la forme de la crise que pour son intensité. Quand on examine cette planche, on constate nettement ce qui nous a déjà frappé dans les exemples antérieurs, et cela tant pour l'anaphylaxie par injection sous-cutanée que pour celle par injection intraabdominale: alors que l'animal témoin ne présente guère de modifications dans son sérum sanguin (voir Nos. 2, 4, 6 et 10), il se produit chez le cobaye anaphylactisé une réelle diminution de l'alexine durant le choc; cette réduction concerne surtout le M et n'est vraie pour l'E que dans de faibles proportions¹⁾.

Ces résultats ne nous semblent pas dépourvus d'intérêt quand on les rapproche de certaines recherches sur l'utilisation des deux parties de l'alexine dans les phénomènes d'absorption du complément par les combinaisons d'antigène à anticorps. Si divers auteurs, tels que Michaelis et Skwirsky²⁾, Hecker³⁾, Sachs et Bolkowska⁴⁾ parlent d'une utilisation exclusive du M, les expériences récentes de Gengou⁵⁾ mettent en lumière non seulement un emploi du M mais aussi un emploi, quoique partiel, de l'E.

Ne nous trouvons-nous pas ici en présence d'un phénomène analogue et ne pourrait-on pas interpréter la nature intime de la diminution de l'alexine durant le choc anaphylactique comme une déviation du complément in vivo semblable à celle que l'on produit in vitro? La diminution de l'alexine ne serait donc pas la conséquence d'une destruction mais simplement d'une utilisation analogue à celle provoquée par les précipités spécifiques.

1) A noter que le phénomène est d'autant plus frappant que certains animaux anaphylactisés (voir No. 9 et 11) n'ont reçu que 1 c.c. de sérum, alors que certains témoins (voir No. 6 et 10) ont reçu une dose 10 fois plus forte.

2) Michaelis et Skwirsky, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 4, p. 138; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, H. 5. — Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, H. 5.

3) Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther., 1907, H. 3.

4) Sachs et Bolkowska, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, H. 6.

5) Gengou, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, H. 3, p. 344.

A la suite de nos recherches sur l'anaphylaxie, nous avons tout naturellement songé à les étendre à l'étude d'un état morbide expérimental très semblable c. a. d. de l'intoxication par peptones.

Ce sont Biedl et Kraus¹⁾ qui ont signalé les premiers, tant chez le chien que chez le cobaye, l'analogie curieuse entre ces deux états pathologiques. Les auteurs se placent surtout au point de vue de la symptomatologie extérieure et affirment une „identité complète“ entre l'action des peptones Witte sur le cobaye normal et celle de l'hypothétique toxine anaphylactique. Leurs recherches sont confirmées par celles d'Achard et Aynaud²⁾. Différents auteurs reprennent la question mais en l'étudiant chacun sous un aspect nouveau: Pfeiffer et Mita³⁾ s'occupent des troubles de la température; Karsner étudie les lésions anatomo-pathologiques du poumon⁴⁾; Bächer et Wakushima⁵⁾ l'activité du sérum en opsonine, Busson et Takahashi⁶⁾ sa teneur en alexine. Tous affirment une parfaite analogie entre le choc anaphylactique et l'intoxication par peptones; les derniers auteurs cités constatent notamment une même réduction du complément hémolytique et trouvent, dans les deux états, le moment de la prise sanguine du grande importance.

Nous n'avons étudié la question qu'au point de vue du complément. Appliquant la même méthode de recherches que celle expliquée au début de ce travail, nous avons tâché d'élucider le point suivant: se produit-il, dans l'intoxication par peptones, la même utilisation des constituants de l'alexine que dans le choc anaphylactique?

L'injection est faite d'ordinaire dans la veine jugulaire externe à raison de 1 à 3 c.c. d'une solution de peptones Witte à 10 % chauffée au bain-marie à une température de 39°⁷⁾. L'animal témoin reçoit, dans la même veine, 1 à 5 c.c. de sérum chauffé de cheval.

Prenons aussitôt un exemple:

1) Biedl et Kraus, Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 11, p. 363; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910, H. 2, p. 205.

2) Achard et Aynaud, C. R. S. Biol., T. 67, p. 83.

3) Pfeiffer und Mita, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, H. 4, p. 410.

4) Karsner, Centrabl. f. Bakt., Bd. 61, 1912, H. 3, p. 247.

5) Bächer und Wakushima, l. c.

6) Busson und Takahashi, l. c.

7) Ceci pour ne pas devoir tenir compte, dans la prise des températures, de la cause d'erreur que constitue l'introduction dans le sang d'une quantité assez notable de liquide froid.

Cobaye a. Histoire.

Cobaye normal pesant environ 400 gr. 10 minutes après une 1^{re} saignée de 2 c.c., il reçoit dans la veine jugulaire externe 2 1/2 c.c. d'une solution à 10 % de peptones (chauffée à 38°).

Après 1 minute, contractions cloniques. Se couche sur le côté — dyspnée — apnée.

2^{de} saignée après la 5^e minute. Mort durant la prise de sang.

Temp. avant: 37.8°, après 37.5°.

Autopsie: les poumons sont très pâles et ne reviennent nullement sur eux-mêmes. Les grosses veines sont distendues et remplies de sang. Le cœur est dilaté.

Nous aspirons le sang du cœur avec une seringue.

Les échantillons de sang sont conservés à la glacière et examinés après 24 heures.

Dosage des alexines non encore divisées.

Sérum avant injection	Pendant la crise	Sérum du cœur
1/20 c	1/20 c	1/20 c
1/30 c	1/30 c	1/30 c
1/40 c	1/40 c	1/40 p c
1/60 c	1/60 I	1/60 I
1/80 p c	1/80 I	1/80 0
1/100 p c	1/80 peu	1/100 0
1/140 I	1/100 tr	1/140 0
1/180 peu	1/140 tr	1/180 0
	1/180 tr	

Dosage des constituants.

a) De leur Endstück.

Dose constante de M frais employée: 1/40 1).

Doses décroissantes de

E avant injection	E durant crise	E du cœur
1/20 c	1/20 c	1/20 c
1/30 c	1/30 c	1/30 c
1/40 c	1/40 c	1/40 c
1/60 c	1/60 p c	1/60 p c
1/80 p c	1/80 I	1/80 p c
1/100 bon I	1/80 peu	1/100 I
1/140 I	1/100 0	1/140 0
1/180 0	1/160 0	1/180 0
	1/300 0	

Témoins: E id. seul 1/10 0 | M frais seul 1/20 0 | Témoins: E id. seul 1/10 0 | Témoins: E id. seul 1/10 0

1) Activité du sérum frais 1/30 c 1/100 I 1/180 peu.

b) De leur Mittelstück.

Dose constante d'E frais employée: $\frac{1}{40}$.

Doses décroissantes de

M avant injection	M durant crise	M du cœur
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c
$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ c
$\frac{1}{100}$ c	$\frac{1}{100}$ c	$\frac{1}{100}$ c
$\frac{1}{180}$ p c	$\frac{1}{160}$ p c	$\frac{1}{160}$ peu
$\frac{1}{200}$ p c	$\frac{1}{200}$ l	$\frac{1}{200}$ peu
$\frac{1}{300}$ l	$\frac{1}{300}$ peu	$\frac{1}{300}$ tr
Témoins: M id. seul $\frac{1}{10}$ 0 E frais seul $\frac{1}{20}$ 0	Témoin: M id. seul $\frac{1}{10}$ 0	Témoin: M id. seul $\frac{1}{10}$ 0

Il s'agit donc ici d'un animal, présentant, à la suite d'une injection intraveineuse d'une dose déterminée de peptones, une symptomatologie morbide analogue à celle de l'intoxication anaphylactique grave.

Le premier tableau nous montre qu'il se produit ici, comme dans la crise anaphylactique, une réduction du complément hémolytique; celui-ci, en effet, a comme limite d'activité $\frac{1}{60}$ avant l'injection intraveineuse, $\frac{1}{40}$ durant la crise et $\frac{1}{30}$ après la mort.

Seulement en examinant le dosage des constituants nous ne retrouvons plus la diminution prépondérante du M que nous avons constatée chez les animaux hypersensibles. Le M, en effet, ne semble se réduire ici que d'une faible quantité, alors que l'E tombe de $\frac{1}{60}$ à $\frac{1}{40}$.

Avant de formuler une conclusion quelconque examinons un cobaye témoin.

Cobaye b. Histoire.

Cobaye normal pesant environ 350 gr.

20 minutes après une 1^{re} saignée de 2 c.c. de sang, il reçoit dans la veine jugulaire externe 3 c.c. de sérum de cheval chauffé à 38°.

Sauf une légère accélération de la respiration, l'animal ne présente rien de particulier.

Temp. avant: 36.9°, après 37.3°.

La 2^{de} saignée est faite après 30 minutes.

Les sérums sont conservés 24 heures à la glacière.

Dosage des alexines non encore divisées.

Sérum avant injection	Sérum 2 ^{de} saignée
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ p c
$\frac{1}{60}$ p c	$\frac{1}{60}$ I
$\frac{1}{80}$ I	$\frac{1}{80}$?
$\frac{1}{100}$ peu	$\frac{1}{100}$ 0
$\frac{1}{140}$?	$\frac{1}{140}$ 0
$\frac{1}{160}$ 0	$\frac{1}{160}$ 0

Dosage des constituants.

a) De leur E.

Dose constante de M frais employée: $\frac{1}{30}$ 1).

Doses décroissantes de

E avant	E après
$\frac{1}{20}$ c	$\frac{1}{20}$ c
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ peu
$\frac{1}{60}$ p c	$\frac{1}{60}$ tr
$\frac{1}{80}$ I	$\frac{1}{80}$ 0
$\frac{1}{100}$ tr	$\frac{1}{100}$ 0
$\frac{1}{140}$ tr	$\frac{1}{140}$ 0
$\frac{1}{200}$ 0	$\frac{1}{200}$ 0
Témoins: E id. seul $\frac{1}{10}$ 0	Témoin: E id. seul $\frac{1}{10}$ 0
M frais seul $\frac{1}{15}$ 0	

b) De leur M.

Dose constante d'E frais employée: $\frac{1}{30}$.

Doses décroissantes de

M avant	M après
$\frac{1}{30}$ c	$\frac{1}{30}$ c
$\frac{1}{40}$ c	$\frac{1}{40}$ c
$\frac{1}{60}$ c	$\frac{1}{60}$ c
$\frac{1}{80}$ c	$\frac{1}{80}$ c
$\frac{1}{100}$ c	$\frac{1}{100}$ c
$\frac{1}{160}$ c	$\frac{1}{160}$ p c
$\frac{1}{200}$ peu	$\frac{1}{200}$ peu
$\frac{1}{300}$?	$\frac{1}{300}$ tr
Témoins: M id. seul $\frac{1}{10}$ 0	Témoin: M id. seul $\frac{1}{10}$ 0
E frais seul $\frac{1}{15}$ 0	

Comme on le constate, le cobaye témoin se comporte à peu près de la même façon que le cobaye intoxiqué, tant au point de vue du dosage de l'alexine totale que de celui de ses deux constituants. Le complément en effet descend de

1) Activité du sérum frais: $\frac{1}{60}$ c $\frac{1}{80}$ p c $\frac{1}{100}$ peu.

$\frac{1}{40}$ à $\frac{1}{30}$; le M ne subit qu'une très faible réduction et l'E saute du $\frac{1}{40}$ au $\frac{1}{30}$.

Dans la planche II (p. 350—353) nous avons résumé quelques unes de nos expériences sur l'intoxication par peptones. Quand on l'examine avec attention, on voit le fait suivant s'en dégager nettement: il se produit une réelle réduction du complément hémolytique durant la crise qui succède l'injection intraveineuse de peptones; cette réduction est d'ordinaire encore plus marquée dans le sang prélevé après la mort de l'animal. Cependant cette diminution ne semble pas caractéristique de cette intoxication puisque les animaux témoins (injectés par voie intraveineuse) la présentent également et à un degré tout aussi élevé (voir cob. b, e, g). Pour ce qui concerne le dosage des constituants — mis à part un seul cas (cob. h) où nous avons en une forte diminution du M et de l'E, correspondante sensiblement à celle du complément — nous n'avons constaté que peu ou pas de réduction du M et une réduction plus forte quoique faible encore de l'E; cette constatation peut se faire chez les animaux témoins, aussi bien que chez les cobayes intoxiqués¹).

Nous n'essayerons pas d'interpréter ces résultats; nous nous proposons, du reste, de reprendre la question en travaillant sur d'autres animaux.

Si nous comparons cependant nos expériences sur l'anaphylaxie à celles sur l'intoxication par peptones, nous pouvons affirmer que, malgré la frappante analogie entre la symptomatologie des deux états pathologiques, il semble exister une différence réelle dans la nature intime des réactions qu'ils provoquent dans l'organisme. En effet, dans le choc anaphylactique on peut mettre en évidence une réduction prédominante du M, phénomène que nous ne sommes pas parvenus à constater dans la crise de l'intoxication par peptones.

1) Une seule fois nous avons injecté une solution de peptones dans la cavité abdominale; quelques symptômes d'intoxication se sont produits mais le sérum n'a guère changé de composition (cob. j).

Histoire des cobayes 1)			Dosage de l'alexine totale		
Lettre de l'animal	Moment, voie et dose de l'injection	Symptômes et moment des 2 ^e et 3 ^e saignées			
			avant	pendant	après mort
a	2 $\frac{1}{2}$ c. c. solution de peptones 10% chauffée à 38° dans la veine jugul. 10 min. après 1 ^{re} saignée.	Après 1 min. contractions cloniques. Dyspnée — apnée. 5 ^e min.: 2 ^{de} saignée. Mort. Temp. avant 37.8°, après 37.5°. Autopsie: poumons pâles, fortement insufflés; cœur et veines voisins distendus. Prise de sang dans le cœur mis à nu.	$\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{80}$ p c $\frac{1}{140}$ I $\frac{1}{180}$ peu	$\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{60}$ I $\frac{1}{100}$ peu	$\frac{1}{30}$ c $\frac{1}{40}$ p c $\frac{1}{60}$ I $\frac{1}{100}$ O
b témoin	3 c. c. sérum chauffé à 38° dans la veine jugul. 20 min. après 1 ^{re} saignée.	Respiration accélérée. 2 ^{de} saignée après 30 min. Temp. 36.9° avant, 37.3 après. Survit.	$\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{60}$ p c $\frac{1}{80}$ I $\frac{1}{100}$ peu	$\frac{1}{30}$ c $\frac{1}{40}$ p c $\frac{1}{60}$ I $\frac{1}{80}$?	
c	1 c. c. solution de peptones dans la veine jugul. 35 min. après 1 ^{re} saignée.	Après 9 min. grattage, inquiétude; après 29 min. légères contractions cloniques; après 45 min. convulsions, soubresauts — secousses expiratoires. Temp. avant 38.7°, après 37.9°. 2 ^{de} saignée après 60 min. Survit.	$\frac{1}{20}$ c $\frac{1}{40}$ I $\frac{1}{60}$ O	$\frac{1}{10}$ c $\frac{1}{20}$ I $\frac{1}{40}$ peu $\frac{1}{60}$ O	
d	3 c. c. solution de peptones dans la veine jugul. 1 heure après 1 ^{re} saignée.	Début après quelques secondes. Convulsions suivies de paralysie. 2 ^{de} saignée après 1 min. Mort. Temp. avant 39.2°, après 37.2°. Autopsie: cœur surdistendu, énorme; poumons ne reviennent guère et présentent des hémorragies capillaires. Pris sang dans cœur à nu.	$\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{60}$ p c $\frac{1}{80}$ bon I $\frac{1}{100}$ tr $\frac{1}{140}$ O	$\frac{1}{20}$ c $\frac{1}{40}$ bon I $\frac{1}{60}$ tr $\frac{1}{80}$ O	$\frac{1}{20}$ c $\frac{1}{40}$ bon I $\frac{1}{60}$? $\frac{1}{80}$ O
e témoin	4 c. c. sérum dans veine jugul. 15 min. après 1 ^{re} saignée.	Respiration accélérée. Après 30 min. quelques contr. cloniques. Temp. avant 39°, après 36°. 2 ^{de} saignée après 60 min. Survit.	$\frac{1}{60}$? $\frac{1}{80}$ bon I $\frac{1}{100}$ I $\frac{1}{140}$?	$\frac{1}{10}$ c $\frac{1}{20}$ O	
f	1 $\frac{1}{2}$ c. c. solution de peptones dans veine jugul. 10 min. après 1 ^{re} saignée.	Dyspnée après 10 min. Agitation. 2 ^{de} saignée après 60 min. Temp. avant 38.2°, après 36.3°. Survit.	$\frac{1}{100}$ c $\frac{1}{140}$ peu $\frac{1}{180}$ O	$\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{60}$ peu $\frac{1}{80}$?	
g témoin	2 c. c. sérum dans veine jugul. 2 min. après 1 ^{re} saignée.	Rien. Temp. avant 38.3°, après 37.3°. Après 70 min.: 2 ^{de} saignée. Meurt après 85 min. Autopsie: poumons normaux. Cœur presque vide; vaisseaux rétractés. Pris sang du cœur.	$\frac{1}{80}$ c $\frac{1}{100}$ p c $\frac{1}{140}$ I $\frac{1}{180}$?	$\frac{1}{40}$ c $\frac{1}{60}$ p c $\frac{1}{80}$ I $\frac{1}{100}$?	$\frac{1}{20}$ c $\frac{1}{40}$ bon I $\frac{1}{60}$ I $\frac{1}{80}$?

1) Tous les cobayes renseignés dans ce tableau pesaient de 350 à 400 gr. environ.

sur l'intoxication par peptones.

Dosages								Remarques	
Dosage des deux constituants									
de l'E			du M			Moment de l'examen des alexines	Dosage du compl. dont E et M servent de constantes		
Const. de M frais	Doses décroissantes de			Const. d'E frais	Doses décroissantes de				
	E avant	E durant	E cœur		M avant	M durant	M cœur		
1/40	1/60 c 1/80 p c 1/160 I 1/300 O	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 peu	1/40 c 1/60 p c 1/80 p c 1/100 I 1/160 O	1/40	1/100 c 1/160 p c 1/200 p c 1/300 I	1/100 c 1/160 p c 1/200 I 1/300 peu	1/100 c 1/160 peu 1/200 peu 1/300 tr	24 hrs. de glacière	1/80 c 1/100 I 1/160 peu
1/30	1/40 c 1/60 p c 1/100 I 1/160 tr	1/30 c 1/40 peu 1/60 tr		1/80	1/160 c 1/200 peu 1/300 tr	1/100 c 1/160 p c 1/200 peu 1/300 tr		idem	1/60 c 1/80 p c 1/100 peu
1/15	1/20 c 1/40 p c 1/60 peu 1/80 ?	1/20 c 1/40 I 1/60 tr 1/80 ?		1/30	1/20 bon I 1/40 bon I 1/60 I 1/80 tr 1/120 O	1/20 p c 1/40 bon I 1/60 bon I 1/80 I 1/120 ?		20 hrs. de glacière	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 O
1/15	1/40 c 1/60 peu 1/80 I 1/120 tr 1/160 O	1/40 c 1/60 peu 1/80 peu 1/120 O	1/40 c 1/60 peu 1/80 tr 1/120 O	1/30	1/80 c 1/120 I 1/160 peu 1/220 tr 1/360 O	1/60 c 1/80 bon I 1/120 O	1/80 c 1/120 p c 1/160 peu 1/220 tr 1/320 O	idem	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 O
1/20	1/40 c 1/60 bon I 1/80 peu 1/100 tr 1/160 O	1/20 peu 1/40 O		1/30	1/80 c 1/100 p c 1/160 I 1/200 peu 1/280 ?	1/60 c 1/80 I 1/100 I 1/160 tr 1/200 ?		idem	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 tr 1/140 O
1/30	1/40 c 1/60 I 1/80 peu 1/100 ?	1/30 c 1/40 peu 1/80 tr 1/100 O		1/30	1/80 c 1/100 bon I 1/160 peu 1/200 peu	1/80 c 1/100 p c 1/160 tr 1/200 ?		24 hrs. de glacière	1/80 c 1/100 I 1/140 peu
1/30	1/40 c 1/60 peu 1/80 peu 1/100 tr	1/30 c 1/40 peu 1/80 tr 1/100 O		1/30	1/100 c 1/160 I 1/200 I 1/300 tr	1/100 c 1/160 I 1/200 peu 1/300 O		idem	1/80 c 1/100 I 1/160 peu

Generated on 2019-01-12 23:22 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208390
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Histoire des cobayes			Dosage de l'alexine totale		
Lettre de l'animal	Moment, voie et dose de l'injection	Symptômes et moment des 2 ^e et 3 ^e saignées			
			avant	pendant	après mort
h	3½ c. c. solution de peptones dans veine jugul. 90 min. après 1 ^{re} saignée.	Après 2 min. tombe sur le flanc. Apnée; suffocation après 3 min. Après 4 min.: 2 ^{de} saignée. Meurt. Temp. avant 38.2°, après 36.8°. Autopsie: cœur très dilaté; poumons pâles ne revenant nullement. Pris sang du cœur.	1/80 c 1/100 peu 1/140 0	1/20 ? 1/80 0	1/20 0 1/80 0
i	1½ c. c. solution de peptones dans veine jugul. 8 min. après 1 ^{re} saignée.	Après 10 min. troubles respiratoires. Parésie des membres postérieurs. Secousses expiratoires. Après 40 min.: 2 ^{de} saignée. Survit.	1/100 c 1/140 I 1/180 peu	1/80 c 1/80 I 1/100 peu	
j	4 c. c. solution de peptones dans péritoine 20 min. après 1 ^{re} saignée.	Après 20 min. grattage. 2 ^{de} saignée après 90 min. Temp. avant 38.6°, après 37.2°. Mort d'hémorrhagie. Autopsie: rien de spécial. Encore 1 c. c. de liq. de péritoine.	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 peu 1/140 0	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/80 I 1/100 I 1/140 0	

Zusammenfassung.

Es ergibt sich im Verlauf der anaphylaktischen Krise eine Abnahme des Alexins. Diese Verringerung beeinflusst besonders das Mittelstück, eine Tatsache, welche die Annäherung des innersten Verhältnisses der anaphylaktischen Krise mit der Erscheinung der Komplementablenkung bedingt.

Im Verlaufe der Peptonvergiftung geht ebenfalls eine Verringerung des Komplementes vor sich; diese ist jedoch nicht auf denselben Prozeß zurückzuführen. Denn wenn man sie näher betrachtet, läßt sich feststellen, daß dieselbe sich nicht nach demselben Schema ergibt wie die durch Anaphylaxie verursachte; in der Tat bezieht sich die Abnahme auf beide Bestandteile des Alexins, während sie sich vorzugsweise im Endstück äußert.

Nos sincères remerciements à Monsieur le Prof. R. Bruynoghe pour son aide désintéressée et ses précieux conseils.

Dosages								Remarques	
Dosage des deux constituants								Moment de l'examen des alexines	Dosage du compl. dont E et M servent de constantes
de PE				du M					
Const. de M frais	Doses décroissantes de			Const. d'E frais	Doses décroissantes de				
	E avant	E durant	E cœur		M avant	M durant	M cœur		
1/40	1/60 c 1/80 peu 1/100 tr	1/20 0 1/30 0	1/30 0 1/30 0	1/40	1/80 c 1/100 p c 1/200 peu	1/30 0 1/40 0	1/80 0 1/40 0	20 hrs. de glacière	1/60 c 1/80 p c 1/140 tr
1/30	1/60 c 1/100 p c 1/160 I 1/200 peu	1/40 c 1/60 p c 1/100 peu 1/160 0		1/50	1/160 c 1/200 p c 1/300 peu	1/160 c 1/200 bon I 1/300 peu		idem	1/60 c 1/80 p c 1/100 peu
1/15	1/40 c 1/60 I 1/80 I 1/120 tr 1/160 0	1/40 c 1/60 I 1/80 peu 1/120 peu 1/160 0		1/30	1/40 c 1/60 p c 1/80 p c 1/120 tr 1/160 0	1/60 c 1/80 bon I 1/120 I 1/160 tr		idem	1/40 c 1/60 p c 1/80 I 1/100 0

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Salvarsan bei Milzbrand und Wut.

Von Dr. M. Isabolinsky.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Februar 1913.)

Seitdem das Salvarsan nicht nur bei Syphilis, sondern auch experimentell bei anderen Spirillosen und Trypanosomen-erkrankungen mit Erfolg angewandt war, wächst das Interesse für dieses Präparat außerordentlich und regt die Forscher zu neuen Experimenten an. Es ist der Wunsch seitens einiger Forscher, die chemotherapeutische Wirkung des Salvarsans bei vielen akuten Infektionskrankheiten, wo die Serotherapie noch fehlt oder keine befriedigende Resultate gibt, nachzuprüfen, ganz begreiflich. Bisher sind einzelne Fälle bekannt, wo das

Salvarsan bei schwer verlaufenden akuten Infektionskrankheiten einen außerordentlichen Effekt hervorrief. Die Fälle sind aber nicht zahlreich, es sind im Gegenteil Fälle bekannt, wo das Mittel versagte. Neuerdings wurden günstige Resultate von Anwendung des Salvarsans bei Milzbrand und Schweinerotlauf veröffentlicht.

Zuerst hat Becker einen Fall von völliger Heilung von Milzbrandsepsis beim Menschen nach intravenöser Infusion von 0,6 g Salvarsan berichtet. Diese Beobachtung veranlaßte viele Forscher eine ganze Reihe von Tierversuchen anzustellen, um entscheiden zu können, ob das Salvarsan instande sei, das Tier gegen eine tödliche Milzbranddosis zu schützen.

Schuster war der erste, dem es gelungen ist, Kaninchen gegen tödliche Milzbranddosen zu retten, aber nur in den Fällen, wo gleichzeitig mit der Milzbrandinfektion eine intravenöse Salvarsaninfusion von 0,04 pro Kilo vorgenommen war. Nur in einem Fall, wo die Salvarsaninjektion sogar 12 Stunden nach der Infektion erfolgte, wurde das Kaninchen vom Tode gerettet. Gleichzeitig und unabhängig von Schuster stellten Laubheimer und Bettmann, nachdem sie völlige Heilung von 2 Hautmilzbrandfällen beim Menschen durch 0,3 g und 0,4 g Salvarsaninfusion erzielt hatten, an Meerschweinchen Versuche an. Die genannten Autoren infizierten Meerschweinchen mit tödlichen Milzbranddosen, nachdem injizierten sie ihnen nach bestimmten Zeiträumen 0,1 g Salvarsan pro Kilo. Diese Versuche haben gezeigt, daß man die Meerschweinchen nur dann vom Tode retten konnte, wenn das Salvarsan nicht später als 20 Minuten nach der Infektion einverleibt wird. Doch wurden auch einige Tiere, denen das Salvarsan sogar 6 Stunden nach der Infektion eingeführt war, gerettet. Ähnliche Versuche wurden vor kurzem von Bierbaum im Ehrlichschen Institut angestellt. Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß die Einführung von 0,1 g pro Kilo Gewicht einer alkalischen Salvarsanlösung die Meerschweinchen nur dann zu schützen vermag, wenn das Salvarsan sofort nach der Infektion eingeführt wird. Weniger wünschenswerte Resultate bekam Bierbaum, wenn er das Salvarsan 2—4 Stunden nach der Infektion einverleibte.

In solchen Fällen konnte man die Meerschweinchen noch retten, wenn gleichzeitig mit dem Salvarsan intraperitoneal 3 ccm von Milzbrandheiserum eingeführt wird. Sehr günstige Resultate bekam er bei Anwendung des Salvarsans an Mäusen, die mittels Schweinerotlauf infiziert waren. Diese Beobachtungen veranlaßten mich, eine Reihe von Versuchen anzustellen, um bei experimentellem Milzbrand der Kaninchen das Salvarsan anzuwenden. Gleichzeitig prüfte ich noch die Salvarsanwirkung bei experimenteller Kaninchenwut.

1. Milzbrand.

Bei der Untersuchung gebrauchte ich 2 Milzbrandbouillonkulturen. Die subkutane Injektion von 0,5 ccm einer hochvirulenten Kultur tötete

das Kaninchen nach 36 Stunden; die subkutane Injektion von 0,5 ccm einer durch mehrfache Ueberimpfungen auf künstlichen Nährböden abgeschwächten Kultur tötete das Kaninchen nach 76 Stunden.

Die Salvarsanlösung bereitete ich, indem ich 0,6 g Salvarsan in 30—40 ccm destillierten Wassers ohne Schütteln mit Glasperlen löste, dann bis 100 ccm Wasser hinzusetzte und 3,6 ccm Normalnatronlauge beifügte. Die Lösung war gelblich, völlig durchsichtig. Manchmal hellte sich die Lösung nach Hinzufügen von 3,6 ccm Natron nicht auf, es genügten aber einige Tropfen der Natronlauge, um eine vollständige Aufhellung zu erzielen. Aus dieser alkalischen Lösung injizierte ich, ohne sie zu erwärmen, den Kaninchen in die Ohrvene je 10 ccm pro Kilo Gewicht, was 0,06 g reinen Salvarsans entspricht.

Die ersten Versuche bestanden darin, daß ich durch subkutane Injektionen von 0,5 ccm reiner Milzbrandbouillonkultur die Kaninchen infizierte und dann nach gewissen Zeitintervallen, die 20 Stunden nicht überschreiten, ihnen intravenöse Salvarsaninfusionen machte.

Tabelle I.

Ka- ninchen	Gewicht in g	Zeit der Milz- brand- infektion	Zeit der Sal- varsan- infusion	Menge der Salvarsan- lösung ccm	Menge des reinen Sal- varsans	Resultat
1	1200	17. X. 1 ^h m.	18. X. 8 ^h m.	12	0,072	† nach 38 Std.
2	1400	17. X. 2 ^h m.	dgl.	14	0,082	† nach 39 Std.
3	750	dgl.	18. X. 10 ^h m.	9	0,054	dgl.
4	950	17. X. 3 ^h m.	dgl.	10	0,066	† während der Infus.
5	850	17. X. 4 ^h m.	18. X. 8 ^h m.	8,5	0,051	† nach 37 Std.
6	1450	dgl.	Kontrolle			† nach 36 Std.

Aus der obigen Tabelle sehen wir, daß alle Kaninchen zugrunde gingen. Aus dem Herzblute der verendeten Tiere bekam ich eine reine Milzbrandkultur. Ich muß noch hinzufügen, daß die Salvarsaninfusion in dem Moment gemacht worden ist, als an der Injektionsstelle ein ausgesprochenes Oedem mit reichem Milzbrandbacillengehalt zu beobachten war; im Blute werden keine Bacillen gefunden. Die Tatsache, daß die Versuchskaninchen etwas später zugrunde gingen als das Kontrolltier, kann noch vorläufig keine Veranlassung zu einer bestimmten Schlußfolgerung geben.

Im folgenden Versuch ist die Dauer zwischen der Infektion und Salvarsaninfusion kürzer.

Tabelle II.

Kaninchen	Gewicht in g	Zeit der Milzbrandinfektion	Zeit der Salvarsaninfusion	Menge der Salvarsanlösung ccm	Menge des reinen Salvarsans	Resultat
1	1270	31. X. 8 ^b m.	31. X. 7 ^b a.	12,7	0,076	† nach 38 Std.
2	1300	31. X. 10 ^b m.	" " "	13	0,078	† nach 44 Std.
3	1320	31. X. 11 ^b m.	" " "	13	0,078	† nach 53 Std.
4	1400	31. X. 1 ^b m.	" " "	14	0,082	† nach 63 Std.
5	920	31. X. 3 ^b m.	" " "	9	0,054	† nach 60 Std.
6	1470	31. X. 5 ^b m.	" " "	14,7	0,088	lebt
7	1120	1. XI. 7 ^b a.	1. XI. 7 ^b a.	11	0,066	lebt
8	1000	1. XI. 8 ^b a.	1. XI. 10 ^b a.	10	0,066	lebt
9	1200	1. XI. 9 ^b a.	" " "	12	0,072	lebt
10	1000	1. XI. 10 ^b a.	" " "	10	0,066	lebt
11	1120	31. X. 8 ^b a.	" " " Kontrolle			† nach 37 Std.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen, daß das Salvarsan die Tiere nur dann gegen die tödliche Milzbrandosis schützen kann, wenn es nicht später als 2 Stunden nach der Infektion einverleibt wird. Wird Salvarsan später infundiert, so ist es nur imstande, den Tod zu verzögern.

Aus dem Herzblute von 5 verendeten Kaninchen bekam ich eine Milzbrandreinkultur. Was die am Leben gebliebenen Kaninchen anbetrifft, so ist zu bemerken, daß an den Injektionsstellen der Milzbrandkultur ein geringfügiges Oedem sich bildete, in dessen Inhalt ich die ersten Tage Splitter von Bacillen fand, später aber völligen Zerfall wohl möglich, daß es sich um die Wirkung des Salvarsans handelt, das bakterizide Eigenschaften besitzt. Die Mehrzahl der am Leben gebliebenen Tiere zeigte ein Krankheitsbild, das sich durch Apathie, Appetitlosigkeit, Durchfall und Speichelfluß äußerte.

Nach 3—4 Tagen verschwinden gewöhnlich diese Erscheinungen, die Oedeme gehen zurück und die Tiere erholen sich vollständig. Drei dieser Kaninchen waren nach 6 Wochen mittels einer abgeschwächten Milzbrandkultur nochmals infiziert (0,5 ccm töteten das Kaninchen nach 72 Stunden), zwei dieser Kaninchen gingen nur nach 7 Tagen an Milzbrand zugrunde; ein Kaninchen blieb am Leben.

Auf Grund dieser Beobachtung ist es selbstverständlich schwer, bestimmt von einer akquirierten Resistenz oder etwa einer aktiven Immunität des Kaninchens zu sprechen. Es

steht noch die Frage offen, ob es sich um die chemotherapeutische Wirkung des Salvarsans selbst handelt oder das Salvarsan nur einen Reiz dem Organismus zu einer größeren Antikörperproduktion gibt. Die Lösung dieser Frage soll die Bedeutung der Immunität bei Milzbrandtieren, denen Salvarsan einverleibt wird, aufklären.

In den weiteren Versuchen stellte ich mir die Aufgabe, die Wirkung des Salvarsans bei intravenöser Milzbrandinfektion der Kaninchen nachzuprüfen. Zur Versuchsanstellung gebrauchte ich eine abgeschwächte Milzbrandkultur (0,3 ccm töten bei intravenöser Infektion das Kaninchen nach 72 Stunden).

Tabelle III.

Kaninchen	Gewicht in g	Zeit der Milzbrandinfektion	Zeit der Salvarsaninfusion	Menge der Salvars.-Lösung ccm	Menge des reinen Salvarsans	Resultat
1	1750	2. XI. 9 ^h a.	2. XI. 10 ^h a.	17,5	0,12	† nach 78 Std.
2	1330	2. XI. 5 ^h a.	2. XI. 6 ^h a.	13,5	0,081	† nach 72 Std.
3	1430	2. XI. 9 ^h a.	2. XI. 9 ^h a.	14,0	0,082	lebt
4	1350	2. XI. 6 ^h a.	2. XI. 6 ^h a.	13,5	0,081	lebt
5	1500	dgl.	Kontrolle			† nach 70 Std.

Aus der oben angegebenen Tabelle ist es ersichtlich, daß bei intravenöser Infektion das Salvarsan nur dann imstande ist, die Kaninchen vom Tode zu schützen, wenn die Salvarsaninfusion nicht später als 10—15 Minuten nach der Infektion erfolgt. Wenn die Infusion 1 Stunde nach der Infektion erfolgt, dann ist kein Effekt zu beobachten — das Tier geht zugrunde.

Ganz günstige Resultate habe ich bei kombinierter Heilung der Milzbrandinfektion der Kaninchen mittels Salvarsan und Milzbrandheilserum bekommen. Das von mir gebrauchte Serum stammt aus dem hiesigen bakteriologischen Institut und besitzt große Aktivität: 2 ccm desselben schützen bei intravenöser Injektion, die 15—20 Minuten nach der subkutanen tödlichen Milzbranddosisinfektion erfolgt, das Kaninchen vom Tode.

Die Kaninchen wurden subkutan mittels 0,5 ccm einer Milzbrandbouillonkultur infiziert und bekamen dann nach gewissen Zeitintervallen Injektionen von Salvarsan und dem oben erwähnten Heilserum.

Tabelle IV.

Kaninchen	Gewicht in g	Zeit der Milzbrand- infektion	Zeit der Salvarsan- infusion	Menge der Salvarsan- Lösung ccm	Menge des reinen Sal- varsans	Menge des Milzbrand- heil- serums ccm	Resultat
1	1430	6. XII. 2 ^h m.	6. XII. 6 ^h a.	14,5	0,087	2	lebt
2	1630	6. XII. 1 ^h m.	dgl.	16,5	0,1	3	lebt
3	1700	6. XII. 11 ^h m.	„	17,0	0,1	3	lebt
4	1500	6. XII. 9 ^h m.	„	15,0	0,09	3	† n. 73 Std.
5	1400	6. XII. 11 ^h m.	„	„	„	3	† n. 56 Std.
6	1500	6. XII. 2 ^h m.	Kontrolle	„	„	„	† n. 38 Std.

Diese Versuche zeigen, daß sogar nach 7 Stunden, wenn das Salvarsan oder das Serum allein für sich keine Wirkung äußern, die gleichzeitige Anwendung beider Mittel die Kaninchen vom Tode rettet. Eine ähnliche Beobachtung machte vor kurzem Bierbaum. Diese Beobachtung verdient große Aufmerksamkeit, da sie uns Hoffnung schafft, späte und schwere Milzbrandinfektionen beim Menschen mit Erfolg zu heilen. Das letzte Wort muß meiner Meinung nach der Klinik gehören, die jetzt mit vollem Recht die Resultate des Experimentes verwerten kann.

Vor kurzem sind zwei interessante Arbeiten von Roos und Reiter veröffentlicht worden. Auf Grund zahlreicher Versuche beweisen die Verfasser, daß das Salvarsan bakterizide Eigenschaften gegenüber dem Milzbrandbacillus *in vitro* wie auch *in vivo* besitzt. Wenn diese Schlüsse noch weitere Bestätigung finden, so wird man vielleicht die Vermutung, daß das Präparat nur einen Reiz zur Ausarbeitung von Schutzstoffen gibt, aufgeben müssen und annehmen, daß es allein für sich bakterizid wirkt.

In dieser Hinsicht habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate hoffe ich in nächster Zeit mitteilen zu können. Auf Grund meiner Versuche komme ich zu dem Schlusse, daß das Salvarsan ohne Zweifel therapeutische Eigenschaften in bezug auf die Milzbrandinfektion bei Kaninchen besitzt. Am besten ist der therapeutische Effekt bei gleichzeitiger Anwendung von Salvarsan und dem spezifischen Milzbrandheilserum.

Ich wiederhole noch einmal, daß bei schweren Milzbrandinfektionen beim Menschen die kombinierte Therapie notwendig ist. Die Tatsache, daß der Mensch weniger empfindlich gegen Milzbrand ist, und andererseits, daß das Salvarsan beim Menschen ein kräftigeres Heilmittel ist als beim Kaninchen, muß uns Hoffnung erwecken, beim Menschen einen ausgeprägten Effekt zu erwarten.

II. Wut.

Der von Tonin veröffentlichte Fall von Heilung von Wut bei einem Mädchen nach 0,3 Salvarsaninfusion veranlaßte mich, die Wirkung des Salvarsans bei experimenteller Kaninchenwut nachzuprüfen.

Zuerst stellte ich mir die Aufgabe, aufzuklären, ob das Salvarsan imstande ist, die schon ausgebrochenen Krankheitserscheinungen bei den mit dem Virus fixe infizierten Kaninchen zum Stillstand zu bringen.

Zu diesem Zwecke wurde eine ganze Reihe von Kaninchen subdural mittels Hirnemulsion eines Kaninchens, das am 7. Tage an experimenteller Wut zugrunde ging, injiziert. Am 5. Tage, als sich die ersten Krankheitserscheinungen äußerten, wurde eine intravenöse Injektion von 0,08 pro Kilo einer alkalischen Salvarsanlösung vorgenommen. Die Krankheit entwickelte sich aber auf dem gewöhnlichen Wege und die Kaninchen verendeten, wie gewöhnlich, am 7. Tage. Die Sektion ergab das gewöhnliche pathologisch-anatomische Bild der Wut.

In der Vermutung, daß das Salvarsan zu spät infundiert war, injizierte ich einer anderen Kaninchenreihe das Salvarsan 3 Tage nach der Infektion mit dem Virus fixe. Auch in diesem Falle erkrankten die Kaninchen, wie gewöhnlich, am 5. Tage und gingen am 7. Tage unter Erscheinungen von paralytischer Wut zugrunde.

Endlich war einer dritten Kaninchenserie das Salvarsan am Tage der Infektion mit dem Virus fixe intravenös infundiert mit ebenfalls negativem Resultat.

Aus diesen Versuchen sehen wir, daß das Salvarsan weder zu schützen noch die Entwicklung der experimentellen Wut aufzuheben imstande ist.

Um so weniger könnte das Salvarsan bei Menschenwut helfen. Tonins Fall kann wahrscheinlich als ein Zufall betrachtet werden und kann kaum, wie auch viele andere einzelne Beobachtungen über die günstige Salvarsanwirkung bei vielen Infektionskrankheiten, eine praktische Bedeutung haben.

Zusammenfassung.

1) Das Salvarsan besitzt ohne Zweifel therapeutische Eigenschaften bei Infektion der Kaninchen mit tödlichen Milzbranddosen.

2) Der therapeutische Effekt des Salvarsans ist bedeutend stärker bei gleichzeitiger Anwendung des spezifischen Milzbrandheilserums.

3) Die Versuche anderer Autoren wie auch die Meinungen zeigen, daß in allen schweren Milzbrandinfektionen beim Menschen auch das Salvarsan zur Therapie zugezogen werden muß.

4) Bei Wut besitzt das Salvarsan weder prophylaktische noch therapeutische Wirkung.

Literatur.

Schuster, Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 7.

Laubenheimer, Dtsche med. Wochenschr., 1912, No. 8.

Bettmann, Deutsche med. Wochenschr.

Becker, Med. Klinik, 1912, No. 44.

Bierbaum, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 43.

Reiter, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 15, H. 2/3.

Roos, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 15, H. 6.

Nachdruck verboten.

**A propos des travaux récents de MM. Bernstein et Kaliski
sur les hématies formolées.**

Par MM. P. Armand-Delille et L. Launoy.

Nous avons apporté à la Société de Biologie, le 2 juillet 1910, les résultats de nos recherches, faites dans le laboratoire de M. Delezenne, à l'Institut Pasteur, sur la stabilisation des hématies par des doses minimales de formol¹⁾. Le détail de notre travail a été publié dans les Annales de l'Institut Pasteur, en mars 1911²⁾.

Nous venons d'avoir connaissance de deux travaux, l'un de M. Bernstein et Kaliski, publié dans le Zeitschrift für Immunitätsforschung de juin 1912³⁾, dans lequel ces auteurs s'expriment ainsi :

„We conceived the idea that by utilizing a substance which would sterilize and preserve the blood and perhaps also render the corpuscles more refractory to dissolution without interfering with hemolysis or fixation of complement we would have a method of distinct value to laboratory workers. This was our aim in conducting the following experiments.

The first problem concerned itself with the question whether formalin when added to sheep-cells would influence the result of the Wassermann reaction.“

1) Stabilisation des globules rouges par les solutions très diluées de formol, par P. Armand-Delille et L. Launoy, Société de Biologie, 1910, T. 2, p. 40 (2 juillet).

2) Etude sur la stabilisation des globules rouges des mammifères (du mouton en particulier) par les solutions très diluées de formol, par P. Armand-Delille et L. Launoy, Annales de l'Institut Pasteur, T. 25, p. 222, mars 1911.

3) The use of formalinized sheep cells in complement fixation tests by E. P. Bernstein and David J. Kaliski, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, Heft 5, p. 490, 22 juin 1912.

Or ces auteurs partent du même point de vue que nous et aboutissent à des résultats absolument identiques, sur les globules de mouton, test que nous avons également choisi.

Nous sommes surpris que ces auteurs n'aient pas pris soin de faire la bibliographie de la question; ils publient comme originales des expériences qui ont été entièrement faites par nous deux ans auparavant.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien.]

**Ueber die bindenden und immunisierenden Substanzen
der roten Blutkörperchen.**

II. Mitteilung über Blutantigene¹⁾.

Von **Karl Landsteiner** und **Emil Prášek**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. Februar 1913.)

I. Einwirkung von Säuren und Basen auf Stromata.

In Fortsetzung unserer vorhergehenden Untersuchung haben wir die Einwirkung von Säuren und Basen auf das Bindungsvermögen der Blutstromata geprüft.

Je 5 ccm der ebenso wie früher bereiteten Stromata wurden mit einem gleichen Volumen Normal- bzw. Zehntelnormal-Salzsäure und Natronlauge zusammengebracht, 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, dann genau neutralisiert, abzentrifugiert, auf das ursprüngliche Volumen gebracht. Verluste an fester Substanz, die im Verlauf der Manipulationen eintraten, wurden nicht berücksichtigt.

Das Aussehen der einzelnen Proben bei einem Versuch mit Pferdestromata war das folgende:

$n/_{10}$ HCl: partiell gelöst, die Flüssigkeit trübe, schmutzig braun; beim Neutralisieren entsteht ein flockiger Niederschlag.

n. HCl: Flüssigkeit mit feinverteiltem, schwer sedimentierendem Niederschlag.

$n/_{10}$ NaOH: Stromata gelöst, Flüssigkeit braun, etwas trübe; nach der Neutralisation grobflockiger brauner Niederschlag.

n. NaOH: gelöst, beim Neutralisieren grobflockiger Niederschlag.

Bezüglich der Einzelheiten der Versuchsanordnung vgl. die frühere Mitteilung.

1,5 ccm $\frac{1}{1000}$ Abrin + 0,3 ccm Pferdestromata
1,5 „ $\frac{1}{60}$ Crotin + 0,3 „ Schweinestromata

	Abrin	Crotin
Kontrolle	64	32
Stromata	2	2
Behandelt mit	$\left\{ \begin{array}{l} n/_{10} \text{ HCl} \\ n. \text{ HCl} \\ n/_{10} \text{ NaOH} \\ n. \text{ NaOH} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 4 \\ < 2 \\ 4 \\ 4 \\ 16 \end{array} \right.$
		4
		4
		16

1) Siehe die I. Mitteilung, diese Zeitschr., Bd. 13, 1912, p. 403.

2,5 ccm $\frac{1}{10}$ Hühnerserum inaktiv + 0,25 ccm Pferde- resp. Kaninchenstromata.

		Abrin	Crotin
Kontrolle		48	128
Pferdeblut	Stromata	2	64
	n. HCl-Stromata	3	128
	n. NaOH-Stromata	6	128
Kaninchenblut	Stromata	8	8
	n. HCl-Stromata	12	12
	n. NaOH-Stromata	16	16
		Titriert für Pferdeblut	Titriert für Kaninchenblut

1,5 ccm $\frac{1}{5}$ inaktiviertes normales Kaninchenserum (= KNS) resp. $\frac{1}{100}$ Immunpferdeagglutinin (Lysin) vom Kaninchen (= IS) + 0,5 ccm Pferdestromata. (Bei Lyse Zusatz von Meerschweinchenkomplement. Ablesung nach 35 Minuten.)

Agglutination.

		KNS I	KNS II	IS
Kontrolle		16	8	48
Aus Pferdeblut	Stromata	4	2	4
	n/10 HCl-Stromata	—	—	16
	n. HCl-Stromata	4	2	8
	n/10 NaOH-Stromata	8	—	32
	n. NaOH-Stromata	4	4	48

Lyse (IS).

Kontrolle	64	n. HCl-Stromata	8
Stromata	2	n/10 NaOH-Stromata	16
n/10 HCl-Stromata	8	n. NaOH-Stromata	24

2 ccm $\frac{1}{400}$ Arachnolysin + 0,2 ccm Kaninchenstromata

Kontrolle	16
Stromata	2
n/10 HCl-Stromata	4
n. HCl-Stromata	8
n/10 NaOH-Stromata	16
n. NaOH-Stromata	16
Titriert für Kaninchenblut	

1 ccm 0,2 ‰ Histon + 0,05 ccm Pferdestromata

Kontrolle	16
Stromata	0
n. HCl-Stromata	0
n/10 NaOH-Stromata	0
n. NaOH-Stromata	1
Titriert für Pferdeblut	

Die Versuche ergeben übereinstimmend mit unseren früheren Erfahrungen eine recht beträchtliche Resistenz der bindenden Stoffe¹⁾. Dabei ist im allgemeinen die schädigende Wirkung

1) Vgl. Landsteiner in Oppenheimer, Handbuch der Bioch., Bd. 2, 1909, p. 427.

der Lauge bei gleicher Konzentration eine größere als die der Säure. Eine weitergehende, zur Zerlegung der Stromata führende Einwirkung der Säure und Lauge und eine Prüfung des Immunisierungsvermögens wurde nicht vorgenommen.

Was das Verhalten der veränderten Stromata gegenüber verschiedenen Agglutininen und Lysinen anlangt, so zeigten sich wieder ganz ähnliche Verhältnisse, wie wir sie in der früheren Mitteilung beschrieben haben, so daß den gefundenen Unterschieden wohl eine generelle Bedeutung zukommt.

II. Einwirkung von Salpeter- und salpetriger Säure.

Von besonderem Interesse war es, die Einwirkung von salpetriger und Salpetersäure auf Blutstromata zu untersuchen, da Obermayer und Pick¹⁾ durch diese Agentien merkwürdige Veränderungen der Antigeneigenschaften von Eiweißkörpern erhielten. Diese Autoren fanden bekanntlich, daß durch Nitrierung, Diazotierung und Jodierung von Eiweiß dessen Artspezifität verloren gehe und dafür eine neue, nur von dem betreffenden chemischen Eingriff abhängige Spezifität entstehe, so daß ein Antinitroeiweiß auf die verschiedensten nitrierten Proteine präzipitierend wirkt. Demgemäß konnte an die Möglichkeit gedacht werden, auch durch Nitrierung von Stromata eine Beeinflussung der Artspezifität zu bewirken.

Wir immunisierten Kaninchen mit Stromata, die durch HNO_3 in verschiedenen Konzentrationen und durch HNO_2 verändert waren.

1) Scharf abzentrifugierte Pferdestromata wurden mit einem Volumen (auf das ursprüngliche Blutvolumen bezogen) fünffach-normaler HNO_3 bei Zimmertemperatur zusammengebracht und 24 Stunden im Eiskasten stehen gelassen, dann neutralisiert, abzentrifugiert, gewaschen und auf das ursprüngliche Volumen gebracht (Stromata grünlichgelb).

2) Die scharf abzentrifugierten Stromata wurden unter Harnstoffzusatz (s. Obermayer und Pick) in das 3-fache Volumen eisgekühlter, konzentrierter HNO_2 (10,5-normal) eingetragen, 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen, durch Eintragen von Eis und Wasser ausgefällt,

1) Wien. klin. Wochenschr., 1906, No. 12. — Pick, Biochemie der Antigene. Jena, G. Fischer, 1912. Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann, 2. Aufl.

abzentrifugiert, neutralisiert, gewaschen, auf das ursprüngliche Volumen gebracht (Stromata grünlichgelb).

3) Ebenso, 20 Stunden bei Zimmertemperatur digeriert (Stromata grünlichgelb).

4) Möglichst scharf abzentrifugierte Stromata wurden gekühlt und in das doppelte Volumen in einer Kältemischung gekühlter roter rauchender HNO_3 , langsam unter gutem Umrühren eingetragen. Die Stromata lösen sich vollständig. Die Lösung wurde 20 Stunden in Eiskochsalzmischung aufbewahrt, mit Eis und Wasser ausgefällt, abzentrifugiert, neutralisiert, gewaschen, auf das ursprüngliche Volumen gebracht (Stromata orangegelb).

5) Eintragen in das 10-fache Volumen einer 2-proz. NaNO_3 -Lösung, der genügend HCl zugesetzt ist, um alle HNO_3 freizumachen. Digestion 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Die Stromata wurden abzentrifugiert, neutralisiert, gewaschen, auf das ursprüngliche Volumen gebracht (Farbe der Stromata schmutzigbraun).

Die Immunisierung wurde mit denselben Mengen und in denselben Zeitabständen wie in der I. Mitteilung ausgeführt, ebenso die Titration (bei Lyse mit 1,5 Tropfen Meerschweinchenkomplement, Ablesung nach 1 Stunde bei 37°).

No.	Immunisierung	Vor der Immunisierung		Nach der Immunisierung	
		Agglutination	Lysis	Agglutination	Lysis
337	} 5-fach Normal- HNO ₃ nach 1) {	10	20	320	320
338		20	10	160	80
339		10	40	320	160
374	} Konzentr. HNO ₃ 1 ^a nach 2) {	10	10	20	20
275		80	80	80	80
373	} Konzentr. HNO ₃ 20 ^a nach 3) {	10	20	30	40
377		20	20	80	40
326	} HNO ₃ nach 5) {	< 10	< 10	320	320
327		10	20	160	40
328		20	40	160	80

Nach den angeführten Zahlen war die immunisierende Wirkung der mit 5-fach normaler HNO_3 behandelten Stromata noch erhalten, wenn auch abgeschwächt¹⁾. Die entstandenen Lysine und Agglutinine hatten einen spezifischen Charakter, denn bei der Prüfung auf Agglutination und Lyse mit Meerschweinchen-, Schweine-, Hammel- und Hühnerblut wirkten die

1) Siehe die wegen der übereinstimmenden Art der Immunisierung vergleichbare Tabelle unserer I. Mitteilung p. 417.

Sera nach der Immunisierung zwar zum Teil etwas stärker als vorher, aber die Verstärkung war beträchtlich geringer als bei der Prüfung mit Pferdeblut.

Die Einwirkung von konzentrierter HNO_3 (Verfahren 2, 3 und 4) veränderte die Stromata so stark, daß sich bei je zwei Kaninchen die Entstehung spezifischer Antikörper nicht mehr sicher nachweisen ließ. Zwar war der Agglutinin- und Lysintiter bei 3 von den Tieren auf das 2—4-fache gestiegen, aber auch bei der Prüfung mit Schweineblut zeigte sich eine ähnliche Steigerung des Agglutininwertes wie gegenüber dem Pferdeblut.

Die Immunisierung mit HNO_2 -Stromata gab bei 2 Immunisierungsversuchen mit je 3 Tieren nicht ganz übereinstimmende Resultate, da bei der einen Gruppe von Tieren nur eine sehr geringe Steigerung des Titors für Pferdeblut eintrat, die beim Vergleich mit der Wirkung auf andere Blutarten sich nicht als sicher spezifisch erwies, während bei den Tieren der II. Serie (s. Tabelle) eine spezifische Titerzunahme erfolgte, die allerdings noch ein wenig hinter der bei der Immunisierung mit HNO_3 -Stromata (No. 1) erreichten zurückblieb. Eine wesentliche Steigerung der Isoagglutininwirkung oder das Auftreten von Isolysinen war weder bei der Immunisierung mit HNO_3 - noch HNO_2 -Stromata nachweisbar. Auch bei der Immunisierung je eines Kaninchens mit Stromata aus seinem eigenen Blute, die mit HNO_3 (wie bei 1 und 4) und mit HNO_2 (wie bei 5) behandelt waren, war eine deutliche Steigerung des Isoagglutiningehaltes oder ein Auftreten von Isolysinen nicht zu bemerken.

Bei der Immunisierung von Kaninchen mit den Stromata aus eigenem Blut, und zwar unveränderten, gekochten, mit Alkohol oder Formaldehyd behandelten (je 1 Tier; Präparation der Stromata wie in der I. Mitteilung) entstanden ebenfalls keine Isolysine. Die Isoagglutinine waren etwas vermehrt (auf das 2—3-fache), ebenso auch die Agglutinine für Meerschweinchen- und Pferdeblut.

Unsere Versuche zeigen, daß durch Behandlung mit HNO_3 oder HNO_2 die spezifische Antigenwirkung der Blutstromata je nach der Konzentration verloren geht oder abgeschwächt wird. Es bleibt unentschieden, ob dieser Effekt durch

bloße Säurewirkung bedingt ist, da wir solche Versuche nicht angestellt haben. Es ist auch möglich, daß die Schädigung der Antigenwirkung entweder auf die oxydierenden Eigenschaften der Stickstoffsäuren oder auf eine Nitrierung bzw. Diazotierung zu beziehen ist. Der Nachweis unspezifisch wirkender Agglutinine oder Lysine war nicht zu erbringen, allerdings wegen der Unmöglichkeit, homologes Antigen zum Nachweis zu verwenden, auch kaum zu erwarten.

Näheren Aufschluß über die Beschaffenheit der Immunsera, die nach Injektionen mäßig stark mit HNO_3 behandelter Stromata entstanden sind, versuchten wir durch Absorptionsversuche zu erhalten.

Wir schicken die Resultate der Absorption von Pflanzenagglutininen und gewöhnlichen Serumagglutininen voraus.

Abrin.

1,5 ccm $\frac{1}{1000}$ Abrin + 0,3 ccm Stromata.

	Kontrolle	128
	Pferdestromata	4
Pferdestromata behandelt mit	5-fach normal HNO_3	8
	konz. HNO_3 1 ^b	24
	konz. HNO_3 20 ^b	24
	rauch. HNO_3	128
	HNO_2	32
	Kaninchenstromata	0
Kan.- Stromata behandelt mit	5-fach normal HNO_3	0
	konz. HNO_3 1 ^b	1
	konz. HNO_3 20 ^b	4
	rauch. HNO_3	96—128
	HNO_2	0
		Titriert für Pferdeblut

Crotin.

1,5 ccm $\frac{1}{60}$ Crotin + 0,3 ccm Schweinestromata.

	Kontrolle	32
	Stromata	4
behandelt mit	5-fach normal HNO_3	6
	konz. HNO_3 1 ^b	6
	konz. HNO_3 20 ^b	8
	rauch. HNO_3	32
	HNO_2	6
		Titriert für Schweineblut

2,5 ccm $\frac{1}{50}$ inaktives Hühnerserum + 0,3 ccm Stromata.

Pferde- stromata behandelt mit	Kontrolle	32	64
	Pferdestromata	2	32
	5-fach normal HNO_3	8	64
	konz. HNO_3 1 ^b	9	48
	rauch. HNO_3	16	64
Kan.- Stromata behandelt mit	HNO_2	4	48
	Kaninchenstromata	12—16	4
	5-fach normal HNO_3	32	6
	konz. HNO_3 1 ^b	16	12
	konz. HNO_3 20 ^b	—	16
	rauch. HNO_3	24	64
	HNO_2	16	4
		Titriert für Pferdeblut	Titriert für Kan.-Blut

0,5 ccm Stromata aus Pferdeblut + 1,5 ccm der Serumverdünnungen.
 Immunserum (= IS) No. 299 50-fach verdünnt, Kaninchen-Normalsera (= KNS) 5-fach verdünnt.

	IS No. 299	KNS 1	KNS 2	KNS 3	
beh. mit	Kontrolle	16	12	16	4
	Pferdestromata	0	1—2	4	2
	5-fach normal HNO_3	16	.	4	2
	konz. HNO_3 1 ^b	.	.	2	1
	konz. HNO_3 20 ^b	.	.	4	0
	rauch. HNO_3	16	8	.	.
	HNO_2	16	4	.	.

Aus diesen Ergebnissen ist hervorzuheben, daß die Stromata für Pflanzenagglutinine und Agglutinine von normalem Serum auch dann noch ziemlich gutes und spezifisches Absorptionsvermögen besitzen, wenn sie mit HNO_2 oder HNO_3 so intensiv behandelt wurden, daß sie die Bildung von Immunagglutininen und Lysinen nur in sehr geringem Maße oder gar nicht hervorrufen. Dieses Verhalten steht offenbar mit jenem Teil der Ehrlichschen Konzeption des Immunisierungsvorganges, der die Identität der Rezeptoren für Antikörper normaler Sera und derjenigen, die Immunität auslösen, voraussetzt, nicht im Einklang.

Bei der Prüfung auf etwa vorhandene Besonderheiten der entstandenen Antikörper suchten wir die schon erwähnte Schwierigkeit dadurch zu umgehen, daß wir ähnlich wie bei unseren früheren Versuchen die Absorption prüften.

2 ccm der Serumverdünnungen + 0,6 ccm Pferdeblutstromata.

Verwendete Immunsere: No. 276 $\frac{1}{300}$, $\frac{1}{100}$; No. 299 $\frac{1}{50}$; No. 261 $\frac{1}{20}$; No. 164 $\frac{1}{40}$, $\frac{1}{80}$, $\frac{1}{50}$; No. 228 $\frac{1}{20}$; No. 300 $\frac{1}{25}$, No. 338 $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{6}$, $\frac{1}{6}$; No. 339 $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{15}$; No. 337 $\frac{1}{20}$.

Die benutzten Konzentrationen sind nach der Reihenfolge in der Tabelle angegeben.

Kaninchen No.	Immunsere nach Injekt. von unveränderten Pferdeblutstromata oder Blut					Immunsere nach Injektion von 1 ^b gekochter Pferdeblutstromata					Immunsere nach Injektion von Pferdeblutstromata, die mit 5-fach normaler HNO ₃ behandelt waren					
	276	276	299	261	299	164	228	300	164	164	338	339	337	339	338	338
Kontrolle	6	8	16	16	16	32	8	16	8	16	8	8	8	8	16	16
Pferdeblutstromata	0	0	0	4	—	0	0	0	0	—	0	0	0	0	4	—
1 ^b gekochte Pferdeblutstromata	4	4	8	—	—	0	0	0	0	—	1	0	1	0	4	—
5-fach normal HNO ₃ Pferdeblutstromata	4	3	8	16	16	6	4	4	3	2	2	0	0	0	2	2
Kaninchenblutstromata	—	—	16	16	—	—	—	16	8	—	—	—	—	8	16	—
1 ^b gekochte Kaninchenblutstromata	—	6	16	16	—	—	4	8	2	—	—	—	4	3	16	—
5-fach normal HNO ₃ Kaninchenblutstromata	—	6	16	32	16	—	8	8	8	8	—	1	1	2	12	6

Die Absorptionsversuche zeigen wieder, daß ein Unterschied zwischen den Immunsere besteht, die nach Injektion unveränderter und veränderter Stromata entstehen. Die Immunsere der ersten Art werden, wie wir schon in der früheren Mitteilung erwähnten, von den veränderten Stromata im allgemeinen nur schlecht aufgenommen, zum Unterschied von den Seren der zweiten Art. Ein Unterschied zwischen den gekochten und den mit HNO₃ behandelten Stromata besteht nach den von uns angestellten Versuchen insofern, als die homolog veränderten Stromata verhältnismäßig etwas stärker binden. Dieser Unterschied im Sinne einer Spezifität ist aber nicht sehr groß, und es bleibt auffallend, daß die Stromata durch so verschiedene Eingriffe wie Kochen und Einwirken von HNO₃ derart verändert werden, daß sie bei der Prüfung mit Immunsere bis zu einem gewissen Grad gemeinsame Eigenschaften zeigen. Aehnlich lagen die Verhältnisse auch bei dem früher von uns angestellten Vergleich erhitzter, mit Alkohol und Formaldehyd behandelter Stromata. Es läßt sich demnach nicht annehmen, daß die maßgebende Veränderung bei der Behandlung mit HNO₃ in der Nitrierung bestehe.

Was die Artspezifität der Sera anlangt, so fand bei den Salpetersäureseren mehrmals eine ganz deutliche Absorption durch Salpeter-Kaninchenstromata statt, obwohl die Sera mit Salpetersäure-Pferdestromata hergestellt waren und von Kaninchen stammten. Hier schiene also eine Aenderung der Artspezifität vorzuliegen, die an die Resultate von Obermayer und Pick erinnert.

Diese Aehnlichkeit wird aber dadurch beeinträchtigt, daß erstens auch gekochte Kaninchenstromata die Agglutinine der Salpetersäuresera merklich, wenn auch nicht stark, absorbieren und zweitens bei Koktosereren durch gekochte Kaninchenstromata eine Absorption stattfindet. Es scheint demnach durch die angewendeten Eingriffe die Artspezifität wirklich eine Einbuße zu erleiden, doch läßt sich dieser Effekt nicht als eigentümliche Folge der Nitrierung ansehen. Aehnliche Ergebnisse bezüglich einer gewissen Herabsetzung der Artspezifität sahen wir übrigens auch bei der Präzipitation von gekochtem Eiweiß durch Koktopräzipitinsera.

Beträchtlich abweichende Resultate hatten wir bei der Untersuchung der Immunseren, wenn wir sie mit Stromata zusammenbrachten und die Bindung des zugefügten Komplementes untersuchten, eine Methode, bei der auch andere Immunstoffe als Hämagglutinine und Hämolyse zur Wirkung gelangen können. Wir fanden bei solchen Versuchen bei Koktosereren keine unspezifische Komplementbindung, bei Salpetersäureseren (No. 337, 338, 339) hingegen stark positive Reaktion sowohl mit Salpetersäure-Pferde- als auch Salpetersäure-Kaninchenstromata, und keine ausgesprochene Komplementbindung bei Pferde- oder Kaninchen-Koktostromata, entsprechend den Befunden von Obermayer und Pick.

Diese Resultate lassen den Schluß zu, daß die Lysine mit den komplementbindenden Substanzen nicht zu identifizieren sind.

III. Behandlung der Stromata mit Acetanhydrid, schwefelsaurem und salzsaurem Alkohol.

Die bisher mitgeteilten Beobachtungen lehren, daß die bindenden Substanzen der roten Blutkörperchen eine ziemlich große Resistenz gegen solche Eingriffe besitzen, die

keine weitgehende Zersetzung hervorrufen. Mit Rücksicht auf die Hypothese einer Verwandtschaft der Farbstoff- und Immunkörperbindung haben wir auch noch die Wirkung von Reagentien untersucht, die das Bindungsvermögen tierischer Gewebe für Farbstoffe stark beeinflussen, ohne diese Gewebe — Schafwolle, Seide — abzubauen.

Versuche dieser Art wurden von Suida¹⁾ und seinen Mitarbeitern ausgeführt. Es zeigte sich, daß durch Behandeln von Schafwolle mit Acetylchlorid, Acetanhydrid, alkoholischer H_2SO_4 oder HCl die Färbbarkeit durch basische Farbstoffe stark vermindert oder aufgehoben, die Färbbarkeit durch saure Farben verstärkt wurde. Sicheres über die Art der hier stattfindenden Veränderungen ließ sich noch nicht feststellen. Suida dachte an die Möglichkeit, daß Acylierungen, Alkylierungen oder Anhydrisierungen eintreten. Sicher wird Säure gebunden, aber in einer anderen Art als bei der Einwirkung wässriger Säuren, und gegen eine einfache Säurewirkung spricht auch der Effekt des Acetanhydrides im Gegensatz zur Unwirksamkeit der Essigsäure.

Im Anschluß an diese Untersuchungen haben wir schon früher analoge Experimente über die Aufnahme von Abrin durch Kasein angestellt²⁾ und hatten ganz ähnliche Ergebnisse wie Suida. Das Aufnahmevermögen des Kaseins für Abrin wurde ähnlich wie für Kristallviolett durch Acetanhydrid und alkoholische Schwefelsäure stark vermindert, durch Acetylchlorid aufgehoben und die Veränderung durch Acetylchlorid ließ sich analog wie in den Versuchen von Suida durch Behandeln mit einer warmen Lösung von Ammoniumkarbonat zum Teil wieder rückgängig machen. Wir zogen seinerzeit den Schluß, daß diese Uebereinstimmungen wohl für eine Verwandtschaft der Vorgänge bei der Bindung von Farbstoffen und von Immunkörpern zu sprechen scheinen.

1) Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, math.-naturw. Kl., Abt. II b, Bd. 114, Januar 1905 und Mai 1905 (Suida und Gelmo) Bd. 115, Januar, Oktober 1906 (Suida und Gelmo).

2) Landsteiner und Stanković, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 1906, p. 108.

Es lag nahe, Veränderungen wie die eben erwähnten auch an den Blutstromata vorzunehmen und ihren Einfluß auf die Bindung von Hämagglutininen zu untersuchen.

Behandlung mit H_2SO_4 -Alkohol. 4 ccm Stromata werden mit absolutem Alkohol auf der Zentrifuge gewaschen¹⁾, mit 20 ccm 1 Proz. Schwefelsäure enthaltendem Alkohol 48 Stunden bei 60° digeriert, abzentrifugiert, nach Zusatz von NaCl-Lösung neutralisiert, nochmals abzentrifugiert und dann im ursprünglichen Volumen 1-proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt.

Behandlung mit HCl-Alkohol. Mit absolutem Alkohol gewaschene Stromata werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit dem doppelten Volumen HCl gesättigten absoluten Alkohols oder geringeren Konzentrationen alkoholischer Salzsäure digeriert. Sonst wie oben.

Behandlung mit Acetanhydrid. 4 ccm der Stromata wurden mit absolutem Alkohol und dann mit wasserfreiem Aether gewaschen, mit 20 ccm Essigsäureanhydrid 24 Stunden am Rückflußkühler auf dem Wasserbade erhitzt (eventuell das Anhydrid abgegossen, neues aufgegossen und nochmals 24 Stunden erwärmt). Dann wird abzentrifugiert, mit absolutem Alkohol gewaschen, in NaCl-Lösung aufgeschwemmt, neutralisiert, abzentrifugiert und im ursprünglichen Volumen Kochsalzlösung aufgenommen. Die Emulsion muß neutral reagieren.

0,3 ccm Pferdestromata + 1,5 ccm $\frac{1}{1000}$ Abrin.			
0,2 ccm Pferdestromata + 1,5 ccm $\frac{1}{20}$ inaktiviertes Hühnerserum.			
Kontrolle Abrin	128	Kontrolle Hühnerserum	16
Native Stromata	8	Native Stromata	2
Stromata behandelt mit	H_2SO_4 -Alkohol	4	Stromata behandelt mit
	$\frac{1}{2}$ HCl-Alkohol	2	
	$\frac{1}{5}$ HCl-Alkohol	2	
	Acetanhydrid	128	
		H_2SO_4 -Alkohol	12
		$\frac{1}{2}$ HCl-Alkohol	16
		$\frac{1}{5}$ HCl-Alkohol	16
		Acetanhydrid	16

0,3 ccm Schweinestromata + 1,5 ccm $\frac{1}{1000}$ Abrin.			
0,4 ccm Schweinestromata + 1,5 ccm $\frac{1}{10}$ Hühnerserum.			
Kontrolle Abrin	12	Kontrolle Hühnerserum	16
Native Stromata	3	Native Stromata	2
Stromata behandelt mit	H_2SO_4 -Alkohol	2	Stromata behandelt mit
	HCl-Alkohol	0	
	$\frac{1}{5}$ HCl-Alkohol	2	
	Acetanhydrid	12	
		H_2SO_4 -Alkohol	16
		HCl-Alkohol	16
		$\frac{1}{5}$ HCl-Alkohol	6
		Acetanhydrid	16

0,3 ccm Kaninchenstromata + 1,5 ccm $\frac{1}{1000}$ Abrin.			
0,2 ccm Kaninchenstromata + 1,5 ccm $\frac{1}{20}$ Hühnerserum.			
Kontrolle Abrin	64	Kontrolle Hühnerserum	128
Native Stromata	0	Native Stromata	4
Stromata behandelt mit	H_2SO_4 -Alkohol	0	Stromata behandelt mit
	HCl-Alkohol	0	
	$\frac{1}{5}$ HCl-Alkohol	0	
	Acetanhydrid	32	
		H_2SO_4 -Alkohol	32
		HCl-Alkohol	128
		$\frac{1}{5}$ HCl-Alkohol	32
		Acetanhydrid	128

1) Beim Waschen der Stromata mit Alkohol darf nur sehr schwach zentrifugiert werden, um ein Zusammenbacken der Stromata zu verhindern.

Histon.

1 ccm 0.2-proz. Lösung + 0,1 ccm Pferdeblutstromata.

Kontrolle	16
Native Stromata	9
Stromata	8
behandelt mit	8
mit	4
	<u>Titriert für</u>
	Pferdeblut

Die Ergebnisse entsprachen unserer Erwartung, da es wirklich gelang, die Bindungsfähigkeit für Agglutinine durch dieselben Eingriffe aufzuheben, die auch die Färbung tierischer Fasern verhindern, und die wohl, wie Suida annimmt, das Salzbildungsvermögen beeinträchtigen. Hervorzuheben ist, daß die Effekte verschiedenen Agglutininen gegenüber nicht gleich sind. So verursachten alkoholische Säuren zwar eine Aufhebung oder bedeutende Schwächung der Bindung von Serumagglutinin des Hühnerserums, aber keine Hinderung, eher eine Begünstigung der Absorption von Abrin, während die Behandlung mit Acetanhydrid die Bindung beider Agglutinine aufhob. Dieses Verhalten spricht für einen wesentlichen Unterschied der für die Bindung des Abrins und der normalen Serumagglutinine maßgebenden chemischen Strukturen.

Daß diese beiden Reaktionen zu ungleichartigen Produkten führen können, dafür spricht schon die Angabe von Suida, daß die Einwirkung von Acetanhydrid oder Acetylchlorid die Färbbarkeit von Seide im Gegensatz zu dem Verhalten der Schafwolle nicht verhindert, während schwefelsaurer Alkohol in beiden Fällen den gleichen Effekt hat. Ein Unterschied der von uns erhaltenen Produkte aus Stromata zeigt sich übrigens auch bei der Behandlung mit Säuren und Basen. Die Emulsion der nativen Stromata (Pferd, Kaninchen) wird beim Zusatz gleicher Volumina sowohl von $n/10$ HCl als $n/10$ NaOH aufgehellt. Die Stromata, die mit Acetanhydrid behandelt werden, lösen sich in $n/10$ NaOH, bleiben aber in $n/10$ HCl unverändert, während die mit salzsaurem Alkohol behandelten Proben (Pferd) auch nach mehreren Stunden weder in der Säure noch in der Lauge eine deutliche Aufhellung oder Auflösung zeigen. Auch diese Aenderungen des Verhaltens gegen Säure und Basen sind im Sinne einer Beeinflussung des Salzbildungsvermögens zu deuten.

Wir haben mit den veränderten Stromata auch Färbungsversuche angestellt und gefunden, daß die Behandlung mit Acetanhydrid die Färbbarkeit durch basische Farbstoffe (Safranin, Toluidinblau) verstärkt, die Färbung durch saure Farben (Bordeaux R, Diaminreinblau) abzuschwächen scheint. Die Einwirkung von saurem Alkohol schwächte die Färbung durch Safranin und Toluidinblau und verstärkte saure Färbungen (Bordeaux R, Eosin, Diaminreinblau). Das Verhalten der Stromata ist demnach ein etwas anderes als bei Schafwolle und Seide, die sich übrigens, wie eben erwähnt, auch untereinander unterscheiden. Gemeinsam ist in allen Fällen eine wesentliche Aenderung der Farbstoffbindung durch die angewendeten Verfahren und in unserem Falle parallel dazu die Veränderung der Agglutininbindung.

IV. Behandlung der Stromata mit Osmiumsäure.

Anhangsweise berichten wir noch über einige Versuche mit osmierten Blutkörperchen. Der Effekt dieser Einwirkung wurde von Coca¹⁾, v. Szily²⁾, Busson³⁾, Rosenthal⁴⁾ studiert. Das Ergebnis der Arbeiten war, daß Osmiumsäure bei genügend starker Einwirkung die Arteigenschaft der Blutkörperchen aufhebt und auch das spezifische Bindungsvermögen nicht, wie man zuerst glaubte, intakt läßt. Das Bindungsvermögen erlischt vielmehr parallel zu dem Immunisierungsvermögen (v. Szily). Die Blutzellen erhalten wohl durch die Osmierung die Eigenschaft, die Wirkung zugesetzter Immunlysine aufzuheben, aber dieser Effekt ist nach den Angaben der Autoren ein unspezifischer, da er ebensogut durch heterologes als durch homologes Blut hervorgebracht werden kann. v. Szily und Busson nehmen deshalb eine unspezifische Adsorption durch das Osmiumblut an.

Als wir das Experiment wiederholten, fanden wir, wie wir erwarteten, die zitierten Resultate bestätigt, bemerkten aber, daß das von uns verwendete Immunserum nach dem Kontakt mit Osmiumblut nur die hämolytische Wirkung zum größten Teil oder ganz verloren hatte, während das Agglutinationsvermögen nicht oder nicht stark vermindert wurde. (Daß osmierte Bacillen kein Agglutinin binden, erwähnt Busson.)

2 ccm gewaschenes, auf das ursprüngliche Volumen gebrachtes Blut wurden mit 2 ccm 2-proz. Osmiumsäure (mit einem Gehalt von 1 Proz. NaCl) 1 Tag lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann viermal mit je 10 ccm NaCl-Lösung gewaschen.

- 1) Biochem. Zeitschr., Bd. 14, 1908, p. 125.
- 2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, p. 451.
- 3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, p. 515.
- 4) Biochem. Zeitschr., Bd. 46, 1912, p. 225.

1,5 ccm $\frac{1}{30}$ Pferdeblutimmenserum von Kaninchen + 0,5 ccm des osmierten Blutes von Kaninchen und Taube.

Agglutination		Hämolyse	
Kontrolle	32	Kontrolle	32
Osmiertes Kaninchenblut	24	Osmiertes Kaninchenblut	4
Osmiertes Taubenblut	32	Osmiertes Taubenblut	0
Titriert für Pferdeblut		Titriert für Pferdeblut	

Das Versuchsergebnis ist insofern auffallend, als die Behandlung mit osmiertem Blut anscheinend die Trennung zweier Gruppen von Immunsubstanzen ermöglicht, während alle bisher geprüften Adsorptionsmittel gegenüber differenten Antikörpern aus Immunsereen wenigstens kein durchgreifend verschiedenes Verhalten zeigen. Die Vermutung, daß bei der Behandlung mit Osmiumblut Stoffe in die Flüssigkeit übergehen könnten, die die Komplementwirkung hemmen, erwies sich nicht als zutreffend.

Wir behandelten parallel inaktives verdünntes Hammelhämolysin und ebensolches Pferdehämolysin (Kaninchensereen) mit osmiertem Kaninchenblut und setzten zu dem Abguß des Hammellysins unverändertes verdünntes Pferdelysin und umgekehrt zu dem abgegossenen Pferdelysin unverändertes Hammellysin. Bei der Prüfung der beiden Mischungen sowohl mit Hammel- als mit Pferdeblut unter Zusatz von Komplement zeigte es sich, daß die Hemmung jedesmal gegenüber dem Hämolysin beträchtlich stärker eintrat, das mit osmiertem Blut in Berührung war. Man muß deshalb schließen, daß die Wirkung auf das Immunlysin selbst stattfindet, so wie die obengenannten Autoren es meinen. Wahrscheinlicher als die Voraussetzung einer Adsorption nur der Lysine scheint zunächst die Annahme, daß bei der Berührung mit osmiertem Blut nicht eine Bindung, sondern eine Veränderung der Immunkörper stattfindet derart, daß zwar die Agglutination nicht gestört wird, aber jene Reaktionen, die unter Komplementwirkung stattfinden, eine Hemmung erfahren. Diese Deutung könnte dadurch unterstützt werden, daß ein analoger Fall von v. Dungern und Hirschfeld¹⁾ beschrieben wurde, nämlich eine Veränderung hämolytischer Immunsereen durch Jod, die zur Schwächung oder Aufhebung der Lysinwirkung führt, während der Agglutinationseffekt erhalten bleibt. Gegen diese Auslegung spricht aber vielleicht die Angabe von Rosenthal, daß von dem Osmiumblut aufgenommene Lysine wieder abgegeben werden können. Wir halten demnach zur Aufklärung unserer Beobachtung neue Versuche für nötig.

Zusammenfassung.

1) Bei der Einwirkung von Säuren und Basen auf Blutstromata erweist sich wieder die beträchtliche Widerstandsfähigkeit der bindenden Stoffe der roten Blutkörperchen. Entsprechend den in einer vorhergehenden Mitteilung gegebenen

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, p. 557.

Daten ist der Effekt der Einwirkung je nach der Art des angewendeten Agglutinins oder Lysins verschieden groß.

2) Werden Tiere mit Stromata, die mit HNO_3 behandelt wurden, immunisiert, so bilden sich bei konzentrierter Säure keine Agglutinine und Lysine, wohl aber entstehen solche Stoffe, wenn auch in geringerem Maße, bei schwächeren Konzentrationen von HNO_3 .

Aus Absorptionsversuchen mit diesen Seren ergibt sich eine Herabsetzung der artspezifischen Bindung, die aber in ähnlicher Weise, wenn auch etwas weniger ausgesprochen, bei Coctoseren und gekochten Stromata nachweisbar war. Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich demnach mit den Resultaten von Obermayer und Pick über die Veränderung der präzipitablen Substanz durch Nitrieren nicht in Parallele stellen. Die in den Seren enthaltenen komplementbindenden Antikörper zeigten hingegen ein anderes Verhalten als die Agglutinine und Lysine, da hier ein Verlust der Artspezifität ganz konform den Angaben von Obermayer und Pick eingetreten war. Aus diesem Ergebnis ist eine Verschiedenheit der lytischen und komplementbindenden Stoffe zu erschließen.

3) Behandlung der Stromata mit Agentien, die von wesentlichem Einfluß auf das Bindungsvermögen der Proteinsubstanzen für Farbstoffe sind — nämlich die Einwirkung von Acetanhydrid oder saurem Alkohol — bewirkt auch die Inaktivierung des Vermögens, Agglutinin zu binden, und zwar stört die Einwirkung von Acetanhydrid die Bindung sowohl von Pflanzenagglutinin (Abrin) als auch von normalem Serumagglutinin, die Behandlung mit saurem Alkohol nur die Bindung von Serumagglutinin. Dadurch erscheint auf chemischem Wege eine Differenzierung verschiedener, die Agglutininbindung bedingender Strukturen gegeben.

4) Bei der Behandlung eines auf Pferdeblut wirkenden Immunserums von Kaninchen mit osmierten Blutkörperchen wurde, wie schon andere Autoren beobachteten, die hämolytische Wirkung des Immunserums hochgradig reduziert. Nach eigenen Versuchen nimmt auffallenderweise im Gegensatz dazu der Agglutininwert nur wenig ab.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.]

Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern.

Von **Oskar Bail** und **Karl Rotky**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. Februar 1913.)

In zwei früheren Arbeiten von Bail und Tsuda¹⁾ war nachgewiesen worden, daß es gelingt, von Choleravibrionen, welche mit entsprechenden Mengen inaktiven, normalen Rinderserums sensibilisiert sind, die aufgenommenen Immunkörper durch Digestion in physiologischer Kochsalzlösung wieder abzusprengen. Man erhält dadurch Flüssigkeiten, die, an sich stets ohne jede bakteriolytische Wirkung, eine solche sofort und oft in stärkstem Grade nach Zusatz von Meerschweinchen-serum als Komplement entfalten.

Im Grunde genommen ist dies nur eine Wiederholung und Erweiterung älterer Experimente von Pfeiffer und Friedberger²⁾, in denen gezeigt worden war, daß Meerschweinchen, die eine gewisse Menge von Choleravibrionen mit Hilfe spezifischen Immunserums in ihrer Bauchhöhle aufgelöst hatten, imstande waren, noch weitere Vibrionen ohne neuerliche Anwendung von Immunserum zu zerstören. In Reagenzglasversuchen hatten Morgenroth für Hämolsine³⁾, Landsteiner und Jagič für Agglutinine⁴⁾ eine ähnliche Ablösung des bereits gebundenen Antikörpers von seinem Antigen in wirksamer Form beobachtet.

Bail und Tsuda studierten die näheren Umstände, unter denen die Absprengung des normalen Rinderserumimmunkörpers von damit beladenen Choleravibrionen stattfindet und stellten fest, daß dafür einerseits die Temperatur, andererseits das Medium von Bedeutung sei. Für die Immunkörperablösung in Kochsalzlösung wurde gefunden, daß sie zwar wahrscheinlich bei jeder Temperatur, die anwendbar ist, erfolgt, am besten aber bei Graden, die etwas über Körpertemperatur, etwa bei 42° liegen. Bezüglich des Mediums ergab sich, daß die Absprengung in Meerschweinchen- oder Rattenserum (aktiv und inaktiv) ähnlich gut gelingt, wie in Kochsalzlösung, daß hingegen in Rinder-, Pferde-, Schaf- und Schweineserum

1) Diese Zeitschr., Bd. 1, No. 4 u. 6.

2) Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903, p. 77.

3) Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 2.

4) Münch. med. Wochenschr., 1903, p. 764.

in inaktivem Zustande eine solche nicht zu beobachten ist, indem die sensibilisierten Vibrionen, statt Immunkörper abzugeben, noch neue aus diesen Seren aufnehmen.

Es konnte weiter gezeigt werden, daß nicht nur Cholera-vibrionen, welche mit inaktivem Rinderserum sensibilisiert waren, solche Immunkörper an Kochsalzlösung abgeben, sondern auch Granularrückstände, wie sich dieselben nach Anwendung aktiven Serums bilden. Daraus und aus der Tatsache, daß die Abspaltung der gebundenen Immunkörper aus inaktivem Serum in ganz indifferenten Flüssigkeiten erreicht werden kann, mußte der Schluß gezogen werden, daß die Intervention des Komplements, also die Vollendung des durch die Immunkörperbindung erst eingeleiteten bakteriolytischen Aktes, für das Wiederfreiwerden des Immunkörpers nicht von entscheidender Bedeutung sein könne.

Die genauere Untersuchung der in Kochsalzlösung von mit Rinderserum sensibilisierten Vibrionen abgelösten Immunkörper ergab eine gewisse, ganz unverkennbare Spezifität ihrer Wirkung.

Es wurde schon damals angedeutet, daß in derartigen Versuchen möglicherweise ein Weg zur Erklärung der Antikörperbildung überhaupt gewiesen sein könnte. Denn diese hat vor allem zwei Punkte, mit denen sich jeder Erklärungsversuch vor allem anderen zu befassen hat: die Spezifität der Antikörper und das Mißverhältnis, das ziemlich regelmäßig zwischen der geringen Menge injizierten Antigens und der großen Menge der gebildeten Antikörper besteht.

Die Frage der Spezifität findet zweifellos ihre beste Lösung in der älteren Annahme, daß die Antikörper nichts anderes als direkte oder indirekte Abkömmlinge der injizierten Antigene seien. Der Anerkennung dieser Lehre stand aber vor allem der zu erklärende zweite Punkt, das Mißverhältnis zwischen Antigen und Antikörpermenge, entgegen und ebenso der Umstand, daß bisher genauere Angaben über die Art der Abkunft zweier so gegensätzlicher Dinge nicht gemacht, ja nicht einmal Analogien dafür gegeben werden konnten.

Aus diesen Gründen wohl hauptsächlich hat die Ehrlichsche Theorie der Antikörperbildung eine wenigstens prinzipiell fast allgemeine Anerkennung gefunden. Gleichwohl

ist leicht zu sehen, daß sie die eine der Hauptfragen, die nach der Spezifität, mehr umgeht als löst, indem sie von vornherein eine überaus große Mannigfaltigkeit der Immunkörper schon im normalen Serum annimmt und eine ebensolche für den an Zellen sitzenden Rezeptorenapparat postuliert, welcher später die eigentliche Grundlage für die neuentstehenden Antikörper abgeben soll. Hingegen gibt die Theorie für die große Zahl der entstehenden Antikörper durch unbegrenzte Ueberregeneration der Zellrezeptoren eine befriedigende Erklärung, allerdings um den Preis, daß sie die eigentlich bestimmenden Vorgänge aus dem Blute weg in Zellen verlegt und das Blut nur noch als den relativ für die Antikörperbildung irrelevanten Träger der Antikörper ansieht. Aber gerade diese Verbindung humoraler Lehren mit cellulärer Bildungsweise der wirksamen Stoffe der Körperflüssigkeiten mußte bestechend sein.

Die eingangs kurz besprochenen Versuchsergebnisse führten hingegen bereits Bail und Tsuda zu der Vermutung, daß wohl eine andere Erklärung der Antikörperbildung möglich sein könnte. Es sei gestattet, die Anschauung in den allgemeinsten Ausdrücken wiederzugeben, welche die Wiederaufnahme dieser Versuche leitete und die sich im ganzen als brauchbar, und, was wichtiger ist, auch als experimentell beweisbar erwies. Injiziert man einem Tiere, dessen Blut schon normal Immunkörper gegen Choleravibrionen hat, solche in die Blutbahn, so muß es zu einer Bindung derselben kommen, die aber nicht stabil ist, sondern sich unter noch genauer zu bestimmenden Umständen wieder löst. Die abgelösten Immunkörper sind aber, und zwar im Sinne der Spezifität, verändert; sie haben, wie man sich vorstellen kann, mit der Cholerasubstanz Bestandteile ausgetauscht, beispielsweise haben sie aus der Substanz der Vibrionen einen Bestandteil x aufgenommen. Der von der Cholerasubstanz danach übrigbleibende Rückstand ist nicht mehr imstande, an diese veränderten Immunkörper heranzutreten, wohl aber besitzt er noch Bindungsfähigkeit für die normalen Immunkörper, die wieder neu aufgenommen und nach Erlangung der Spezifität abgegeben werden. Die Folge davon ist eine beständige Anreicherung des Blutes mit veränderten, eine Verarmung an normalen Immunkörpern. Da diese aber wohl eine notwendige

Funktion im Tierkörper zu erfüllen haben, die von den spezifisch veränderten nicht mehr geleistet werden kann, so tritt Ersatz derselben ein. Die neugebildeten aber verändern sich wieder durch Herantreten an die Rückstände des Antigens, und zwar so lange, als diese noch reaktionsfähig sind, also im obigen Beispiele die austauschbare Substanz x enthalten. So ist es denkbar, daß eine sehr geringe Antigenmenge zu großartigen Veränderungen im Blute Veranlassung gibt, ohne daß dabei etwas anderes als die im Blute schon vorhandenen normalen Funktionen intervenieren müßten: die Bildungsstätte der Antikörper sind lediglich die Körperflüssigkeiten. Wie sehr aber Antigene, z. B. Choleravibrionen, imstande sind, normales Blut zu beeinflussen, das zeigt die jedermann bekannte Erfahrung. Es wird sich im Verlaufe der Darstellung zeigen, daß diese Anschauung im Prinzip richtig war, im Detail mancher Aenderung bedurfte.

Die Technik der älteren Versuche von Bail und Tsuda benutzte als Reagens auf die Anwesenheit und Wirksamkeit von bakteriolytischen Kräften den mikroskopischen Versuch, die Granulabildung. Diese Methode wurde nunmehr durch die Zahlenwerte liefernde Methode des bakteriziden Plattenversuches ersetzt. Deshalb war es zuerst notwendig, die früheren Versuche zu wiederholen.

Die beiden anfangs zu Versuchen vorwiegend benutzten Cholerasträmme verdanken wir dem liebenswürdigen Entgegenkommen von Prof. Kraus in Wien, sie sind als Chol. Kraus und Konstantinopel bezeichnet. Der früher verwendete Stamm Pfeiffer war nicht mehr zu brauchen, da er, offenbar infolge der fortwährenden saprophytischen Züchtung, eine derartige Empfindlichkeit angenommen hatte, daß das als Komplement benutzte Meerschweinchenserum ihn allein schon in sehr kleinen Dosen abtötete. Später wurde vorwiegend der Cholerastramm 74, für den wir Herrn Prof. Neufeld zu Dank verpflichtet sind, verwendet.

Tabelle I.

Eine üppig gewachsene Kultur von Chol. Kraus wurde mit inaktivem Rinderserum 1 Stunde bei 40°, dann 15 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten, die stark agglutinierte Bakterienmasse sorgfältig gewaschen und in 1 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° extrahiert. Nach Zentrifugieren wurde der erhaltene Extrakt gleichzeitig mit dem als Kontrolle dienenden Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt und zu den einzelnen Proben je 0,05 ccm frisches Serum eines kleinen Meerschweinchens in 0,4 ccm NaCl-Lösung zugesetzt. Einsaat Cholera Kraus = 65 000.

26*

	Nach 4 Stunden
0,15 ccm Extrakt + 0,4 ccm Komplementverdünnung	1240
0,075 " " + 0,4 " "	72
0,025 " " + 0,4 " "	52
0,15 " inaktiviertes Rinderserum	24
0,075 " " "	5
0,025 " " "	0
0,15 " Extrakt + 0,4 ccm NaCl-Lösung	unzählbar
0,15 " Rinderserum inaktiv. + 0,4 NaCl-Lösung	" "
0,15 " NaCl-Lösung + 0,5 ccm Komplementverdünnung	60 000

Der gleichzeitig und mit denselben Flüssigkeiten ausgeführte mikroskopische Versuch zeigte bei Extrakt und Rinderserum bis zu der letzten Dosis (0,01 ccm) herab vollständige Granulabildung; ohne Komplement war beides wirkungslos.

Tabelle II.

Eine Kultur von Chol. Konstantinopel wurde mit 15 ccm inaktivem Rinderserum 1 Stunde bei 37°, dann 15 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten, zentrifugiert, gewaschen und mit 1 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° extrahiert. Einsaat 73000.

1) 0,15 ccm Extrakt + 0,05 ccm Komplement	1732
2) 0,075 " " + 0,05 " "	532
3) 0,025 " " + 0,05 " "	912
4) 0,15 ccm Rinderser. + 0,05 ccm Komplement	39
5) 0,075 " " + 0,05 " "	127
6) 0,025 " " + 0,05 " "	132
7) 0,15 " Extrakt + 0,4 ccm NaCl-Lösung	unzählbar
8) 0,15 " Rinderser. 56° + 0,4 ccm NaCl-Lös.	" "
9) 0,15 " NaCl-Lös. + 0,05 ccm Komplement	ca. 100 000

Der gleichzeitige mikroskopische Versuch ergab in den Extraktproben bis zur letzten Dosis herab (0,01 ccm) Granulabildung, ähnlich im Rinderserum.

Es genügt, diese beiden Versuche als Beispiel der Methodik anzuführen. Die Wirkung der Kochsalzextrakte erkennt man ebensogut in den zahlreichen folgenden Versuchen, welche sich zunächst damit befaßten, nachzuweisen, daß diese Extrakte ähnlich wie das inaktivierte Rinderserum durch Choleravibrionen zu erschöpfen seien. Gleichzeitig wurden aber auch andersartige Mikroorganismen zu diesen Erschöpfungsversuchen benutzt.

Tabelle III.

Aus 2 Kulturen von Chol. Kraus wird in der gewöhnlichen Weise mit 2 ccm NaCl-Lösung ein Extrakt hergestellt. Die eine Hälfte desselben wird mit einer halben Kultur Chol. Kraus $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt und zentrifugiert (Extrakt b), die andere bleibt unverändert (Extrakt a). Vor dem Versuche werden die beiden Extrakte $\frac{1}{2}$ Stunde bei 58° erwärmt. Einsaat: Chol. Kraus = 20 000.

	Extrakt a	Extrakt b
0,2 ccm + 0,05 ccm Kompl. (in 0,4 ccm)	4000	unzählbar
0,1 " + 0,05 " " dgl.	800	"
0,075 " + 0,05 " " "	800	"
0,025 " + 0,05 " " "	3000	"
0,2 " + 0,4 " NaCl-Lösung	unzählbar	"

Tabelle IV.

Aus 3 Kulturen von Chol. Kraus wird in der gewöhnlichen Weise mit 3 ccm NaCl-Lösung ein Extrakt hergestellt, in drei Teile verteilt und a) unverändert belassen, b) mit Chol. Kraus, c) mit Vibrio Finkler-Prior bei 37° behandelt. Die behandelten Extrakte werden sorgfältig zentrifugiert und alle vor dem Versuche 1/2 Stunde bei 58° erwärmt. Einsaat Chol. Kraus = 10 000.

	Extrakt a	Extrakt b	Extrakt c
0,15 ccm + 0,05 ccm Kompl. (in 0,4 ccm)	800	8 000	800
0,075 " + 0,05 " " dgl.	100	8 000	2000
0,025 " + 0,05 " " "	100	10 000	100
0,15 " + 0,4 " NaCl-Lösung	Vermehrung überall		

Tabelle V.

Drei Kulturen Chol. 74 werden über Nacht mit einer Mischung von 10 ccm aktivem und 30 ccm inaktiviertem Serum behandelt, dann gewaschen und mit 3 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° extrahiert; unmittelbar vor dem Zentrifugieren wird 1 ccm aktives Meerschweinchenserum zugesetzt. Der gewonnene klarzentrifugierte Extrakt wird a) unverändert belassen, b) mit 3 Oesen lebender Chol. 74, c) ebensoviel Chol. Konstantinopel, d) Vibrio b, e) Typhus 1 Stunde bei 37° behandelt, zentrifugiert und hierauf 1/2 Stunde auf 56° erwärmt (je 0,75 ccm) Einsaat Cholera 74 = 97 000.

	Extrakt a	Extrakt b	Extrakt c
0,075 ccm + 0,05 ccm Kompl. (in 0,4 ccm)	5280	unzählig	unzählig
0,025 " + 0,05 " " dgl.	1324	"	"
	Extrakt d	Extrakt e	
0,075 ccm + 0,05 ccm Kompl. (in 0,4 ccm)	4240	3128	
0,25 " + 0,05 " " dgl.	1256	1440	

Inaktives Rinderserum ergab unter den gleichen Verhältnissen 92 und 968 Kolonien, die entsprechende Verdünnung von 3 ccm NaCl-Lösung mit 1 ccm Meerschweinchenserum unzählbar viele Kolonien, ebenso die Komplementkontrolle.

Tabelle VI.

5 Kulturen Chol. 74 werden über Nacht mit 65 ccm inaktivem + 10 ccm aktivem Rinderserum behandelt, zentrifugiert, gewaschen und mit 4 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 37° extrahiert. Der durch Zentrifugieren geklärte Extrakt wird in Dosen von je 0,8 ccm a) unverändert belassen, b) mit 1/4 Kultur bei 60° abgetöteter Chol. 74, c) Vibrio 134, d) Vibrio b, e) Typhus 1/2 Stunde bei 37° behandelt. Nach sorgfältigem Zentrifugieren werden alle Proben 1/2 Stunde auf 58° erwärmt und in den Dosen von

,1, 0,05 und 0,01 ccm mit je 0,05 Komplement versetzt. Einsaat Chol. 74 = 62 000.

Extrakt a	Extrakt b	Extrakt c	Extrakt d	Extrakt e	Rinders.
68	über 100 000	35	3	588	0
1928	dgl.	12	15	1296	0
2064	„	1040	1400	4800	128

Komplementkontrolle über 100 000.

Die Versuche zeigen ganz klar, daß sich Kochsalzextrakte aus in verschiedener Art mit Rinderserum sensibilisierten Vibrionen durch Behandlung mit den zugehörigen Vibrionen unwirksam machen lassen. Ohne eigens Versuche anzuführen, sei, was ja danach selbstverständlich ist, erwähnt, daß sich normale Vibrionen, welche dem Einflusse eines solchen an sich nie bakteriziden Extraktes ausgesetzt waren, als sensibilisiert erweisen und nach Zusatz von bloßem Meerschweinchenserum als Komplement der Bakteriolyse unterliegen.

Ebenso deutlich geht aus den erwähnten Versuchen hervor, daß die Extrakterschöpfung durch Bakterien in spezifischer Weise verläuft, was mit den früher durch bloße mikroskopische Untersuchung erhaltenen Resultaten, wonach aus sensibilisierten Vibrionen hergestellte Extrakte nur für die gleichen Vibrionen überhaupt oder doch nur maximal wirksam sind, gut übereinstimmt. Es soll jedoch in der gegenwärtigen Arbeit auf die Frage der Spezifität nicht im Detail, sondern nur wo dies unbedingt notwendig erscheint, eingegangen werden. Genauere Untersuchungen sollen einer eigenen Arbeit vorbehalten sein, wie es die Wichtigkeit des Gegenstandes wohl verdient. Vorläufig nahm die Ermittlung der Bedingungen, unter denen die Ablösung der von Bakterien aufgenommenen normalen Rinderimmunkörper erfolgt, alle Aufmerksamkeit in Anspruch und erforderte so ausgedehnte und teilweise schwierige Versuche, daß daneben die Untersuchung der Spezifität in eingehender Weise ganz unmöglich war. Mindestens eine quantitative, wenn auch nicht immer absolute Spezifität war aber durchaus unverkennbar.

Untersucht man das Bindungsvermögen der extrahierten Rückstände von sensibilisierten Choleravibrionen auf die erhaltenen Kochsalzextrakte, so ist dasselbe sehr gering oder gar nicht vorhanden.

Tabelle VII.

Eine üppige Kultur von Chol. Konstantinopel wurde über Nacht mit 25 ccm inaktiviertem Rinderserums behandelt, zentrifugiert, gewaschen und mit 1,5 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° extrahiert. Nach dem Abzentrifugieren des erhaltenen Extraktes I wurde der Rückstand neuerlich mit 1,5 ccm NaCl-Lösung extrahiert, wodurch der Extrakt II erhalten

Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern. 385

wurde. Der in zwei Teilen gewaschene Rückstand wurde nun einerseits mit 0,75 ccm von Extrakt I, andererseits mit ebensoviel inaktivem Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt. Die danach klarzentrifugierten Flüssigkeiten werden als Extrakt Ia und Rinderserum a bezeichnet. Vor dem mit einer Einsaat von 90 000 Vibrionen begonnenen Versuche wurden alle Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erhitzt.

	Extrakt I	Extrakt Ia	Extrakt II
0,15 ccm + 0,05 ccm Kompl.	6280	4 128	27 000
0,075 „ + 0,05 „ „	6880	5 640	3 848
0,025 „ + 0,05 „ „	7264	90 000	11 000
0,15 „ + 0,4 „ NaCl-Lös.	überall unzählbar		

	Rinderser. 56°	Rinderser. a 56°
0,15 ccm + 0,05 ccm Kompl.	1456	unzählig
0,075 „ + 0,05 „ „	1616	„
0,025 „ + 0,05 „ „	832	„
0,15 „ + 0,5 „ NaCl-Lös.	überall unzählbar	

Tabelle VIII.

Zwei Kulturen Chol. Konst. wurden mit 40 ccm inaktivem Rinderserum über Nacht behandelt und daraus in der gewöhnlichen Weise mit 2,4 ccm NaCl-Lösung ein Extrakt gewonnen. Nach Abzentrifugieren desselben wurde der verbleibende Bodensatz neuerlich mit 2,4 ccm NaCl 1 Stunde bei 42° extrahiert; die erhaltenen Extrakte sind als Extrakt I und II bezeichnet. Der Rückstand wurde hierauf in 2 Teilen gewaschen, der eine mit 0,8 ccm Extrakt I, der andere mit ebensoviel inaktivem Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt. Die abzentrifugierten Flüssigkeiten werden als Extrakt Ia und Rinderserum a bezeichnet. Andere je 0,8 ccm von Extrakt I und inaktivem Rinderserum werden in der gleichen Weise mit je einer Oese lebender Chol. Konst. behandelt (Extrakt Ib und Rinderser. b). Alle Versuchsflüssigkeiten werden vor Einsaat $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Einsaat Konst. = 90 000. Angewendet werden die Dosen von 0,15, 0,075 und 0,025 ccm mit je 0,05 ccm Kompl. in 0,4 ccm Flüssigkeit.

Extr. I	Extr. Ia	Extr. Ib	Extr. II	Rinders. 56°	Rinders. a	Rinders. b
12 300	8 680	14 000	20 000	9 000	unzählbar	80 000
3 448	8 040	12 000	ca. 60 000	5 840	„	30 000
3 920	14 000	50 000	dgl.	16 000	„	30 000

Die Kontrollproben ohne Komplement und mit Komplement allein wiesen eine unzählbare Menge von Kolonien auf.

Tabelle IX.

3 Kulturen Chol. Konst. werden mit 25 ccm inaktivem Rinderserum über Nacht sensibilisiert und daraus in der gewöhnlichen Weise 2 ccm Extrakt I hergestellt; der zum zweiten Male mit 2 ccm NaCl extrahierte Bodensatz ergibt den Extrakt II. Je 0,6 ccm dieser beiden Extrakte sowie von inaktivem Rinderserum werden in den mit a bezeichneten Proben mit je $\frac{1}{4}$ des nach der zweiten Extraktion gebliebenen Satzes, in den mit b bezeichneten Proben mit je $\frac{1}{4}$ Kultur bei 60° abgetöteter Chol. $\frac{1}{2}$ Stunde

bei 37° behandelt. Verwendet werden die Dosen von 0,1, 0,05 und 0,02 ccm der klarzentrifugierten, dann $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzten Flüssigkeiten. Einsaat Chol. Konst. = 90 000.

Extr. I	Extr. Ia	Extr. Ib	Extr. II	Extr. II a	Extr. II b
3	4600	4 520	3928	10 100	27 000
1296	3968	7 300	3800	316	42 000
1356	7840	ca. 40 000	972	3 840	üb. 600 000
	Rinderser. 56°	Rinderser. a	Rinderser. b		
	1760	üb. 300 000	unzählbar		
	6800	" 50 000	"		
	7760	dgl.	"		
	Komplementkontrolle ca. 500 000				

Obwohl die erhaltenen Extrakte in den meisten dieser Versuche relativ ebenso schwach wirkten wie das Rinderserum, aus dem sie hergestellt wurden, ist doch nicht zu verkennen, daß sie durch die von der Extraktion herrührenden Rückstände nur in geringerem Maße beeinflußt werden, was beim Rinderserum in hohem Grade der Fall ist. Wohl aber unterliegen sie der Erschöpfung durch die nicht sensibilisierten, lebenden oder toten Vibrionen. Im Versuch der Tabelle IX zeigt besonders der zweite Extrakt diese Eigentümlichkeit, während der erste, der viel stärker ist als das Rinderserum, aus dem er hergestellt wurde, sie nicht so deutlich ergibt.

Wollte man diese Versuche als beweisend und für den Tierkörper in analoger Weise gültig ansehen, so wäre der Schluß überraschend und bestechend einfach. Es würde dann auf das Studium der Sensibilisierung der injizierten Vibrionen ein Stadium der Absprengung der aufgenommenen Immunkörper folgen. Diese losgelösten Immunkörper würden von den Vibrionenresten nicht mehr gebunden, wohl aber würden diese noch andere normale Immunkörper an sich reißen. Für den Fall, daß auch diese dann wieder abgesprengt würden, müßte eine bedeutende Verarmung an normalen Immunkörpern die Folge sein, gleichzeitig auch deren Ersatz durch solche, welche schon einmal mit Vibrionen in Berührung waren und dadurch ihren Charakter geändert haben, soweit bekannt im Sinne einer mehr weniger ausgesprochenen Spezifität.

Daß Schlüsse in dieser Form nicht zulässig sind, zeigte sich schon, als versucht wurde, wenigstens den einen der Faktoren, die im Tierkörper tätig sind, das Komplement, mit

in Rechnung zu ziehen. Weitere Schwierigkeiten ergaben sich dann, als es sich darum handelte, die in Kochsalzlösung so leicht erfolgende Ablösung der Immunkörper von den Vibrionen in dem Serum herbeizuführen, das zur Sensibilisierung gedient hatte.

Die erste Frage war, ob die im Reagenzglasversuche zu beobachtende Immunkörperablösung auch im Tiere erfolgen könne. Für Versuche in der Peritonealhöhle mit künstlichem Immunserum ist dies bereits durch Versuche von Pfeiffer und Friedberger, sowie Bail und Tsuda nachgewiesen. Jetzt handelte es sich darum, von mit Rinderserum sensibilisierten Vibrionen die Immunkörper in der Blutbahn des lebenden Tieres abzusprenge. Am Meerschweinchen gelangen die Versuche sofort, wie auch außerhalb des Tierkörpers der normale Rinderimmunkörper mit Leichtigkeit an frisches Meerschweinchenserum abgegeben wird.

Tabelle X.

Serum aus frisch entnommenem Meerschweinchenblut wird teils unverändert (Serum b), teils nach 1-stündiger Behandlung mit einer Kultur Cholera Kraus, die mit 20 ccm inaktiviertem Rinderserum sensibilisiert war, bei 37° (Serum a) 1/2 Stunde auf 56° erhitzt. Einsaat 160 000 Cholera Kraus.

	Serum a	Serum b
0,15 ccm + 0,05 ccm Kompl. in 0,4 ccm	6240	unzählbar
0,075 " + 0,05 " " " 0,4 "	1952	"
0,025 " + 0,05 " " " 0,4 "	656	"
0,15 " + 0,4 " NaCl-Ls.	unzählbar	"

Komplementkontrolle: unzählbar.

Es sei hier gleich eine auch in vielen früheren und späteren Versuchen mehr oder minder deutlich hervortretende Eigentümlichkeit erwähnt, die darin besteht, daß höhere Dosen der immunkörperhaltigen Flüssigkeit schlechter als geringere wirkten. Eine Trübung der Versuchsdeutlichkeit brachte dieses als Komplementablenkung bekannte, übrigens nicht ganz regelmäßige Phänomen meist nicht hervor.

Tabelle XI.

Einem ca. 400 g schweren Meerschweinchen wird zunächst aus der Carotis Blut entnommen, welches das Serum a und überdies das Komplement für den Versuch liefert. Gleich darauf erhält es in die Jugularis eine Injektion von 1 1/2 Kulturen Cholera Kraus, die mit ca. 25 ccm inaktivem Rinderserum 1 Stunde lang bei 40° sensibilisiert, gewaschen und in NaCl-

Lösung verteilt waren. Das schon durch die zu starke Blutentnahme sehr entkräftete Tier starb etwa 10 Minuten nach der Injektion; aus dem Herzen ließ sich noch genügend Blut gewinnen, welches das sterile Serum b lieferte. Beide Sera wurden vor der Herstellung der mit 60 000 Cholera Kraus bzw. 20 000 Typhus besäten Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

	Einsaat Chol. Kraus	Einsaat Typhus
0,15 ccm Ser. a + 0,05 ccm Kpl. in 0,4	unzählbar	30 000
0,075 " " + 0,05 " " " 0,4	"	9000
0,025 " " + 0,05 " " " 0,4	"	11 000
0,15 " " + 0,4 " NaCl-Ls.	"	unzählbar
0,15 " Ser. b + 0,05 " Kpl. in 0,4	200	20 000
0,075 " " + 0,05 " " " 0,4	200	8000
0,025 " " + 0,05 " " " 0,4	3000	25 000
0,15 " " + 0,4 " NaCl-Ls.	unzählbar	unzählbar

Tabelle XII.

Einem großen Meerschweinchen werden 7 ccm Blut aus der Carotis entnommen, die das Serum a liefern. Gleich darauf werden dem Tiere in die Jugularis $1\frac{1}{2}$ Kulturen Konstantinopel injiziert, welche über Nacht mit 25 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert und darauf gewaschen waren. Das nach $\frac{3}{4}$ Stunden ohne besondere Krankheit verblutete Tier gab das Serum b. Beide Sera wurden $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt. Als Komplement diente Serum eines jungen Meerschweinchens. Die Einsaat hetrug für Chol. Konstantinopel ca. 1 Million, für Typhus 80 000.

	Einsaat Chol.	Einsaat Typhus
0,1 ccm Serum a + 0,05 ccm Kpl. in 0,4	unzählbar	90 000
0,05 " " + 0,05 " " " 0,4	"	über 100 000
0,01 " " + 0,05 " " " 0,4	"	dgl.
0,005 " " + 0,05 " " " 0,4	"	"
0,1 " NaCl-Ls. + 0,4 " NaCl-Ls.	"	"
0,1 " Serum b + 0,05 " Kpl. in 0,4	204	32 000
0,05 " " + 0,05 " " " 0,4	3808	50 000
0,01 " " + 0,05 " " " 0,4	5040	über 100 000
0,005 " " + 0,05 " " " 0,4	9000	dgl.
0,1 " " + 0,4 " NaCl-Ls.	unzählbar	"

Tabelle XIII.

3 Kulturen von Chol. Konstantinopel wurden mit 30 ccm inaktivem Rinderserum über Nacht sensibilisiert und in 2 Teilen gewaschen. Der eine Teil wird mit 1 ccm frischem Meerschweinchenserum $1\frac{1}{4}$ Stunde lang bei 37° gehalten, dann als Extrakt Ms. zentrifugiert. Den anderen Teil erhält ein Meerschweinchen von 380 g, dem vorher aus der Carotis Blut genommen war (Serum a) in die Jugularis; das nach $1\frac{1}{4}$ Stunde ohne besondere Krankheit verblutete Tier lieferte das Serum b. Alle Versuchsfüssigkeiten wurden $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt. Einsaat Chol. Konstantinopel = 70 000.

	Serum a	Serum b	M.-Serextr.	Mschw.-Ser.
0,1 ccm + 0,05 ccm Kpl.	unzählbar	412	1344	unzählbar
0,05 " + 0,05 " " "	"	unzählbar	3000	"
0,01 " + 0,05 " " "	"	"	30 000	"

Komplementkontrolle = unzählbar.

Tabelle XIV.

4 Kulturen Cholera Konstantinopel wurden über Nacht mit 40 ccm inaktivem Rinderserum behandelt und hierauf in 4 Teilen gewaschen. Ein Teil wird in NaCl-Lösung verteilt einem Meerschweinchen von 400 g, dem vorher aus der Carotis Blut (liefert Serum a) genommen war, in die Jugularvene injiziert. Das Tier wird nach 2 Stunden ohne besondere Krankheit verblutet (Serum b). Inzwischen war mit dem bereits abgeschiedenen, ganz frischen Serum a (1 ccm) ein anderer Teil der sensibilisierten Vibrionen aufgeschwemmt worden. Diese Aufschwemmung blieb 2 Stunden bei 37° stehen, wobei alle Vibrionen in Granula zerfielen. Dann wurde die Flüssigkeit als Extrakt abzentrifugiert. Alle Flüssigkeiten wurden vor dem Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Einsaat Chol. Konstantinopel = 9200.

	Serum a	M.-Serextrakt	Serum b
0,15 ccm + 0,05 ccm Kompl.	unzählbar	2120	1728
0,075 „ + 0,05 „ „	„	—	1240
0,025 „ + 0,05 „ „	„	3768	5300
0,01 „ + 0,05 „ „	„	7100	19 000

Komplementkontrolle = unzählbar.

Es unterliegt, obzwar die Versuche einige Schwankungen aufweisen, doch keinem Zweifel, daß auch innerhalb der Blutbahn des lebenden Meerschweinchens, und zwar, wie Tab. XI lehrt, schon in der kürzesten Zeit eine Anreicherung mit bakteriolytischen Immunkörpern eintritt, die gar nicht anders als durch eine Ablösung der von den Vibrionen aufgenommenen Rinderserumimmunkörper zu erklären ist, wie sie auch außerhalb des Tieres in dessen frisch abgeschiedenen Serum eintritt. Man hat also einiges Recht, aus Reagenzglasversuchen, wenigstens wenn sie mit aktiven Flüssigkeiten, wie sie im Tiere sich finden, angestellt werden, Schlüsse für das Verhalten im Tierkörper zu ziehen.

Allerdings gilt das, was für das Meerschweinchen gefunden wurde, schon nicht mehr für das Kaninchen, auch wenn man unter ganz analogen Verhältnissen operiert.

Tabelle XV.

Zu dem Versuche werden die gleichen Vibrionen wie im Versuche der Tabelle XIV verwendet; er wird gleichzeitig mit diesem angestellt. Dafür wird einem Kaninchen von 1100 g Blut genommen, welches das Serum a liefert. Hierauf erhält es in die Ohrvene einen Teil der im vorigen Versuche erwähnten sensibilisierten Vibrionen, während ein anderer Teil mit 1 ccm des frisch abgeschiedenen und aktiven Serum a 2 Stunden bei 37° gehalten und dann als Extrakt zentrifugiert wird. Dem Kaninchen

wird nach 1 Stunde neuerlich Blut entnommen (Serum b), nach 2 Stunden wird es verblutet. Es hatte schon nach einer Stunde schwerste profuse Diarrhöe und wurde sehr matt. Das Blut b und c des Tieres waren steril. Alle Flüssigkeiten wurden vor dem Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erwärmt. Einsaat Chol. Konstantinopel = 9200.

	Serum a	Serum b	Serum c	Extrakt
0,15 ccm + 0,05 ccm Kompl.	unzählbar	unzählbar	unzählbar	130 000
0,075 " + 0,05 " "	"	"	"	62 000
0,025 " + 0,05 " "	"	"	"	8800
0,01 " + 0,05 " "	"	"	"	11 200

Es hatte sich also aus den gleich sensibilisierten Vibrionen, welche ein Meerschweinchenserum stark wirksam gemacht hatten, im Kaninchenversuche nichts gewinnen lassen; nur der in vitro hergestellte Extrakt wies eine geringe Wirksamkeit auf. Untersuchungen über die Gründe dieser Erscheinung wurden zunächst nicht angestellt.

Da offenbar im Meerschweinchenkörper mit Rinderserum sensibilisierte Choleravibrionen ihren Immunkörper in ähnlicher Weise abgeben, wie außerhalb desselben an aktives Meerschweinchenserum, so wurden solche Extrakte zunächst dazu benutzt, die in den Tabellen VII—IX mit Kochsalzextrakten angestellten Versuche zu wiederholen.

Tabelle XVI.

3 Kulturen Cholera Kraus wurden mit je 25 ccm inaktivem Rinderserum dreimal nacheinander sensibilisiert, gewaschen und mit einer Mischung von 1,5 ccm NaCl-Lösung + 1 ccm frischem Meerschweinchenserum 1 Stunde bei 42° behandelt. Es erfolgte dabei massige Agglutination unter vollständiger Granulabildung. Nach Abzentrifugieren des Extraktes I wurde der Bodensatz neuerlich in gleicher Weise zur Gewinnung des Extraktes II behandelt. Als Kontrolle diente eine Mischung von 1,5 ccm inaktivem Rinderserum + 1 ccm aktivem Meerschweinchenserum. Nachdem alle Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt waren, wurden je 0,8 ccm der Flüssigkeiten mit je $\frac{1}{8}$ des zweimal abgesprengten Rückstandes und je $\frac{1}{2}$ Kultur bei 60° getöteter Cholera $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt. Nach Zentrifugieren ergeben sich die Extrakte Ia, II a, Ib, II b, Kontrolle a und b. Einsaat Cholera Kraus = 86 000.

	Extr. I	Extr. Ia	Extr. Ib	Extr. II
0,1 ccm + 0,05 ccm Kompl.	0	0	0	4
0,05 " + 0,05 " "	0	0	8	3776
0,02 " + 0,05 " "	0	17	2	3136

Extr. II a	Extr. II b	Rdserkontr.	Rdser. a	Rdser. b
0	10 000	580	84	unzählbar
3440	11 000	1392	936	"
3600	30 000	?	11 670	"

Tabelle XVII.

3 Kulturen Cholera Konstantinopel werden zweimal mit je 40 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, gewaschen und mit je 1,5 ccm NaCl-Lösung + 1 ccm frischem Meerschweinchenserum zweimal nacheinander extrahiert. Die Extraktion erfolgte bei 37° durch je eine Stunde. Die auf diese Weise gewonnenen Extrakte I und II wurden ebenso wie eine aus 1,5 ccm inaktivem Rinderserum und 1 ccm aktivem Meerschweinchenserum bestehende Kontrolle im Verhältnis 1:2 mit NaCl-Lösung verdünnt und je 1 ccm davon mit $\frac{1}{3}$ des abzentrifugierten Bodensatzes und je $\frac{1}{2}$ bei 60° getöteter Agarkultur von Cholera Konstantinopel $\frac{3}{4}$ Stunden bei 37° behandelt. Die zentrifugierten Extrakte Ia, IIa, Ib, IIb und Rinderserum a und b wurden vor dem Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Einsaat Chol. Konstantinopel = 23 000.

	Extr. I	Extr. Ia	Extr. Ib	Extr. II
0,15 ccm + 0,04 Kpl. in 0,4 ccm	0	68	96	3
0,075 " + 0,04 " " 0,4 "	0	0	0	1
0,03 " + 0,04 " " 0,4 "	24	0	60	5720 (?)
0,015 " + 0,04 " " 0,4 "	320	2	6320	16

Extrakt II a	Extrakt II b	Rdserkontr.	Rdser. a	Rdser. b
81	1840	228	3280	unzählbar
0	2960	112	3400	"
103	2800	2964	8400	"
27	10 000	5600	5200	"

Proben aller Flüssigkeiten ohne Komplement und die Komplementkontrolle ergaben ungehindertes Wachstum.

Was in den Versuchen zunächst auffällt, ist die große Menge von bakteriolytischen Immunkörpern, die von stark mit Rinderserum sensibilisierten Vibrionen abgegeben werden können; denn auch die zweite Extraktion liefert noch überaus wirksame Flüssigkeiten. Die Extrakte werden durch die Rückstände, von denen sie gewonnen sind, gar nicht mehr verändert, aber auch durch normale Vibrionen nur wenig; immerhin ist in den schwächeren zweiten Extrakten die Absorption durch Normalvibrionen unverkennbar, die geringere der ersten Extrakte kann durch ihre hohe bakteriolytische Wirksamkeit, die die des Rinderserums, aus dem sie ja eigentlich hergestellt sind, weit übertrifft, erklärt werden, so daß bezüglich der Extrakte der Satz, daß sie nur durch Normalvibrionen zu beeinflussen sind, aufrecht bleiben kann. Im Gegensatze aber zu den Rückständen der Extraktion mit NaCl-Lösung absorbieren die Rückstände nach Serumextraktion auch die normalen Rinderimmunkörper nur noch in geringem Grade oder nicht mehr. Da diese Rückstände durch das aktive Meerschweinchen-

serum in Granula umgewandelt sind, muß diese Veränderung als die Ursache des Aufhörens der Bindungsfähigkeit angesehen werden.

Sollen die Versuche mit Ablösung der an Vibrionen gebundenen Normalimmunkörper zur Erklärung der Bildung künstlicher Bakteriolyse im Tier verwendet werden, so muß sich zunächst noch zeigen lassen, daß und unter welchen Umständen die Immunkörper eines und desselben Serums das eine Mal an Vibrionen herantreten, dann sich wieder im gleichen Serum ablösen können; es muß also möglich sein, mit demselben Rinderserum Vibrionen zu sensibilisieren und die gebundenen Immunkörper ohne Wechsel des Mediums wieder in wirksamer Form abzulösen. Die Aufgabe war naturgemäß schwierig, ließ sich aber vollständig lösen.

Allerdings konnte die bisherige Methodik, die bei der Sensibilisierung vorwiegend inaktives Serum anwendete, nicht zum Ziele führen. Denn es war schon früher bekannt, daß mit inaktivem Serum behandelte Vibrionen an neues inaktives Serum nicht nur keine Immunkörper abgeben, sondern daraus sogar immer weiter Immunkörper binden. Dies bestätigte sich auch jetzt ausnahmslos und es sei deshalb nur ein Versuch angeführt, der zeigt, wie der Zusatz von inaktivem Rinderserum die Extraktion sensibilisierter Vibrionen durch NaCl-Lösung beeinträchtigt.

Tabelle XVIII.

4 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden mit inaktivem Rinderserum 3mal sensibilisiert und in 4 Teilen gewaschen. Die Rückstände wurden 1 Stunde bei 42° behandelt mit:

a) 1	ccm NaCl-Lösung			
b) 0,95	„	„	+ 0,05	ccm inakt. Rinderserum
c) 0,85	„	„	+ 0,15	„
d) 0,6	„	„	+ 0,4	„

Die abzentrifugierten Flüssigkeiten wurden in den Dosen 0,075 und 0,025 ccm mit 0,05 ccm Komplement, gleichzeitig mit unbehandelten Rinderserumkontrollen mit einer Einsaat von 7000 untersucht.

Extrakt a	Extrakt b	Extrakt c	Extrakt d
63	112	568	3120
61	408	4760	7000
inakt. Rdserkontr. a	inakt. Rdserkontr. b	inakt. Rdserkontr. c	
1040	41	16	
2400	848	136	

Komplementkontrolle: unzählbar.

Man kann sehr deutlich verfolgen, wie die Extrakte um so schlechter werden, je mehr die Extraktionsflüssigkeit Rinderserum enthält: gegenüber dem sehr wirksamen Extrakte a mit reiner NaCl-Lösung ist schon der Extrakt b schwächer, ist aber immer noch mehr bakterizid als die Kontrollverdünnung a des Rinderserums, ein Zeichen, daß noch Immunkörper von den Vibrionen her übergegangen sind. In den folgenden Proben kehrt sich das Verhältnis gerade um.

Nimmt man reines inaktives Rinderserum oder auch solches, welches vorher mit Vibrionen behandelt und dadurch seiner natürlichen Immunkörper beraubt ist, zur Extraktion inaktiv sensibilisierter Vibrionen, so erhält man niemals wirksame Extrakte, und das reine Rinderserum erweist sich mehr oder weniger als erschöpft. Versuche eigens anzuführen ist nicht nötig, da dieses Verhalten gelegentlich der Mitteilung anderer Versuche hervortreten wird.

Eine genauere Ueberlegung ließ bald erkennen, daß für die Verhältnisse im Tierkörper Versuche mit inaktivierten Flüssigkeiten überhaupt nicht zum Vergleich herangezogen werden können: im Tiere mag gelegentlich eine unwirksame Flüssigkeit vorkommen, Veränderungen wie sie durch hohe Temperatur zustande kommen, sind aber ausgeschlossen. Reagenzglasversuche haben also nur dann Brauchbarkeit, wenn sie mit möglichst unverändertem Serum ausgeführt werden. In der Tat werden dann die erhaltenen Resultate ganz anders.

Tabelle XIX.

5 Kulturen Chol. Konstantinopel werden über Nacht mit ca. 80 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, in 5 Teilen gewaschen und die Vibrionen 1 Stunde bei 42° extrahiert mit

- 1) 1 ccm NaCl-Lösung
- 2) 0,9 „ „ + 0,1 akt. Rinderserum
- 3) 0,75 „ „ + 0,25 „ „
- 4) 0,5 „ „ + 0,5 „ „
- 5) 1 „ „ akt. Rinderserum

Die nach der Extraktion verbleibenden, abzentrifugierten Rückstände wurden dann mit je 1 ccm inaktivem Rinderserum 1 Stunde bei 42° behandelt und wieder entfernt. Vor dem Versuche wurden alle Flüssigkeiten, auch das zur Kontrolle dienende aktive Rinderserum, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erwärmt. Einsaat 56 000.

	Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Extr. 4	Extr. 5
0,1 + 0,05 Kplt.	82	160	729	22	19
0,05 + 0,05 „	22	1832	4240	682	0
	Rdser. 1	Rdser. 2	Rdser. 3	Rdser. 4	Rdser. 5
0,05 + 0,05 Kplt.	11 600	9800	4160	1048	1732

Aktives Rinderserum lieferte in den Dosen von 0,1, 0,05, 0,025 und 0,01 ccm mit dem gleichen Komplement, das an sich Vermehrung zuließ, 0, 112, 2800, 2160 Kolonien.

Bis auf die Unregelmäßigkeit im Extrakt 3, für welche eine Ursache nicht aufzufinden ist, sieht man sofort, daß die Extrakte mindestens ebenso stark, wie das Rinderserum selbst wirken; von einer Immunkörperabsorption durch sensibilisierte Vibrionen ist also bei aktivem Serum keine Rede, im Gegenteil, es wird durch Behandlung mit solchen merkbar verstärkt. Die daraus gewonnenen Rückstände vermögen dann ein inaktives Serum um so weniger zu absorbieren, je mehr aktives Serum für die Extraktion genommen worden war. Diese Beobachtung bildete den Fingerzeig für die folgenden Versuche.

Tabelle XX.

4 Kulturen Chol. Kraus wurden über Nacht mit ca. 50 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, in 4 Teilen gewaschen und mit 1) 1 ccm NaCl-Lösung, 2) 1 ccm inaktivem, 3) 1 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 42° behandelt und abzentrifugiert; die gewonnenen Extrakte wurden vor dem mit 17000 Chol. Kraus angesetzten Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° erwärmt.

	Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Rinderser. 56
0,15 ccm + 0,05 Kplt.	0	992	0	70
0,075 „ + 0,05 „	0	1084	0	0
0,025 „ + 0,05 „	0	2768	0	4

Kontrollproben ohne Komplement und Komplement allein ergaben Vermehrung.

Die inaktiv sensibilisierten Vibrionen geben also mit NaCl-Lösung tadellos wirksamen Extrakt, erschöpfen inaktives Rinderserum unzweideutig, wenn auch gerade in diesem Versuche nicht so stark wie sonst, lassen aber das gleiche aktive Serum unverändert. Bedenkt man nun, daß während der Behandlung mit aktivem Serum typische Bakteriolyse, von der man sich jederzeit überzeugen kann, erfolgen muß, so liegt es nahe, diese für die geänderte Absorptionsfähigkeit der sensibilisierten Vibrionen verantwortlich zu machen. Dann war aber auch vorauszusetzen, daß sich mit aktivem Serum behandelte und dabei bakteriolytierte Vibrionen überhaupt und von vornherein anders verhalten müssen, als inaktiv sensibilisierte.

Tabelle XXI.

Je $2\frac{1}{2}$ Kulturen Chol. Kraus werden mit je 25 ccm a) aktivem, b) inaktivem Rinderserum 1 Stunde bei 37° behandelt und dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Vibrionenmassen beider Proben werden in je 3 Teilen gewaschen und mit 1 ccm NaCl-Lösung, 1 ccm inaktivem und 1 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 42° behandelt; daraus ergeben sich die Extrakte I—III, bzw. IV—VI. Vor dem mit einer Einsaat von 18000 Chol. Kraus angestellten Versuche werden alle Proben $\frac{1}{2}$ Stunde

Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern. 395

auf 58° erwärmt. Die Vibrionen für den Extrakt III zeigten vor wie nach der Extraktion lediglich dichte Haufen von Granula in „Grundsubstanz“, die von Extrakt VI zeigten vor der Extraktion nur agglutinierte Vibrionen, nach derselben viel Granula in Haufen, neben einzelnen freien Vibrionen. Der Versuch ist mit den Dosen von 0,1, 0,05 und 0,01 ccm jeder Flüssigkeit und 0,05 ccm Komplement angesetzt.

Extr. I	Extr. II	Extr. III	Extr. IV	Extr. V	Extr. VI	Rdser. 56°
196	5000	0	15	2400	0	0
2	?	0	0	2432	0	0
1328	1344	62	0	9000	0	6412

Kontrollproben ohne Komplement zeigten ungehemmte Vermehrung, die Komplementkontrolle ergab 4000 Kolonien.

Tabelle XXII.

Genaue Wiederholung des vorigen Versuches mit Chol. Konstantinopel; der einzige Unterschied besteht darin, daß die Extraktion nicht mit 1, sondern nur mit 0,75 ccm von NaCl-Lösung, aktivem und inaktivem Rinder-serum durchgeführt wurde. Einsaat 7800 Chol. Konstantinopel.

Extr. I	Extr. II	Extr. III	Extr. IV	Extr. V	Extr. VI	Rdser. 56°
0	3248	848	1120	unzählbar	1 848	2
4	2960	92	73	„	3 120	12
36	412	2896	1128	„	27 000	624

Die sämtlichen Kontrollproben zeigen ungehemmte Vermehrung.

Trotz der die Beurteilung etwas störenden Eigenwirkung des Komplements im Versuche der Tabelle XXI¹⁾ ist die Uebereinstimmung der beiden Versuche eine vollständige. Das aktive Serum wird durch sensibilisierte Vibrionen nicht oder nur wenig verändert, gleichgültig ob die Sensibilisierung mit aktivem oder inaktivem Serum vorgenommen worden war. Während aber inaktiv sensibilisierte Vibrionen frisches inaktives Serum total oder stark unwirksam machen, verändern es aktiv sensibilisierte und dabei bakteriolytische nur in wesentlich geringerem Grade oder wie in späteren Versuchen auch gar nicht. Hingewiesen sei auch auf die starke Wirksamkeit der Kochsalzextrakte, sowohl aus aktiv wie inaktiv sensibilisierten Vibrionen, sowie auf die besonders in Tabelle XXI

1) Schon in älteren Versuchen war beobachtet worden, daß ein Cholera-stamm (Chol. Pfeiffer) schließlich so empfindlich für die Bakteriolyse wird, daß er wegen der meistens eintretenden Eigenwirkung des Komplements nicht mehr zu brauchen ist. Ähnliches zeigte sich hier für Chol. Kraus und auch Chol. Konstantinopel wurde später unverläßlich, so daß der Cholera-stamm 74, den wir Herrn Prof. Neufeld verdanken, das Hauptversuchs-objekt wurde.

hervortretende eigentümliche Abhängigkeit der optimalen Bakterizidie von quantitativen Verhältnissen. Ueber das mikroskopische Aussehen der mit aktivem Rinderserum behandelten Vibrionen, sowie über die eigentümliche Form der Agglutination in solchem ist schon in früheren Arbeiten des Institutes ausreichend berichtet worden¹⁾.

Die Bedeutung des Komplementes für das verschiedene Verhalten aktiv und inaktiv sensibilisierter Vibrionen ließ sich durch Extraktionsversuche mit inaktivem Rinderserum, aber unter Zusatz von frischem Meerschweinchenserum demonstrieren.

Tabelle XXIII.

3 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden über Nacht mit 30 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, in 3 Teilen gewaschen und 1 Stunde bei 42° behandelt mit 1) 0,75 ccm NaCl-Lösung + 0,25 ccm inaktivem, 2) 0,75 ccm inaktivem Rinderserum + 0,25 ccm inaktivem und 3) 0,75 ccm inaktivem Rinderserum + 0,25 ccm aktivem Meerschweinchenserum. Für die abzentrifugierten Extrakte dienten in analoger Weise hergestellte Proben ohne Bakterienbehandlung als Kontrollen. Alle Flüssigkeiten wurden vor dem Versuche, der mit einer Einsaat von 19000 Chol. Konstantinopel angestellt wurde, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Verwendet wurden die Dosen 0,075 und 0,025 ccm mit je 0,05 Komplement.

Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Kontrolle zu Extrakt I	Kontrolle zu Extrakt II	Kontrolle zu Extrakt III
26	16 000	2	3216	632	716
54	12 600	6	5288	412	192

Die Komplementkontrolle lieferte nur 848 Kolonien.

Obwohl auch in diesem Versuche mit Chol. Konstantinopel das Komplement allein sich bereits als wirksam gezeigt hatte, ist doch bei Vergleich der beiden Extrakte II und III aufklarste zu erkennen, wie nur die Intervention des fremden Komplements das geänderte Verhalten der gleichmäßig sensibilisierten Vibrionen zu dem inaktivierten Rinderserum bedingt haben kann.

Tabelle XXIV.

Je 4 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden mit je 40 ccm inaktivem Rinderserum und einer Mischung von 30 ccm dieses mit 10 ccm des gleichen aber aktiven Serums über Nacht bei Zimmertemperatur behandelt und in je 4 Teilen gewaschen. Zur Extraktion wird teils unverändertes inaktives Rinderserum benutzt, teils solches, welches durch $\frac{1}{2}$ Stunde bei

1) Diese Zeitschr., Bd. 1, No. 6.

Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern. 397

37° mit einer Kultur Chol. Konstantinopel (8 ccm) behandelt und dann wieder abzentrifugiert war. Die Anordnung ist also:

- 1) inakt. sens. Vibr. + 0,75 ccm inakt. Rind.-S. + 0,25 ccm inakt. Meersch.-S.
- 2) " " " + 0,75 " " " + 0,25 " akt. "
- 3) " " " + 0,75 " erschöpft. " + 0,25 " inakt. "
- 4) " " " + 0,75 " " " + 0,25 " akt. "

Nach 1-stündiger Behandlung bei 42° werden die Extrakte 1—4 erhalten. Die völlig analog behandelten, aktiv sensibilisierten Vibrionen liefern die Extrakte 5—8. Kontrollen 1—4 sind die Extraktionsflüssigkeiten, ohne jede Vibrionenbehandlung gelassen. Alle Versuchsflüssigkeiten werden vor der Einsaat von 34000 Chol. Konstantinopel $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt und in den Dosen von 0,075 und 0,025 ccm verwendet, mit 0,05 aktivem Meerschweinchenserum als Komplement.

Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV	Extrakt V	Extrakt VI
unzählbar	0	unzählbar	24	3680	2
"	2	"	1800	228	1928
Extrakt VII	Extrakt VIII	Kontr. I	Kontr. II	Kontr. III	Kontr. IV
73	55	7	19	unzählbar	unzählbar
26	80	25	21	"	"

Die Komplementkontrolle allein ergab 80000 Kolonien.

Tabelle XXV.

Genaue Wiederholung des Versuches in Tabelle XXIV, die gleichen Bezeichnungen. Einsaat Chol. Konstantinopel = 120000.

Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV	Extrakt V	Extrakt VI
unzählbar	3 840	unzählbar	648	6	23
"	1 764	"	1440	18	20
"	11 000	"	2232	204	9
Extrakt VII	Extrakt VIII	Kontr. Rinder-Ser. 0,75 + Meersch.-Ser. 0,25			
0	480	4			
12	75	28			
93	36	70			

Kontrolle mit erschöpftem Rinderserum + Meerschweinchenserum:

11 000
40 000
70 000

Die Komplementkontrolle ergab 97000 Kolonien.

Beide Versuche, wenn auch natürlich in den absoluten Zahlenangaben etwas variierend, sprechen völlig beweisend im gleichen Sinne. Inaktiv sensibilisierte Vibrionen lassen unter dem Einflusse eines fremden Komplements ein frisch zuge-setztes inaktives Rinderserum unverändert, welches sonst durch die gleichen sensibilisierten Vibrionen ganz erschöpft würde. Werden aber Vibrionen statt mit inaktivem mit aktivem Rinder-

serum vorbehandelt, so vermögen die verbleibenden Rückstände von vornherein nicht mehr, inaktives Rinderserum unwirksam zu machen.

Die Bedeutung der Versuche in den letzten Tabellen geht aber weiter. Bei beiden wurde außer gewöhnlichem inaktivierten Rinderserum auch noch solches verwendet, welches durch Behandlung mit Bakterien der gleichen Art gänzlich unwirksam geworden, seiner Immunkörper beraubt war. Dieses wird, wie schon Bail und Tsuda bekannt war, durch inaktiv sensibilisierte Vibrionen nicht verändert, höchstens vollständiger erschöpft, wenn es dies noch nicht war. Setzt man aber außer den sensibilisierten Vibrionen Komplement zu, so wird es wieder wirksam und das gleiche tritt ohne Komplement ein, wenn man von vornherein mit aktivem Rinderserum behandelte Vibrionen verwendet. Damit ist das Problem, die durch Vibrionen gebundenen Immunkörper eines Normalserums im gleichen Serum wieder zur Abspaltung zu bringen und neuerlich wirksam zu machen, gelöst: die gleichen Vibrionen, welche ein Rinderserum erst seiner Immunkörper berauben, sind auch imstande, unter Intervention des Komplements, dasselbe wieder wirksam zu machen; Immunkörperabsorption und Immunkörperabgabe können nach und jedenfalls auch nebeneinander in derselben aktiven Körperflüssigkeit stattfinden.

Ueber Regeneration eines durch Bakterienbehandlung unwirksam gewordenen, seiner Immunkörper beraubten Serums ist in der Literatur kaum etwas zu finden. Abgesehen von den Arbeiten Pfeiffers und Friedbergers und Bails und Tsudas, welche dies mehr indirekt erschließen lassen, ist Verff. nur eine viele Jahre zurückreichende Angabe von Bail¹⁾ bekannt, bei welcher mit toten Bacillen behandeltes aktives Kaninchenserum spontan, unter nicht genauer studierten Umständen, einen Teil seiner Wirkung zurückgewann.

Es sollte nun zunächst untersucht werden, ob auch die Rückstände, welche einmal den aufgenommenen Immunkörper abgegeben haben, wieder imstande seien, neuen zu binden,

1) Arch. f. Hyg., 1899.

wobei naturgemäß zwischen den normalen und den schon abgelösten zu unterscheiden war.

Tabelle XXVI.

6 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden in einer Mischung von 20 ccm aktivem und 40 ccm inaktivem Rinderserum über Nacht belassen und hierauf die gesamte gewaschene Bakterienmasse mit 5 ccm eines inaktiven Rinderserums, welches mit 1 Kultur lebender Chol. Konstantinopel erschöpft war, in der gewöhnlichen Weise 1 Stunde bei 42° extrahiert. Die abzentrifugierte Flüssigkeit bildet den Extrakt A. Der verbliebene Vibrionrückstand wurde in vier Teilen gewaschen und wie gewöhnlich extrahiert mit: 1) 0,75 ccm Extrakt A + 0,25 ccm inaktivem Meerschweinchenserum, 2) ebenso mit 0,25 ccm aktivem Meerschweinchenserum, 3) mit 0,75 ccm inaktivem Rinderserum mit 0,25 inaktivem und 4) ebenso mit aktivem Meerschweinchenserum. Als Kontrolle diente 0,75 ccm Extrakt A, beziehungsweise inaktives Rinderserum mit je 0,25 aktivem Meerschweinchenserum. Alle Proben wurden vor dem mit 97 000 Chol. Konstantinopel und in den Dosen 0,075 und 0,025 mit 0,05 Komplement angesetzten Versuche 1/2 Stunde bei 56° erwärmt.

Extr. A	Rinderser. erschöpft	Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Extr. 4
0	unzählbar	0	0	0	0
0	„	4	0	0	8
Kontrolle 1	Kontrolle 2	Inakt. Rinderserum	Komplementkontrolle		
0	4	2	ca. 200 000		
0	2	0			

Als Ergänzungsversuch eines an sich sehr wirksamen, durch Bakterienbehandlung aber total erschöpften Rinderserums ist der Versuch, wie so viele andere seiner Art, völlig überzeugend. Die nach der Ablösung der gebundenen Immunkörper übrig bleibenden Vibrionrückstände vermögen aber nicht mehr, weder normales, noch künstlich reaktiviertes Rinderserum zu beeinflussen. In der Meinung, daß man, um eine neuerliche Bindungsfähigkeit solcher Rückstände sichtbar zu machen, erst alle vorher gebundenen Immunkörper abgelöst haben müsse, wurden Versuche mit der wiederholten Extraktion eines und desselben Vibrionrückstandes unternommen.

Tabelle XXVII.

5 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden über Nacht bei Zimmertemperatur mit 50 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, in zwei Teilen gewaschen und a) mit 1 ccm NaCl-Lösung + 1 ccm inaktivem, b) 1 ccm NaCl-Lösung + 1 ccm aktivem Meerschweinchenserum 1 Stunde bei 42° extrahiert, was die Extrakte a und b liefert. Die abzentrifugierten Rück-

stände werden hierauf neuerlich mit der doppelten Menge der vorigen Mischungen 1 Stunde extrahiert und ergeben die Extrakte a 1 und b 1. Die verbliebenen Rückstände wurden in je zwei Teilen gewaschen und 1 Stunde bei 42° behandelt mit:

- 1) Rückst. nach a 1 + 0,5 ccm Rind.-S. inakt. + 0,25 Meerschw.-S. inaktiv.
- 2) " " a 1 + 0,5 " " " + 0,25 " aktiv.
- 3) " " b 1 + 0,5 " " " + 0,25 " inaktiv.
- 4) " " b 1 + 0,5 " " " + 0,25 " aktiv.

Die durch Zentrifugieren erhaltenen Extrakte 1–4 wurden wie alle übrigen Proben, samt den Kontrollen a (0,5 ccm NaCl-Lösung + 0,5 ccm Meerschweinchenserum aktiv) und b (0,5 ccm Rinderserum inakt. + 0,25 ccm Meerschweinchenserum aktiv) vor dem mit 62 000 Chol. Konstantinopel in den Dosen von 0,075 und 0,025 ccm mit 0,05 ccm Komplement angesetzten Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erwärmt.

Extrakt a	Extrakt b	Extrakt a 1	Extrakt b 1	Kontr. a	Extrakt 1
0	0	8	0	100 000	6
29	0	14	0	100 000	31
Extrakt 2	Extrakt 3	Extrakt 4	Kontrolle b	Komplementkontrolle	
6960	0	31	0	ca. 200 000	
1224	52	117	20		

Tabelle XXVIII.

3 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden mit aktivem + inaktivem Rinderserum im Verhältnisse 1:3 1 Stunde bei 40° sensibilisiert (Bakteriolyse), hierauf in drei Teilen gewaschen. Gleichzeitig war „erschöpftes Serum“ durch Behandlung von 15 ccm inakt. Rinderserum mit 1 Kultur Konstantinopel hergestellt worden. Die sensibilisierten Vibrionen wurden nun 1) mit 2 ccm NaCl-Lösung, 2) ebensoviel inaktivem Rinderserum, 3) ebensoviel erschöpftem Serum versetzt und jeder Probe je 0,5 ccm aktives Meerschweinchenserum zugefügt. So blieben die Proben über Nacht bei Zimmertemperatur und lieferten nach dem Zentrifugieren die Extrakte 1–3. Dann wurden die Rückstände mit den gleichen Mengen derselben Flüssigkeiten (Extrakte 4–6) und noch ein drittes Mal mit der doppelten Menge davon je 1 Stunde bei 42° extrahiert (Extrakt 7–9). Die schließlich verbleibenden, einmal gewaschenen Rückstände wurden sodann mit je 0,5 ccm inaktivem Rinderserum + 0,5 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 40° behandelt und lieferten dadurch nach Zentrifugieren die Rindersera 1–3. Dosen von 0,075 und 0,025 ccm mit 0,05 ccm Komplement und Einsatz = 70 000.

Extrakt 1	Extrakt 2	Extrakt 3	Extrakt 4	Extrakt 5	Extrakt 6
0	19	0	14	0	7
202	57	124	408	60	216
Extrakt 7	Extrakt 8	Extrakt 9	Rinderser. 1	Rinderser. 2	Rinderser. 3
31	1324	12 300	3	9	12
716	680	56 000	14	4088	196

NaCl + Mschw.-S.	Rind.-S. + Mschw.-S.	Erschöpft. Rind.-S. + Mschw.-S.
ca. 200 000	0	11 200
ca. 200 000	0	78 000
Rinderserum + NaCl-Lösung		Komplementkontrolle
240		unzählbar
0		

Tabelle XXIX.

3 Kulturen Chol. Konstantinopel wurden mit 120 ccm inaktivem + 10 ccm aktivem Rinderserum $1\frac{1}{4}$ Stunde bei 42° gehalten, wobei vollständige Granulabildung eintrat und die Bakterienmasse in drei Teilen gewaschen; dabei wurde die Beobachtung gemacht, daß das Waschwasser, für sich mit Komplement versetzt, normale Vibrionen stark zur Granulabildung brachte. Je ein Teil der sensibilisierten Vibrionen wurde mit 1) 2 ccm NaCl-Lösung, 2) 2 ccm inaktivem Rinderserum, und 3) 2 ccm erschöpftem inaktivem Rinderserum (1 Kultur auf 16 ccm) versetzt und allen Proben 0,5 ccm aktives Meerschweinchenserum zugesetzt. Nach 1-stündiger Extraktion bei 42° wurde abzentrifugiert (Extrakte 1–3), die Sätze neuerlich in den gleichen Flüssigkeitsmengen über Nacht bei Zimmertemperatur gehalten (Extrakte 4–6), dann noch zweimal je 1 Stunde bei 42° extrahiert (Extrakte 7–12). Die zuletzt verbliebenen Rückstände wurden sodann nach Waschung mit je 0,75 ccm inaktivem Rinderserum + 0,25 ccm aktivem Meerschweinchenserum 1 Stunde bei 40° gehalten und liefern nach Zentrifugieren die Rinderseren 1–3. Kontrolle 1 ist 2 ccm NaCl-Lösung + 0,5 aktives Meerschweinchenserum, Kontrolle 2 ist 2 ccm inaktives, 3 2 ccm erschöpftes Rinderserum mit je 0,5 ccm Meerschweinchenserum, Kontrolle 4 ist 0,75 ccm inaktives Rinderserum + 0,25 ccm aktives Meerschweinchenserum. Vor dem in den Dosen von 0,075 und 0,025 ccm mit 0,05 ccm Komplement und einer Einsaat von 70 000 Chol. Konstantinopel angesetzten Versuche werden alle Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

Extrakt 1	Extrakt 2	Extrakt 3	Extrakt 4	Extrakt 5	Extrakt 6	Extrakt 7
0	0	1368	4640	6	872	216
8	45	840	2736	156	896	224
Extrakt 8	Extrakt 9	Extrakt 10	Extrakt 11	Extrakt 12	Rinderser. 1	
12	166	5 664	72	12 000	86	
30	3760	30 000	118	70 000	512	
Rinderser. 2	Rinderser. 3	Kontr. 1	Kontr. 2	Kontr. 3	Kont. 4	
1928	74	über 100 000	0	über 100 000	0	
2560	2148	„ 100 000	6	„ 100 000	102	

Was somit die Bindungsfähigkeit der Rückstände betrifft, so fehlt eine solche zwar nicht ganz, sie ist aber unter allen Umständen gering und mit derjenigen, welche normale Vibrionen ausüben, nicht zu vergleichen. Auf diesen Gegenstand wird übrigens weiter unten mit geänderter Methodik noch zurückzukommen sein.

Die Bedeutung der angeführten Versuche liegt aber überdies darin, daß sie, abgesehen von einigen Zahlenschwankungen, zeigen, welche große Mengen von Immunkörpern durch die sensibilisierten und daneben bakteriolytierten Vibrionen abgegeben werden können. Noch vierte Extrakte aus ihnen zeigen eine erkennbare, wenn auch schon geringe Wirksamkeit, und wie leicht die Abgabe erfolgt, beweist der Befund, daß schon im Waschwasser ein gewisser Gehalt an Immunkörpern nachweisbar werden kann.

Für die Ausbildung und Anwendung einer neuen Versuchsmethode war eine Ueberlegung bestimmend, welche wieder von der Betrachtung der Verhältnisse bei der intravenösen Immunisierung eines Tieres mit Cholera ausging. Daß für die Versuche aktives Serum verwendet werden muß, ist oben ausreichend begründet. Im Tiere wirkt aber nicht, wie in den Reagenzglasversuchen, eine immer gleichbleibende und dabei eine relativ oder absolut geringe Menge Serum auf eine relativ große Menge von Vibrionen ein. Vielmehr kommt dabei eine relativ oder absolut kleine Menge von Vibrionen auf eine sehr große und wenigstens in der ersten Zeit infolge der Zirkulation stets erneute Menge von Blut. Vollständig nachzuahmen dürfte dieses Verhalten allerdings im Reagenzglas nicht sein, immerhin mußte zunächst festgestellt werden, wie der Einfluß des Choleravibrio sich auf aktives Serum bei möglichst kurzer Einwirkungsdauer gestaltet.

Wie bereits wiederholt hervorgehoben wurde, ist die Reaktion zwischen Choleravibrionen und aktivem Rinderserum eine überaus schnelle. Dies erkennt man ohne weiteres an der Agglutination, die bei vorgewärmtem Serum unter Umständen in 1 Minute und selbst Bruchteilen einer solchen voll ausgebildet sein kann. Im allgemeinen wurde so vorgegangen, daß die Kulturmasse von Agarröhrchen so schnell als möglich im Serum verteilt und sofort in die Zentrifuge mit hoher Tourenzahl gegeben wurde. Eine Vorwärmung des Serums wurde in besonderen eigens bezeichneten Fällen vorgenommen. Daß auch dann und bei möglichst schnellem Arbeiten eine Reaktion zwischen Serum und Bacillen eingetreten sein muß, erkennt man an der Leichtigkeit, mit der das Zentrifugieren gelingt und überdies an mikroskopischen Präparaten. Diese zeigen wohl Haufenbildung, aber in der Regel überhaupt keine Bakteriolyse oder nur die Bildung sehr spärlicher Granula. Und doch erweisen sich derart behandelte Sera in mehr oder weniger hohem Grade als unwirksam für neue Bakterizidie.

Tabelle XXX.

3 Kulturen Chol. Konst. wurden in 24 ccm aktivem Rinderserum aufgeschwemmt, sofort in Röhrchen zu je 8 ccm verteilt und zentrifugiert, ehe noch irgend deutliche Agglutination zu sehen war. Die gewonnenen Rückstände wurden, ohne Waschung a) mit je 2 ccm NaCl-Lös., b) aktivem, c) dem eben abgegossenen erschöpften Rinderserum $\frac{1}{4}$ Stunde bei 38° extrahiert (Extrakte 1—3). Die Extraktion wurde dann in der gleichen Weise mit denselben Mengen der erneuten Flüssigkeiten durch $\frac{1}{2}$ Stunde (Extrakt 4—6) und $\frac{3}{4}$ Stunde wiederholt (Extrakt 7—9). Schließlich wurden die übrig bleibenden Rückstände mit je 1 ccm Mischung aus 0,5 ccm inakt. Rinderserum und 0,5 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 37° behandelt (Extrakte 10—12). Alle Proben wurden vor dem mit einer Einsaat von 11 000 Chol. Konst. in den Dosen von 0,075 und 0,025 ccm mit 0,05 ccm Komplement angesetzten Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Extr. 4	Extr. 5	Extr. 6	Extr. 7
2948	98 000	2 532	6700	3120	7 900	1856
8200	4 600	56 000	2088	5800	10 000	4240
Extr. 8	Extr. 9	Extr. 10	Extr. 11	Extr. 12	Rinders. aktiv	
172	80 000	2256	3	0	128	
1624	24 000	2160	984	5240	72	
Rinders. erschöpft		Rinders. + Meersch. $\bar{a}\bar{a}$		Komplementkontrolle		
120 000		7		unzählbar		
170 000		0				

Von den Schlüssen, welche dieser erste, noch nicht ganz vollkommene Versuch zuläßt, sei zunächst die vollständige Erschöpfung des aktiven Rinderserums bei der ganz kurzen Berührung mit Vibrionen erwähnt, die noch zu keinerlei Erscheinungen der Bakteriolyse geführt hatte. Es muß somit die Sensibilisierung in aktivem Serum ganz momentan erfolgen und dabei sehr wirksam sein, da die erhaltenen Rückstände dreimal hintereinander an NaCl-Lösung sehr ansehnliche Immunkörpermengen abgeben. Ebenso deutlich ist die wenigstens teilweise Reaktivierung des erschöpften Rinderserums erkennbar. Was ihr Verhalten zu aktivem Serum betrifft, so scheinen sie anfänglich noch Immunkörper aus diesem herauszunehmen, um bei Wiederholung der Behandlung schließlich den Einfluß darauf zu verlieren.

Für die folgenden Versuche wurden stets derart „momentan“ mit aktivem Serum behandelte, dabei aber nicht bakteriolysierte Vibrionen verwendet. Die Abgabe von Immunkörpern an Rinderserum ließ sich jederzeit leicht nachweisen.

Tabelle XXXI.

3 Kulturen Chol. 74 wurden in 48 ccm akt. Rinderserum aufgeschwemmt, sofort zentrifugiert und 1 Stunde bei 42° behandelt mit 1) 1 ccm NaCl-Lösung, 2) 1 ccm inakt. Rinderser., 3) 0,75 ccm des abgegossenen erschöpften Serums + 0,25 ccm inakt. Rinderser., 4) 1 ccm akt. Rinderser., 5) 0,75 ccm erschöpftem u. 0,25 ccm akt. Rinderser., 6) 1 ccm erschöpftem Rinderserum. Zur Kontrolle dienen 1) inakt. Rinderserum, 2) Mischung von diesem mit erschöpftem im obigen Verhältnis, 3) akt. Rinderser., 4) Mischung von diesem mit erschöpftem und 5) erschöpftes Serum allein. Sämtliche Proben wurden vor dem mit 0,05 ccm Komplement in den Dosen von 0,1, 0,05 und 0,01 ccm angesetzten Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt. Einsaat Chol. 74 = 130 000.

Extrakt 1	Extrakt 2	Extrakt 3	Extrakt 4	Extrakt 5	Extrakt 6
0	880	81	168	100	23
8	264	27	96	52	160
2960	6000	1224	210	3848	120
Kontr. 1	Kontr. 2	Kontr. 3	Kontr. 4	Kontr. 5	Komplementkontr.
48	2280	72	148	5900	unzählbar
136	2500	800	6700	8000	
5000	5000	284	6800	unzählbar	

Der Versuch beweist klar, daß das bei der hohen Einsaat sehr stark wirksame Rinderserum durch die kurze Vibrionenbehandlung namentlich in den niederen Dosen vollständig erschöpft ist; es läßt sich nur recht unvollkommen durch Zusatz von $\frac{1}{4}$ seines Volumens an inaktivem oder aktivem Serum wieder ergänzen, hingegen tadellos durch die gleichen Vibrionen, welche es kurz vorher seiner Immunkörper fast ganz beraubt hatten. Nicht vollkommen klar ist das Verhalten der Rückstände zu reinem aktivem oder inaktiviertem Rinderserum, die aber jedenfalls beide nur wenig beeinflußt werden. Die beiden folgenden Tabellen umfassen Versuche, bei denen die momentan aktiv sensibilisierten Vibrionen in beständiger Berührung mit aktivem Serum standen, so daß man sehr gut beobachten kann, wie sie das Serum zuerst unwirksam machten, um es nachher wieder zu reaktivieren.

Tabelle XXXII.

2 Kulturen Chol. 74 wurden in 28 ccm akt. Rinderser. aufgeschwemmt, zu je 7 ccm verteilt und sofort zentrifugiert. Danach wurde die obenstehende Flüssigkeit von der Probe 1 vollständig abgegossen und durch 1,5 ccm NaCl-Lösung ersetzt, von den anderen Proben wurde nur ein Teil der Flüssigkeit oder gar nichts entfernt, so daß der Bodensatz in 2 in 1,5, in 3 in 3 und in 4 in 7 ccm 1 Stunde bei 42° (nach sorgfältiger Verteilung) gehalten wurde. Vor dem mit den Dosen 0,075 und 0,025 ccm und 0,05 Komplement und einer Einsaat von 98 000 Chol. 74 angesetzten Versuche wurden alle Proben $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Extr. 4	Rinderser. akt.	Rinderser. erschöpft
92	14	198	3916	23	3720
61	47	288	3120	0	4264

Komplementkontrolle: unzählbar.

Tabelle XXXIII.

Genau wie der in der Tabelle XXXII wiedergegebene Versuch, nur daß statt 2, 3 Kulturen von Chol. 74 in 28 ccm aktivem Rinderserum aufgeschwemmt worden war. Einsaat Chol. 74 = 50 000.

Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Extr. 4	Rinderser. akt.	Rinderser. erschöpft
104	350	104	2500	7	ca. 200 000
56	96	400	5200	250	unzählbar

Komplementkontrolle: unzählbar.

Die beiden Versuche variieren nur in den quantitativen Zahlen, indem namentlich in Tabelle XXXII die Erschöpfung des aktiven Serums zwar sehr deutlich hervortritt, aber keine ganz vollständige war. Die Vibrionen aber, die die Immunkörperverarmung bewirkt haben, vermögen ohne jeden Wechsel des Mediums das erst erschöpfte Serum wieder zu reaktivieren, was am besten in der kleineren Flüssigkeitsmenge hervortritt.

Kann man aus diesen Reagenzglasversuchen, wogegen ja nichts spricht, auf die Verhältnisse im Tierkörper Rückschlüsse ziehen, so ergibt sich, daß in der gleichen aktiven Körperflüssigkeit nach und vielleicht auch nebeneinander sowohl Immunkörperbindung als auch Immunkörperablösung stattfinden können. Es bleibt zunächst zu untersuchen, welches Moment für die Abgabe der erst gebundenen Immunkörper bestimmend ist, da jetzt von einem Wechsel des Mediums keine Rede mehr ist und die bei der Ablösung eingehaltene höhere Temperatur nur erleichternd, aber keineswegs ausschlaggebend wirkt; denn auch im Wasserbade von 37° kann man etwas langsamer analoge Ergebnisse erzielen.

Von vornherein war daran zu denken, daß die Intervention des Komplements irgendwie bedeutungsvoll sein müsse. Dafür spricht ja schon das total verschiedene Verhalten inaktiv sensibilisierter Vibrionen bei der Extraktion mit inaktivem Serum, welches auch im folgenden Versuche sehr deutlich hervortritt.

Tabelle XXXIV.

2 Kulturen Chol. 74 werden in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt; je 0,3 ccm der Aufschwemmung kommen in je 3 Röhrchen mit 5 ccm akt. und 5 ccm inakt. Rinderserum, werden für ganz kurze Zeit in das Wasserbad von 37° gestellt und sofort, ohne daß noch Agglutination sichtbar geworden wäre, zentrifugiert. Die auf diese Weise aktiv und inaktiv sensibilisierten Vibrionensätze wurden hierauf mit je 1 ccm NaCl-Lösung, 1 ccm des zur Sensibilisierung verwendeten und dadurch erschöpften aktiven und inaktiven Serums 1 Stunde bei 42° belassen; also Extrakt I aus aktiv sensibilisierten

Vibrionen mit 1 ccm NaCl, II mit akt. erschöpftem, III mit inaktiv erschöpftem Rinderserum. Die Extrakte IV—VI sind ebenso aus den inaktiv sensibilisierten Vibrionen erhalten. Alle Versuchsproben wurden vor der Einsaat von ca. 100 000 Chol. 74 $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Der Versuch ist mit den Dosen 0,05 und 0,01 ccm und 0,05 ccm Komplement angesetzt.

Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV	Extrakt V	Extrakt VI
3000	2500	21	90 000	20 000	unzählbar
1800	8000	6000	21 000	40 000	„
Rinderser. akt. erschöpft		Rinderser. inakt. erschöpft		Rinderser. akt.	
17 000		1 232		216	
100 000		21 000		1824	
Komplementkontrolle: unzählbar					

In hohem Grade ist in diesem Versuche auffallend, wie viel mehr das aktive Rinderserum durch die gleiche Vibrionenmenge erschöpft wird als das inaktive. Weiter bemerkt man, wie inaktiv erschöpftes Serum durch aktiv sensibilisierte Vibrionen ergänzt, durch inaktiv sensibilisierte hingegen absolut unwirksam gemacht wird. Die Ergänzung geht sogar hier besser als beim aktiv erschöpften Serum. Ganz analoge Befunde bietet folgender ausführliche Versuch.

Tabelle XXXV.

4 Kulturen Chol. 74 werden in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und je 0,2 ccm davon mit je a) 5 ccm aktivem, b) ebensoviel inaktivem Rinderserum versetzt und sogleich zentrifugiert. Die so erhaltenen Vibrionrückstände werden mit 1) NaCl-Lösung, 2) aktivem, 3) aktiv erschöpftem (Abguß von der Sensibilisierung), 4) inaktivem, 5) inaktiv erschöpftem Rinderserum versetzt und 1 Stunde bei 42° belassen. Aus den aktiv sensibilisierten Vibrionen ergeben sich danach die Extrakte 1—5, aus den inaktiv sensibilisierten die Extrakte 6—10. Alle Versuchsproben werden vor dem in den Dosen von 0,075 und 0,025 ccm mit 0,05 ccm Komplement und einer Einsaat von 60 000 angestellten Versuchen $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

Extr. 1	Extr. 2	Extr. 3	Extr. 4	Extr. 5	Extr. 6	Extr. 7	Extr. 8
2	0	1 500	5	48	176	3 000	80 000
0	0	13 000	11	200	212	18 000	50 000
Extrakt 9		Extrakt 10		Rinderser. akt.		Rinderser. akt. erschöpft	
60 000		60 000		78		39 000	
100 000		80 000		56		60 000	
Rinderser. inakt.		Rinderser. inakt. erschöpft		Komplementkontrolle			
1312		1800		unzählbar			
1348		5000					

Wie im vorigen Versuche ist auch in diesem die Erschöpfung des aktiven Serums durch Vibrionen unter sonst ganz gleichen Umständen viel stärker ausgesprochen als die des inaktiven. Da die Vibrionen nur ganz kurze Zeit mit

den Seren in Berührung waren, scheint auch für die bloße Bindung die Intervention des Komplementes von größter Bedeutung zu sein. In dieser Hinsicht sollen noch eingehendere Untersuchungen angestellt werden. Im übrigen bemerkt man leicht, wie Kochsalzlösung sowohl mit aktiv wie inaktiv sensibilisierten Vibrionen gute Extrakte gibt, während sonst nur die aktiv sensibilisierte Cholera an alle Flüssigkeiten die aufgenommenen Immunkörper mehr oder weniger gut abgibt, während die inaktiv sensibilisierten wesentlich nur erschöpfend wirken.

Es wurde sodann untersucht, wie sich aktiv sensibilisierte Vibrionen verhalten, wenn sie mit dem Serum, das sie eben erschöpft hatten, einmal im aktiven Zustande, das andere Mal nach vorheriger Erhitzung behandelt werden.

Tabelle XXXVI.

2 Kulturen Cholera 74 werden in 32 ccm vorgewärmtem aktiven Rinderserum aufgeschwemmt, in 4 Röhrchen verteilt und sofort zentrifugiert. Das abgessene Serum wird zum Teil gleichzeitig mit einer Probe unveränderten aktiven Serums $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Die 4 Vibrionrückstände werden dann wie folgt 1 Stunde bei 38° behandelt:

- | | |
|---------------------------------------|------------------------|
| 1) mit 2 ccm aktiv erschöpftem Serum, | |
| 2) " 8 " " " " " | } dann erhitztem Serum |
| 3) " 2 " " " " " | |
| 4) " 8 " " " " " | |

Nach dem Zentrifugieren wurden alle Proben vor dem in den Dosen von 0,1, 0,05 und 0,01 ccm mit 0,05 ccm Komplement und einer Einsaat von 53 000 angesetzten Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

Extrakt 1	Extrakt 2	Rdser. akt. ersch.	Rdser. akt.	Extrakt 3	Extrakt 4
102	2048	19 000	37	976	1792
384	1932	10 400	15	824	1872
2856	10 200	12 000	218	588	1840
Ser. akt. ersch. 56°		Rdser. inakt. 56°	Kompl.-Kontr.		
27 000		61	27 000		
30 000		20			
19 000		196			

Es scheint also bis auf weiteres die Komplementwirkung für das Eintreten der Immunkörperabspaltung nicht unbedingt erforderlich zu sein. Wohl aber ist sie erforderlich, um die Vibrionen in denjenigen Zustand zu versetzen, in dem die Abspaltung in jedem Medium, auch in dem vorher erschöpften Serum selbst, möglich wird. Daß sie dabei in Granula zer-

fallen, scheint wieder nicht notwendig zu sein, da ja eine irgend erhebliche oder nur merkbare Bakteriolyse während der momentanen Sensibilisierung nicht eintritt. Es liegt hier zweifellos ein der weiteren Untersuchung dringend benötigter Punkt vor, der vorläufig unerledigt gelassen wurde, weil jetzt alle Bestrebungen darauf gerichtet wurden, die gewonnenen Resultate zur Herstellung eines künstlichen Immunserums ohne Zuhilfenahme des lebenden Tieres zu benutzen. Eine beiläufige Untersuchung quantitativer Verhältnisse lieferte den Fingerzeig dafür noch mehr, als er schon durch die bisherigen Versuche gegeben war.

Es war schon mehrmals aufgefallen (die Versuche sind hier nicht eigens angeführt), daß die Wirksamkeit der aus momentan aktiv sensibilisierten Vibrionen gewonnenen Extrakte Schwankungen aufwies, für welche als Grund nur die Menge des Serums, welches zur Sensibilisierung verwendet war, als wahrscheinlich angesehen werden konnte. Das veranlaßte systematische Versuche, deren aber nur einer hier angeführt sei.

Tabelle XXXVII.

2 Kulturen Cholera 74 wurden in 8 ccm aktivem Rinderserum aufgeschwemmt und a) in 4 Röhren zu je 1 ccm gebracht, b) zu je 1 ccm in 4 Röhren mit je 9 ccm aktivem Rinderserum gegeben. Alle Proben wurden dann sogleich zentrifugiert und die erhaltenen Bodensätze mit je 0,75 ccm NaCl-Lösung, aktivem Rinderserum, dem von den Vibrionen a und dem von den Vibrionen b abgegossenen erschöpften Seren 1 Stunde bei 42° behandelt. Die aus den Bodensätzen von a gewonnenen Extrakte werden als 1—4, die aus denen von b als 5—8 bezeichnet. Die Extrakte, sowie die Kontrollflüssigkeiten wurden diesmal nicht erhitzt, sondern in den Dosen von 0,075, 0,025 und 0,0075 ccm mit je 0,05 ccm Komplement aktiv verwendet bei einer Einsaat von 36 000 Cholera 74.

Extrakt 1	Extrakt 2	Extrakt 3	Extrakt 4	Extr. 5	Extrakt 6	Extrakt 7
212	5	38	77	3	0	0
1240	1084	2960	416	0	1	59
1792	4240	2840	952	0	19	12
Extrakt 8	Rdser. akt.	Rdser. a akt.	Rdser. b akt.	Komplementkontr.		
1	0	üb. 100 000	1824	unzählbar		
40	3	unzählbar	560			
92	232	„	848			

In je 0,1 ccm der Versuchsflüssigkeiten waren lebende Vibrionen von vornherein enthalten, in der gleichen Reihenfolge, wie oben angeführt: 12 000, 976, 296, 528, 182, 204, 544, 328, 0, 2160, 65.

Es ist auf das deutlichste zu erkennen, daß die Extrakte, welche aus den mit viel Serum sensibilisierten Vibrionen gewonnen waren, weitaus die

stärksten sind, ja sogar, soweit die nicht vollständige Austitrierung derselben einen Schluß erlaubt, das aktive Rinderserum in bakterizider Wirkung zu übertreffen scheinen. Die momentane Behandlung relativ geringer Bakterienmengen mit relativ sehr viel Serum erschien also als der verheißungsvollste Weg zur Erlangung höchstwirksamer Extrakte.

Vorher sei aber noch in Kürze einer unschwer zu erklärenden, aber sehr interessanten Beobachtung bei der momentanen aktiven Sensibilisierung von Cholera vibrionen gedacht. Führt man nämlich eine solche aus, so ist das von den Vibrionen abzentrifugierte Serum vollständig klar. Nach einiger Zeit aber wird es, bei 42° schneller, aber auch bei Zimmertemperatur, trüb, wobei sich die Trübung verstärkt und schließlich in typische Präzipitation mit Ausflockung übergeht. Mikroskopische Präparate zeigen die formlosen Massen, wie sie bei Präzipitationen entstehen, hie und da, je nach der Intensität des Zentrifugierens, mit mehr oder sehr wenig eingestreuten Vibrionen oder Körnchen. Extraktion derartiger Präzipitate in NaCl-Lösung bei 42° ergab in einer Reihe von Fällen recht wirksame bakterizide Extrakte. Bei der länger dauernden Behandlung größerer Kulturmengen von Vibrionen mit Serum ist somit ein Uebergang gelöster Cholerastoffe in das Serum ohne jede Bakteriolyse möglich und nachweisbar, was für die Frage der Serumerschöpfung nicht ohne Bedeutung ist. Woher diese Substanz stammt, kann kaum zweifelhaft sein, wenn man bedenkt, wie leicht aus Bakterienkulturen Substanz auch in NaCl-Lösung übergeht, die vielleicht aus Bakterien stammt, die während der Kulturdauer absterben, vielleicht überhaupt einen Teil des Leibes auch noch lebensfähiger Vibrionen ausmacht. Dementsprechend wird auch das beschriebene Phänomen ganz wesentlich schwächer, wenn man die Kulturmassen vorher mit Kochsalzlösung ausgiebig wäscht. Doch entsteht auch dann noch, freilich erst nach längerer Zeit und schwach eine Trübung des anfangs ganz klaren Serums. Daraus folgt, daß man bei Vibrionen, die längere Zeit mit aktivem Serum in Berührung gestanden haben, mit den gebildeten agglutinierten Haufen auch die präzipitierte, gelöst gewesene Substanz, die ja auch mikroskopisch im gefärbten Präparate gesehen werden kann, entfernt und daß die Erschöpfung eines Serums durch Bakterien durchaus kein einfacher, nur auf Immunkörperbindung beruhender Prozeß zu sein braucht.

Aus dem Versuche in Tabelle XXXVII ergab sich die Möglichkeit, wirksame Extrakte zu gewinnen, indem Vibrionen mit viel aktivem Rinderserum sehr kurze Zeit vorbehandelt und dann in relativ kleinen Mengen einer anderen Flüssigkeit abgesprengt wurden.

Tabelle XXXVIII.

1 Kultur Cholera 74 wurde mit 72 ccm aktiven Rinderserums aufgeschwemmt und sogleich zentrifugiert. Der zunächst in 8 Eproutetten abgesetzte Bodensatz wurde mit dem anhaftenden Serum in einer Eproutette vereint, durch Zentrifugieren isoliert und darauf sofort in 1 ccm des ab-

gegossenen Serums, welches zur Sensibilisierung gedient hatte, verteilt und so 1 Stunde bei 42° gehalten. Der so gewonnene Extrakt wurde gleichzeitig mit aktivem Rinderserum und dem Serum a, welches zur Sensibilisierung und dann auch zur Extraktion gedient hatte, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

A. Einsaat Cholera 74 = 56 000.

	Extrakt	Rdser. a	Rdser. akt.
0,05 ccm + 0,05 ccm Kompl.	46	688	548
0,01 " + 0,05 " "	55	10 200	5 600
0,005 " + 0,05 " "	320	70 000	6 200
0,001 " + 0,05 " "	512	üb. 100 000	10 000
0,0005 " + 0,05 " "	19 000	unzählbar	28 000

B. Einsaat Vibrio b = 24 000.

0,05 ccm + 0,05 ccm Kompl.	11 000	30	22
0,01 " + 0,05 " "	20 000	13 000	5 800
0,005 " + 0,05 " "	üb. 20 000	ca. 50 000	8 000
0,001 " + 0,05 " "	dgl.	dgl.	üb. 20 000

Die Komplementkontrolle für Chol. 74 ergab unzählbare Vermehrung, die für Vibrio b ergab nur 9200 Kolonien.

Tabelle XXXIX.

1 Kultur Cholera 74 in 80 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, der Satz in 1 ccm des abgegossenen „erschöpften“ Serums a 1 Stunde bei 42°. Alle Proben vor dem Versuche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt.

A. Einsaat Cholera 74 = 50 000.

	Extrakt	Rdser. a	Rdser. akt.
0,05 ccm + 0,05 ccm Kompl.	0	1080	4
0,01 " + 0,05 " "	7	23 000	7 000
0,005 " + 0,05 " "	424	27 000	23 000
0,001 " + 0,05 " "	3824	60 000	41 000

B. Einsaat Vibrio 134 = 50 000.

0,05 ccm + 0,05 ccm Kompl.	ca. 20 000	18 000	9 000
0,01 " + 0,05 " "	dgl.	ca. 20 000	9 800
0,005 " + 0,05 " "	"	dgl.	ca. 20 000

Die Komplementkontrolle ergab bei Teil A ca. 150 000, bei B 82 000 Kolonien.

Es ist also in den angeführten Versuchen nicht nur die Ergänzung eines vorher mit Vibrionen behandelten Serums tadellos gelungen, die ergänzten Sera sind sogar wesentlich stärker bakterizid als die zur Sensibilisierung verwendeten unveränderten Sera selbst. Diese Verstärkung der Wirkung, die nach der ganzen Versuchsanordnung lediglich durch vermehrten Immunkörpergehalt bedingt sein kann, bezieht sich aber nur auf den Vibrio, mit dem der „Extrakt“ hergestellt

ist, auf andere Vibrionen ist er ohne Wirkung, welche dagegen das Kontrollserum, wenigstens in den höheren angewendeten Dosen, sicher erkennen läßt. Dieses über Erwarten günstige und überzeugende Resultat war die Veranlassung, vorläufig, unter Beiseitelassung aller interessanten Detailfragen, nur auf die Gewinnung möglichst wirksamer Extrakte, die dann den Charakter künstlich, ohne Verwendung des Tierkörpers hergestellter Immunsera haben müssen, hinzuarbeiten.

Es wurde hierfür die Sensibilisierung von Vibrionen mit großen Mengen aktiven Rinderserums während kurzer Zeit beibehalten. Dabei erfolgte wohl Haufenbildung, niemals aber irgendeine hervortretende Granulabildung. Die Extraktion bei 40–42° wurde sodann mit aktivem Serum selbst vorgenommen, das ja auch im Tierkörper vergleichbar zur Wirkung kommen muß. Bei dieser Extraktion bildeten sich dann Granula in mehr oder minder starkem Ausmaße. Der abzentrifugierte Extrakt wirkte dann in allen Fällen stärker als Rinderserum und wirkte, soweit dies bisher untersucht wurde, spezifisch.

Tabelle XL.

1 Kultur Cholera Konstantinopel für 72 ccm aktives Rinderserum. Extrahiert mit 1,5 ccm aktivem Rinderserum. Vor dem Versuche Erwärmung durch 1/2 Stunde.

	Einsaat Chol. Konst. = 12 000	Einsaat Vibrio 34 = 9800
0,01 ccm Extrakt + 0,05 ccm Kompl.	84	4 800
0,005 " " + 0,05 " "	536	3 760
0,001 " " + 0,05 " "	4 100	12 000
0,0005 " " + 0,05 " "	9 600	15 000
0,001 " Rdser. + 0,05 " "	384	15
0,005 " " + 0,05 " "	2 240	1 128
0,001 " " + 0,05 " "	27 000	3 600
0,0005 " " + 0,05 " "	50 000	5 200
Komplementkontrolle	40 000	30 000

Tabelle XLI.

1 Kultur Cholera 74 für 80 ccm aktives Rinderserum. Extrahiert in 1 ccm aktivem Rinderserum durch 1 Stunde bei 38–40°. Auf 56° erwärmt. Angewendet wurden die Dosen 0,01, 0,005, 0,001 und 0,0005 ccm mit 0,05 ccm Komplement.

Die erste Zahl bezeichnet die Kolonienzahl im Extrakt, die zweite eingeklammerte die im Rinderserum.

Einsaat Cholera 74 = 42 000.

30 (1080), 50 (60 000), 4 (unzählbar), 7000 (unzählbar).

Einsaat Cholera 70 = 16 000.

1324 (22), 0 (82), 0 (3900), 37 (40 000).

Einsaat Vibrio a = 26 000.

22 000 (17 300), 30 000 (18 000), 70 000 (37 000), unzählb. (unzählb.).

Tabelle XLII.

1 Kultur für 80 ccm aktives Rinderserum, in 1,5 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 42° extrahiert, vor dem Versuche Inaktivierung.

Einsaat Cholera 74 = 27 000 mit 0,05 ccm Komplement in den Dosen: 0,05, 0,01, 0,005, 0,001 und 0,0005 ccm; die entsprechenden Zahlen mit Rinderserum eingeklammert. 0 (0), 64 (92), 5 (4880), 45 (43 000), 1920 (unzählbar), Komplementkontrolle: unzählbar.

Einsaat Vibrio g = 97 000 mit 0,05 ccm Komplement in den Dosen: 0,15, 0,075, 0,025, 0,01 und 0,005 ccm; die Zahlen mit Rinderserum eingeklammert. 70 000 (1760), ca. 100 000 (3200), ca. 100 000 (9800), ca. 100 000 (26 000), unzählbar (21 000); Komplementkontrolle: unzählbar.

Tabelle XLIII.

3 Kulturen Chol. 74 für 200 ccm akt. Rinderserum; in 3 ccm akt. Rinderserum 1 Stunde bei 42° extrahiert. Inaktivierung.

Einsaat Chol. 74 = 120 000 mit je 0,05 ccm Komplement in den Dosen: 0,05, 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005 und 0,0001 ccm (Zahlen für Rinderser. eingeklammert). 0 (0), 0 (0), 0 (31), 131 (45), 67 (1280), 102 (2896).

Einsaat Vibrio g = 97 000 in den Dosen von 0,2, 0,1, 0,05 und 0,01 ccm. In den Extraktproben überall 70 000 bis über 100 000, im Rinderserum: 1920, 776, 4200, 8000.

Einsaat Vibrio a = 16 000, in den gleichen Dosen wie Vibrio g; in den Extraktproben überall 50 000—100 000, in Rinderserum: 74, 1640, 2700, 20 000.

Die Komplementkontrollen liefern für Chol. 74 unzählbare, für Vibrio g 80 000, für Vibrio a 27 000 Kolonien.

Tabelle XLIV.

3 Kulturen Chol. 74 auf 280 ccm akt. Rinderserum; in 3 ccm Rinderserum 1 Stunde bei 42° extrahiert. Inaktivierung.

Einsaat Chol. 74 = 32 000 mit 0,05 ccm Komplement in den Dosen: 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005, 0,0001, 0,00005 ccm (Zahlen für Rinderser. eingeklammert). 0 (3920), 72 (2888), 26 (27 000), 85 (unzählb.), 720 (unzählb.), 3528 (unzählb.).

Einsaat Chol. Konstantinopel = 95 000, dieselben Dosen. 0 (1862), 0 (4300), 87 (9200), 37 (47 000), 212 (unzählb.), 4640 (unzählb.).

Einsaat Vibrio 34 = 9700 in den Dosen: 0,2, 0,1, 0,05, 0,01 ccm. 2400 (0), 9800 (2), 8500 (632), 16 000 (9200).

Komplementkontrolle bei Chol. 74 unzählbar, bei Chol. Konst. 82 000, bei Vibrio 34 unzählbar.

Tabelle XLV.

3 Kulturen Chol. 74 in 240 ccm akt. Rinderserum; extrahiert in 2 ccm akt. Rinderserum, 1 Stunde bei 42°. Inaktivierung.

Einsaat Chol. 74 = 9800 mit 0,05 ccm Kompl. in den Dosen: 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005, 0,0001, 0,00005 ccm. Komplementkontrolle = 52 000. 0 (616), 0 (480), 24 (2648), 33 (6400), 26 (5900), 896 (52 000).

Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern. 413

Einsaat *Vibrio* El Tor = 2080 in den gleichen Dosen. Komplementkontrolle = 15 000. 0 (0), 0 (2), 0 (0), 0 (0), 0 (2800), 0 (7000).

Einsaat *Vibrio* 1 = 10 000 in den Dosen 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 ccm. Komplementkontrolle = 4200. 2248 (248), 5300 (79), 12 000 (208), 13 000 (1920), 21 000 (7300).

Tabelle XLVI.

2 Kulturen Chol. 74 in 160 ccm akt. Rinderser.; Extraktion in 1,5 ccm akt. Rinderserum 1 Stunde bei 42°. Inaktivierung.

Einsaat Chol. 74 = 80 000 mit 0,05 ccm Komplement in den Dosen 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005, 0,0001, 0,00005 und 0,00001 ccm. Komplementkontrolle: unzählbar. 3280 (12 000), 20 000 (19 000), 22 000 (70 000), 11 000 (unzählb.), 20 000 (unzählb.), weiter überall unzählbar.

Einsaat *Vibrio* El Tor = 24 000 in gleichen Dosen; Komplementkontrolle: unzählbar. 0 (7), 12 (984), 126 (480), 0 (92 000), 61 (unzählb.), 12 000 (unzählb.), weiter unzählbar.

Einsaat *Vibrio* g = 12 000 in den Dosen 0,2, 0,05, 0,01 und 0,05 ccm. Komplementkontrolle: unzählbar. 90 000 (20 000), unzählb. (57 000), unzählb. (60 000), weiter unzählbar.

Tabelle XLVII.

Je 1 Kultur Chol. 74 und El Tor werden mit je 80 ccm akt. Rinderserum momentan behandelt, die Sätze mit je 1 ccm akt. Rinderserum 1 Stunde bei 42° extrahiert. Inaktivierung.

Einsaat Chol. 74 = 98 000 mit den Dosen 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005, 0,0001 und 0,00005 ccm der Extrakte von Chol. 74, El Tor und Rinderser. Die zusammengehörigen Zahlen sind für jede Dosis in dieser Reihenfolge eingeklammert. (384, 63, 2968), (376, 116, 7100), (560, 108, 7000), (624, 1840, 7300), (288, 4600, über 100 000), (2160, 4800, unzählb.), Komplementkontrolle: unzählbar.

Einsaat El Tor = 95 000 für die gleichen Dosen. (7, 0, 0), (8, 0, 2280), (5, 8, 3700), (4300, 1352, 9000), (3264, 3856, 40 000), (8200, 6500, unzählb.), Komplementkontrolle: unzählbar.

Einsaat *Vibrio* b = 3128 für die Dosen: 0,15, 0,075, 0,025, 0,01 und 0,005 ccm. Die Extraktproben ergaben sämtlich Vermehrung von 8—40 000 Kolonien, während im Rinderserum gezählt wurden: 18, 9, 3080, 5100, 7000; die Komplementkontrolle ergab 26 000 Kolonien.

Die mit den No. 34 und 134 bezeichneten Vibrionenstämme verdanken wir Herrn Prof. Neufeld; die anderen, hier mit Buchstaben bezeichneten Stämme sind Elbvibrionen, welche die Herren Prof. Dunbar und Trauttmann uns zu überlassen so gütig waren. Ihre Hamburger Sammlungsbezeichnung ist *Vibrio* a = 10 875/11, *Vibrio* b = 9042/11, *Vibrio* g = 11 608/11, *Vibrio* l = 15 111/12. Die Vibrionen a, b, l waren Leuchtvibrionen.

Die abgekürzt und in gedrängtester Form mitgeteilten Versuchsbeispiele sollen ein Urteil über den erzielten Erfolg ermöglichen. Ganz ohne Ausnahme war der aus ganz kurze Zeit mit aktivem Serum sensibilisierten Vibrionen erhaltene Extrakt mit aktivem Rinderserum wesentlich stärker als das ursprüngliche Serum selbst. Auch dann, wenn dieses an sich recht wenig wirksam ist, kann der Extrakt an bakteriziden Fähigkeiten mit einem künstlichen Immunserum in Rivalität treten (Tabelle XLIV), oder, wenn er zum Teil versagt, so bleibt er doch noch stärker als das Rinderserum, aus dem er hergestellt ist und verrät seine Fähigkeiten deutlicher gegen einen empfindlicheren Stamm (Tabelle XLVI). Es ist somit unverkennbar eine stets nachweisbare und oft sehr erhebliche Verstärkung der Bakterizidie durch Anreicherung an Immunkörpern eingetreten. Dabei ist diese Anreicherung aber ganz deutlich spezifisch. Es ist zwar für den bakteriziden Reagenzglasversuch nicht ganz leicht, Mikroorganismen aufzufinden, die genau so empfindlich sind, wie die benutzten echten Cholerasträmme; man ist daher vielfach gezwungen, die Serumdosen höher zu nehmen oder sonst zu variieren; die sämtlichen angestellten Versuche zeigten aber aufs klarste, daß durch die in vitro hergestellten Extrakte nur echte Cholera-vibrionen und der auch hier sich wie ein echter Cholerastramm verhaltende El Tor beeinflußt wurden, während andere Vibrionen in den Extrakten stets besser als im nativen Rinderserum gedeihen.

Wir stehen nach diesen Resultaten nicht an, den Schluß zu ziehen, daß eine Herstellung von künstlichem Immunserum, genauer gesagt, die Umwandlung eines normalen aktiven Serums in ein solches mit höherwertigen und dabei unverkennbar spezifischen bakteriziden Wirkungen oder die Anreicherung und Umformung des normalen Immunkörpergehaltes ins Spezifische möglich und in den zitierten Versuchen auch gelungen ist. Als Agens dafür dienen einzig und allein die Mikroorganismen, welche für das betreffende Normalserum empfindlich sind und die die Fähigkeit haben, sowohl die Normalimmunkörper aus demselben zu binden, als sie nachträglich wieder in wirksamer, und wie die Spezifitäts-

versuche lehren, in veränderter Form abzugeben. Es kommt nur auf die im Versuche ermittelbaren Umstände an, wann das eine und das andere geschieht.

Hat aber dieser Schluß Berechtigung, so folgt daraus zunächst weiter, daß der Tierkörper für die Herstellung eines Immunserums keine unerläßliche Bedingung ist und ferner, daß die Antikörperbildung ein rein humoraler Vorgang, wenn nicht immer ist, so doch sein kann, daß die Annahme von Rezeptoren, die an Organzellen sitzen, als Grundlage der später ins Blut abzugebenden Immunkörper, überflüssig wird. Es läßt sich auch behaupten, daß die Immunkörperbildung dann wirklich, wie die ältere Theorie annahm, dadurch spezifisch wird, daß der anfangs mit dem Antigen verbundene Immunkörper bei der Ablösung durch dasselbe verändert wird, z. B. um ein Bild zu geben, mit dem Antigen einen Teil von dessen Substanz austauscht. Die Untersuchung aller dieser Verhältnisse, die zum Teil schon begonnen ist, läßt wesentliche Fortschritte der serologischen Studien erwarten.

Hat man aber das Recht, die nach der beschriebenen Methode hergestellten bakteriolytischen Serumextrakte wirklich als vollkommene Analoga eines Immunserums zu betrachten? Soweit die beiden Kennzeichen eines solchen in Betracht kommen, erhöhte und dabei spezifische Wirksamkeit, ohne Zweifel, und ein Untersucher, der die Herkunft der Extrakte nicht kennt, würde sie gewiß als Immunsera ansprechen.

Die Bereitung derselben lehrt aber, daß relativ sehr große Mengen normalen Serums nötig sind und es ist daher die Frage, ob man die ganze Methodik nicht nur als eine solche ansehen soll, welche bloß zu einer Konzentrierung der schon normal vorhandenen Immunkörper in ein kleines Serumquantum führt. Dem wäre schwer zu widersprechen, wenn nicht die Untersuchung der Spezifität aufs deutlichste zeigen würde, daß die erhöhte Bakterizidie gerade nur für den Mikroorganismus gilt, der zur Extrakt Darstellung gedient hat. Es sind vielmehr die Extrakte für fremde Vibrionen stets deutlich unwirksamer als das native Serum, meist erscheinen sie als total erschöpft. Um eine einfache Immunkörperkonzentration kann es sich somit nicht handeln.

Es wäre aber an folgendes zu denken. Bekanntlich rechnet die Ehrlichsche Theorie von vornherein mit einer sehr großen Pluralität von Immunkörpern schon im normalen Serum. Sind also in einem solchen die für Cholera und einen fremden *Vibrio* getrennt vorhanden, so wird bei der Behandlung mit Cholera natürlich nur der dazu gehörige Immunkörper gebunden und später wieder abgelöst werden, während die sonstigen Immunkörper gar nicht tangiert werden: es würde sich um eine relative Konzentrierung bestimmter Immunkörper handeln.

Dem widerspricht die Tatsache, daß, wie bereits erwähnt, die Extrakte mit aktivem Serum auf fremde Vibrionen gar nicht oder doch wesentlich schwächer wirken als das native Serum; würden andersartige als Choleraimmunkörper gar nicht beeinflußt, so müßte die Bakterizidie der Extrakte der des Rinderserums für fremde Vibrionen ungefähr gleich sein. Dazu kommt, daß man bei der kurzen Erschöpfung des aktiven Rinderserums mit Bakterien von einer spezifischen Erschöpfung nichts merkt, indem ein wirklich mit Cholera erschöpftes aktives Rinderserum auch für alle untersuchten anderen Bakterien mehr weniger unwirksam geworden war.

Für die Annahme einer großen Vielheit bakteriolytischer Immunkörper in Normalseren hat man keinen anderen Beweis als die anscheinend spezifische Erschöpfung, die bisher fast immer mit zuvor inaktiviertem Serum ausgeführt wurde und im Falle des Gelingens auch absolut beweisend aussieht. In Wirklichkeit kann man aber diese Beweiskraft ernsthaft anzweifeln. Es ist zuzugeben, daß der Gehalt eines Rinderserums an Immunkörpern wirklich sehr groß ist, daß aber diese untereinander tatsächlich verschieden sind, bleibt erst besser als durch den Absorptionsversuch zu beweisen. Gesetzt, es ginge bei der Behandlung eines solchen Serums mit irgendwelchen Bakterien ein Teil der Bakteriensubstanz in Lösung, so kann leicht nur dadurch eine Abnahme der ursprünglichen bakteriziden Kraft herbeigeführt werden, die dann natürlich am stärksten für die gleichnamige Bakterienart sichtbar sein wird. Das spezifische Moment liegt dann nicht im Serum a priori begründet, sondern es wird erst sekundär durch die Bakterien

selbst ins Serum eingeführt. Die oben kurz erwähnten Versuche über das Auftreten spontaner Präzipitationen im momentan erschöpften aktiven Rinderserum geben bereits mehr als nur Anhaltspunkte für diese Annahme und zeigen klar, wie vielerlei noch in den grundlegenden Versuchen der Serologie zu verbessern sein könnte.

Es ist wiederholt erwähnt, wie die Reagenzglasversuche sich immer mehr den im Tierkörper herrschenden Verhältnissen anzupassen suchten und wie nur dadurch das zunächst unlösbar scheinende Problem, Immunkörper erst aus einem Serum binden zu lassen und dann im gleichen Serum wieder abzusprengen, doch seiner Lösung zugeführt werden konnte. Es ist aber klar, daß die Annäherung an den Tierkörper schließlich unübersteigbare Grenzen finden muß; denn die zum Versuch genommene Körperflüssigkeit, das Serum, ist ja als solches im Tiere gar nicht vorhanden und überdies ist in vitro niemals ein Ersatz der verloren gegangenen Immunkörper durch Neubildung normaler möglich. Dadurch kann aber das Endresultat sehr wesentlich verändert werden, wenn man die folgende provisorische Theorie der Antikörperbildung überlegt. Auf eine etwa intravenöse Injektion von Vibrionen erfolgt auch im Tiere zunächst die Bindung der Normalimmunkörper, wobei bei der gewöhnlichen und bewährten Immunisierungstechnik stets eine relativ oder absolut geringe Bakterienmenge auf große Mengen aktiver Körperflüssigkeit kommt. Neben oder kurz nachher erfolgt aber die Ablösung derselben, so daß das Blut an Normalimmunkörpern verarmt ist, in gleichem Grade aber mit den abgelösten und jetzt spezifisch gewordenen versehen wird. Es ist möglich und wahrscheinlich, daß die an die Vibrionen herantretenden und dann verändert abgelösten Normalimmunkörper den größten Teil der überhaupt vorhandenen ausmachen, sei es, daß eine wiederholte Bindung möglich ist, sei es, daß die Bindung von vornherein in größtem Maßstabe auf einmal erfolgt. Ist der Ablösungsprozeß beendet, so erscheint das Serum des Tieres quantitativ so wirksam wie vorher, da die absolute Zahl der darin vorkommenden Immunkörper keine wesentliche Veränderung erfahren haben kann. Eine negative Phase braucht also im Serum niemals

ezintreten, wie ja auch Pfeiffer und Friedberger¹⁾ sie im Tierkörper nicht gefunden haben. Qualitativ wird aber ein solches Serum schon eine gewisse Spezifität verraten. Schließlich wird es aber zu einer Neubildung, und zwar der normalen Immunkörper kommen müssen, da die von den Vibrionen abgelösten körperfremd durch ihre Spezifität geworden sind. Sollte, was freilich bisher nicht nachzuweisen war, die Bindungskraft der Vibrionen eine sehr hohe und länger anhaltende sein, so wäre auch eine beständige Inanspruchnahme der neugebildeten Normalimmunkörper durch die Vibrionen und Umformung derselben nach ihrer Ablösung denkbar. So muß es immer mehr zu einer Anreicherung des Serums an spezifischen Immunkörpern kommen, ohne daß dafür etwas anderes als die Neubildung der normalen nötig wäre, die ja wohl ohnedies ständig im Gange ist.

Die vorstehend skizzierte Theorie kann erst auf der sicheren Basis neuer Experimente weiter ausgeführt werden; die kurze Darstellung genügt zur Erläuterung der folgenden Versuchspläne, für die bestimmend ist: 1) die Auffassung der Antikörperbildung als eines rein humoralen Vorganges, 2) die Entstehung der Spezifität der Antikörper durch wechselseitige Beeinflussung von Antigen mit den humoralen normalen Kräften, 3) die Anhäufung der spezifischen Immunkörper lediglich infolge der Neubildung normaler, die dann wieder durch das Antigen verändert werden.

Nur beiläufig sei darauf hingewiesen, daß auch andere serologische Reaktionen einer ähnlichen Bearbeitung zugänglich sind, wie sie hier für die bakteriolytischen durchgeführt wurde. So gelingt es, auch aus Blutkörperchen mit normalem Serum hämolytisch wirkende Extrakte zu erhalten. Bezüglich der Agglutination sei im Anschluß an die Tabelle XXXIII mitgeteilt, daß der daselbst verwendete Choleraextrakt bis zur Dosis 0,005 ccm mit 0,025 ccm Meerschweinchenserum als Komplement vollständige Agglutination hervorrief, während das Rinderserum dies nur bis zur Menge 0,05 unter den gleichen Bedingungen vermochte. Der Extrakt der Tabelle XXXV agglutinierte ohne Komplement mit 0,05 ccm voll-

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 47, p. 503.

ständig, das Rinderserum in der Dosis 0,1 ccm nur schwach, mit 0,025 ccm aktivem Meerschweinchenserum war im Extrakte noch deutliche Agglutination bei 0,00005, bei Rinderserum eine gleich starke bei 0,001 ccm. Selbstverständlich soll mit den obigen Ausführungen nicht gesagt sein, daß im Tierkörper sich der Prozeß der Antikörperbildung genau so abspiele, wie dies im Reagenzglasversuche mit seinen naturgemäßen Uebertreibungen der Verhältnisse nachweisbar ist, aber der Weg soll gezeigt werden, den die Untersuchung der Antikörperbildung auch für den Tierkörper einhalten will.

Zusammenfassung.

Es gelingt durch den bakteriziden Plattenversuch nachzuweisen, daß mit inaktivem Normalserum sensibilisierte Choleravibrionen die aufgenommenen Immunkörper an Kochsalzlösung abgeben können.

An inaktives Normalserum erfolgt diese Abgabe nicht.

Hingegen sind mit aktivem Rinderserum behandelte Vibrionen imstande, auch an das gleiche Serum Immunkörper abzugeben.

Auf diese Weise gelingt die Reaktivierung eines vorher durch Bakterienbehandlung erschöpften Normalserums ohne Mühe.

Auch sehr kurze Behandlung von Vibrionen mit aktivem Normalserum, bei welcher noch keine sichtbare Bakteriolyse eintritt, führt bereits zur Sensibilisierung; von solchen Vibrionen lassen sich mit den verschiedensten Flüssigkeiten bakterizid wirksame Extrakte gewinnen.

Behandelt man Vibrionen mit relativ großen Mengen aktiven Normalserums und läßt sie sodann in geringen Mengen des gleichen aktiven Normalserums bei 40—42° digerieren, so erhält man Sera, welche wesentlich stärker wirken als das betreffende Normalserum selbst und deren Wirkung dabei offenkundig spezifisch wird. Solche werden als künstlich dargestellte Immunsera zu bezeichnen sein.

Nachdruck verboten.

Glandes surrénales et Toxi-infections.

Par le Dr. A. Marie,

Professeur à l'Institut Pasteur (Paris).

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Februar 1913.)

Les lésions congestives, souvent intenses, notées au cours de diverses maladies microbiennes, telles que la diphtérie, la tuberculose, le tétanos, ainsi que les altérations histologiques, décrites dans les glandes surrénales, ont depuis longtemps conduit à se demander si elles ne jouaient pas un rôle dans la défense de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux et de leurs sécrétions. Mais en dépit de ces constatations si souvent faites, les fonctions multiples des capsules surrénales et en particulier l'une d'elles, la fonction adrénalinique, ont fait l'objet seulement d'un très petit nombre de recherches expérimentales dans leurs rapports avec les infections et intoxications de l'organisme.

Des deux procédés qui s'offrent à l'expérimentateur pour étudier le rôle d'une glande à sécrétion interne en physiologie pathologique, ablation de l'organe ou étude de l'action de ses produits, nous nous sommes d'abord appliqué au dernier, en ayant surtout en vue l'alcaloïde que l'on a extrait des capsules et ensuite préparé par synthèse.

Dans cette étude, nous désirons donc exposer nos recherches sur l'action de l'adrénaline et d'autres préparations des glandes surrénales, d'abord vis-à-vis des toxines bactériennes, dont nous prendrons comme types les toxines tétanique et diphtérique.

I. Action de l'adrénaline sur la toxine tétanique (1).

Si l'on expose pendant quelques heures à la température de 37°, dans un très petit tube fermé à la lampe, un mélange en proportions convenables de toxine et d'adrénaline naturelle, il se montre tout à fait inoffensif pour une espèce aussi sensible au tétanos que la souris. Un centième de milligramme d'adrénaline naturelle peut neutraliser environ cinquante doses mortelles de toxine pour cet animal. La même quantité de

toxine, diluée dans l'eau physiologique et soumise aux mêmes conditions, a conservé ses propriétés pathogènes.

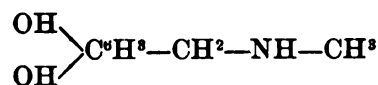
Les solutions millésimales de suprarénine synthétique gauche (tartrate), de suprarénine droite (bitartrate), de suprarénine racémique (chlorhydrate), toutes également neutres au tournesol, se sont aussi montrées actives sur la toxine tétanique et la suprarénine synthétique gauche¹⁾, en particulier, exerce son pouvoir neutralisant sur la tétanotoxine aux mêmes doses que l'adrénaline naturelle.

Tableau I.
Neutralisation de la toxine tétanique par l'adrénaline.

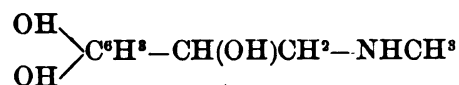
Mélanges injectés après exposition de 20 heures à 37°	Jours						
	1	2	3	4	5	6	7
Souris 1. Tt. 0.0002 c. c.	—	=	≡	†			
Souris 2. Tt. 0.01 c. c. + Adr. nat. 1‰ 0.01 c. c.	0	0	0	0	0	0	0
Souris 3. Tt. 0.01 c. c. + Adr. syn. g. 1‰ 0.01 c. c.	0	0	0	0	0	0	0
Souris 4. Tt. 0.005 c. c.	=	≡	≡†				
Souris 5. Tt. 0.005 c. c. + 0.10 c. c. Bitartr. suprar. dr. 1‰	0	0	0	0	0	0	0
Souris 6. Tt. 0.005 c. c. + 0.10 c. c. Chl. suprar. rac. 1‰	0	0	0	0	0	0	0
Souris 7. Tt. 0.01 c. c.	=	≡	≡†				
Souris 8. Tt. 0.01 c. c. + 1 c. c. Chl. de Dioxybenzylmethylamine 1‰	0	0	0	0	0	0	0

(Tt. = toxine tétanique.)

Dans ce tableau I, qui présente quelques exemples choisis parmi de nombreuses expériences, nous avons fait figurer un produit alcaloïdique, le chlorhydrate de dioxybenzylmethylamine qui lui aussi peut neutraliser, à la dose de 0.001 gr., environ cinquante doses mortelles de toxine. Cette substance qui est un phénol à chaîne latérale aminée répond à la formule



celle de l'adrénaline étant



1) D'après Arthur R. Cushny (Journ. of Phys., Vol. 37, fasc. 2, p. 130), l'action de l'adrénaline naturelle sur la pression sanguine, chez le chien, serait deux fois plus forte que celle de son isomère synthétique.

Etudié par Tiffeneau (2) surtout au point de vue des conditions de structure moléculaire qui jouent un rôle important dans son action physiologique, cet alcaloïde, où la fonction alcool se trouve supprimée, est doué d'une action vaso-constrictive tout à fait comparable à celle de l'adrénaline et dont elle ne diffère qu'au point de vue quantitatif, puisque c'est seulement aux doses de 0.005 gr. par kilo d'animal que l'on peut avec ce produit réaliser les mêmes effets physiologiques qu'avec des doses d'adrénaline environ cent fois plus faibles.

Quelle idée pouvons-nous nous faire de cette neutralisation de la toxine tétanique?

On sait que l'activité des toxines, corps auxquels on reconnaît aujourd'hui les attributs des colloïdes, passe pour être liée d'une façon très étroite à leurs propriétés physiques. C'est ainsi que l'on tend à expliquer l'action de certains corps chimiques sur les toxines bactériennes: leur activité se trouverait plus ou moins affaiblie ou même détruite toutes les fois que l'addition de substances cristalloïdes bien déterminées viendrait modifier l'état physique du solvant. De ce nombre sont précisément certains corps, alcaloïdiques comme l'adrénaline, tels que les sels de quinine, de morphine.

A la dose de 0.001 gr. le chlorhydrate neutre de quinine neutralise *in vitro* cinq doses mortelles de toxine tétanique.

Tableau II.

Action du chlorhydrate neutre de quinine sur la toxine tétanique.

Mélanges injectés après exposition de 18 heures à 37°	Jours						
	1	2	3	4	5	6	7
Souris 1. Tt. 0,001 c. c. + Eau dist. 1 c. c.	=	≡	†				
Souris 2. Tt. 0.005 c. c. + 1 c. c. d'eau dist., contenant 0.001 gr. de chl. de quinine	0	0	0	0	0	0	0
Souris 3. Tt. 0.007 c. c. + 1 c. c. d'eau dist. contenant 0.001 gr. de chl. de quinine	0	0	—	—	—	—	—

Si, dans la neutralisation de la toxine tétanique par l'adrénaline, celle-ci intervient pour modifier l'état physico-chimique, à son tour ce dernier peut favoriser les réactions chimiques des corps en présence. Ainsi, c'est un fait connu que les corps oxydants exercent une influence destructive sur

la tétanotoxine. D'après les recherches anciennes de Siebert (3), très actif est sur elle le peroxyde de calcium dont 0.50 gr. suffisent pour neutraliser 1000 doses mortelles de toxine tétanique. L'eau oxygénée, des oxydases, la laccase, se sont montrées aussi plus ou moins actives sur ce poison qui paraît être tout à fait détruit par ces substances, puisqu'il est devenu inapte à provoquer la formation d'anticorps.

Si la neutralisation de la toxine tétanique par l'adrénaline paraît aussi être liée à une question de constitution chimique, en quoi consiste-t-elle?

La solution de l'alcaloïde n'a pas besoin d'être fraîche pour exercer son action neutralisante. Si, par exemple, on la fait passer à travers une bougie, elle s'oxyde fortement et en sort avec une couleur brune plus ou moins foncée: dans cet état d'oxydation, l'adrénaline a perdu une grande partie de son pouvoir toxique, et une souris de 15 gr. qui meurt avec 0.0002 gr. de cet alcaloïde peut alors en supporter 10 fois plus. Cependant l'adrénaline devenue ainsi très peu toxique exerce la même action neutralisante sur la poison tétanique qu'avant d'être oxydée.

Préparons maintenant un mélange toxine-adrénaline en proportions neutralisantes et exposons en la moitié à la glacière et l'autre à 37°, la première conservera toute son activité tétanigène, tandis que la seconde sera devenue inoffensive pour la souris.

Tableau III.

Adrénaline oxydée. Action de la température.

Mélanges injectés	Jours					
	1	2	3	4	5	6
Souris 1. Tt. 0.0002 c. c.	—	=	≡ +			
" 2. Tt. 0,01 c. c. + 0.10 c. c. Adr. syn. fraîche 1‰	0	0	0	0	0	0
Souris 3. Tt. 0.01 c. c. + 0.10 c. c. Adr. syn. oxydée 1‰	0	0	0	0	0	0
Souris 4. Adr. syn. 1‰ fraîche 0,20 c. c.	† en 2 ^h					
" 5. " " 1‰ oxydée 1 c. c.	0	0	0	0	0	0
" 6. Tt. 0.01 c. c. + 0.10 c. c. Adr. syn. 1‰ (glacière)	=	≡	+			
Souris 7. Tt. 0.01 c. c. + 0.10 c. c. Adr. syn. 1‰ (étuve 37°)	0	0	0	0	0	0

Le phénomène de la neutralisation de la tétanotoxine par l'adrénaline est donc indépendant de l'état de fraîcheur de l'alcaloïde, mais la réaction entre celui-ci et la toxine a besoin pour se faire d'une température de 37°.

Il s'opère en effet entre les deux substances une véritable réaction chimique ainsi qu'on peut s'en convaincre au moyen des réactifs colorants de l'adrénaline.

On sait que cet alcaloïde donne avec les oxydants des réactions colorées: ainsi le perchlorure de fer dilué à 15 % fournit une coloration verte si le mélange est acide, violette s'il est neutre.

Une réaction beaucoup plus sensible que celle de Vulpian est obtenue avec le chlorure d'or: en solution à 1 p. 300, il permet de révéler la présence de l'adrénaline même dans des dilutions à 1 p. 100 000 et au delà, en produisant une coloration mauve.

Préparons donc et exposons à 37° des mélanges de toxine tétanique et d'adrénaline à doses neutralisantes; au bout de quelques heures l'alcaloïde se sera oxydé mais ne donnera plus dans ces mélanges la réaction du chlorure d'or, tandis que les tubes témoins où l'alcaloïde se sera aussi oxydé en l'absence de la toxine continueront à donner la réaction.

De ces faits nous pouvons conclure que l'adrénaline réagit à 37° sur la toxine tétanique.

Les phénomènes de neutralisation de la toxine tétanique par l'adrénaline ne s'accomplissent pas en présence de certaines substances très oxydables, telles que l'hémoglobine.

Une solution d'hémoglobine se montre dépourvue de toute action neutralisante sur la toxine tétanique; mais si à un mélange toxine-adrénaline préparé en proportions neutralisantes on ajoute une petite quantité de cette solution d'hémoglobine, la toxine ne sera plus neutralisée par l'adrénaline.

D'autre part, nous avons vu que l'adrénaline oxydée avait perdu en grande partie son pouvoir toxique. Or, si l'on expose à l'étuve des tubes fermés à la lampe et contenant cet alcaloïde oxydé, mélangé avec un excès de toxine tétanique, on peut voir le mélange devenir de nouveau toxique pour des souris qui succombent en quelques heures après avoir présenté

les symptômes de l'empoisonnement par l'adrénaline, comme si cet alcaloïde avait recouvré sa toxicité en se dépouillant sur la toxine d'une partie de l'oxygène qu'il avait absorbé.

Nous concluerons donc de l'exposé de ces faits intéressants en disant qu'ils font penser à des phénomènes d'oxydation qui auraient pour résultat, dans les réactions entre l'adrénaline et la toxine tétanique, d'enlever à celle-ci une grande partie de son énergie spécifique¹⁾.

Tableau IV.

Action de l'hémoglobine. Toxicité des mélanges adrénaline oxydée + toxine.

Mélanges injectés après une exposition de 20 heures à 37°	Jours					
	1	2	3	4	5	6
Souris 1. Tt. 0.01 c. c. + 0.50 c. c. Sol. d'hémoglobine	≡	†				
Souris 2. Tt. 0.01 c. c. + 0.10 c. c. Sol. adr. syn. 1 ^o / ₁₀₀	0	0	0	0	0	0
Souris 3. Tt. 0.01 c. c. + 0.10 c. c. Sol. adr. syn. 1 ^o / ₁₀₀ + 50 c. c. Sol. hémogl.	≡	†				
Souris 4. Sol. adr. oxydée 1 ^o / ₁₀₀ 1 c. c.	0	0	0	0	0	0
" 5. " " 1 ^o / ₁₀₀ 1 c. c. + 0.10 c. c. Tt.	† en 3 ^h					

II. Action de la glande surrénale sur la toxine tétanique (4).

Tandis que un centième de milligramme d'adrénaline est doué du pouvoir de neutraliser *in vitro* au moins cinquante doses de toxine tétanique, des quantités beaucoup plus considérables (0.03 gr.) de glandes surrénales desséchées dans le vide sont incapables de neutraliser même une seule dose de toxine. Et pourtant cette poudre contient toute l'adrénaline de la glande; l'injection aux animaux d'une quantité convenable de son émulsion provoque chez eux les accidents mortels de l'intoxication par son alcaloïde. Si, malgré cela, la glande totale se montre sans action sur la toxine, c'est qu'à côté de l'adrénaline elle renferme des corps qui n'empêchent pas son

1) La neutralisation de la toxine par l'adrénaline s'est faite aussi à 37° dans des tubes anaérobies de Pasteur où le vide avait été poussé très loin au moyen de la trompe à mercure, de même que dans d'autres tubes où l'on avait chassé l'air par de l'azote, avant de mélanger la toxine avec l'adrénaline.

pouvoir toxique mais s'opposent à ses propriétés neutralisantes.

Préparons dans l'eau physiologique une émulsion de la poudre de surrénale et filtrons-la à travers une bougie, elle va s'y oxyder et en sortir avec une teinte brunâtre; or il suffira d'ajouter une petite quantité de ce filtrat au mélange toxine-adréraline pour empêcher la toxine d'être neutralisée. On peut encore précipiter par l'alcool la glycérine où on a fait macérer pendant plusieurs jours des glandes surrénales broyées; en lavant à l'alcool puis à l'éther et en desséchant le précipité sous le vide sulfurique, on obtient une poudre qui émulsionnée dans l'eau jouit du pouvoir de s'opposer à l'action antitétanique d'un échantillon de suprarenine synthétique ou naturelle, mais ne parvient pas à empêcher la réaction de la toxine sur l'adrénaline, si le mélange de ces deux substances a été exposé d'abord quelques heures à l'étuve.

Tableau V.
Action de la glande surrénale complète.

Mélanges injectés après 20 heures à 37°	Jours						
	1	2	3	4	5	6	7
Souris 1. Filtrat de poudre de surrénale 2 c. c. + eau phys. 1 c. c.	0	0	0	0	0	0	0
Souris 2. Filtrat de poudre 2 c. c. + adr. syn. 1‰ 1 c. c.	† en 1 ^h						
Souris 3. Eau phys. 2 c. c. + adr. syn. 1‰ 1 c. c.	† en 45'						
Souris 4. Poudre surrénale 0.03 gr. + 0.0002 c. c. Tt.	=	=	≡	≡	†		
Souris 5. Tt. 0.01 c. c. + 0.05 c. c. adr. 1‰	0	0	0	0	0	0	0
Souris 6. Tt. 0.01 c. c. + 0.05 c. c. adr. 1‰ + 1 c. c. filtrat poudre surrénale	=	≡ †					
Souris 7. Tt. 0.01 c. c. + 0.01 c. c. adr. 1‰ + 1 c. c. filtrat d'extrait glycérolé de capsules surrénales	0	=	≡	†			

Ce fait que la toxine tétanique n'est plus neutralisée par l'adrénaline en présence d'autres substances contenues dans la glande surrénale est intéressant, mais il n'est pas spécifique: des extraits hépatiques, des filtrats de tissu cérébral, enfin des corps tels que la lécithine, possèdent un pouvoir

analogue, et il est possible qu'il soit dû à une substance comme la lécithine, si répandue dans les éléments cellulaires, des capsules ou bien à l'un de ses dérivés également très oxydable.

Maintenant que nous avons essayé de montrer le caractère chimique ou physico-chimique de la neutralisation de la toxine tétanique par l'adrénaline, étudions le côté physiologique de la question.

La toxine tétanique, dans ses mélanges avec l'alcaloïde, ne lui enlève pas son pouvoir toxique; au contraire, ainsi que nous l'avons vu, elle peut en s'oxydant aux dépens de l'adrénaline permettre à celle-ci de recouvrer la toxicité que l'oxydation lui avait fait perdre.

Donc, additionnée ou non de toxine tétanique, l'adrénaline fraîche tuera un animal aux mêmes doses, ou bien provoquera les mêmes réactions physiologiques, en particulier l'ischémie transitoire due à ses propriétés vaso-constrictives, tellement puissantes qu'il suffit d'une partie d'adrénaline dans 10 000 parties d'eau pour blanchir la conjonctive en une minute.

D'autre part, on sait que la tétanotoxine est adsorbée par les terminaisons nerveuses: Wassermann et Bruck (5) ont mis à profit ces deux propriétés, celle de l'adsorption nerveuse de la toxine, et celle de la vasoconstriction par l'adrénaline pour essayer de démontrer que l'antitoxine fixe seulement la toxine, mais ne la détruit pas. Les auteurs préparaient un mélange exactement neutre toxine-antitoxine tétaniques et, quelques minutes avant l'injection, ils déterminaient une vaso-constriction au moyen de l'adrénaline; alors ils inoculaient le mélange en question. Indifférent pour des cobayes témoins non préparés, il provoquait chez l'animal adrénaliné un tétanos typique et mortel: l'antitoxine ne pouvant être résorbée par suite de la contraction des capillaires, la toxine avait été adsorbée par les terminaisons nerveuses périphériques et delà transportée jusqu'aux centres. Une telle expérience, difficile à réaliser puisqu'elle nécessite un mélange toxine-antitoxine exactement neutre, ne réussissait qu'à la condition qu'il fût préparé récemment: déjà au bout de 2 heures, la

combinaison entre la toxine et son anticorps était devenue trop solide pour être défaire dans l'organisme.

D'une façon comparable se comportent nos mélanges toxine-adrénaline, et nous avons vu que le séjour à une température basse ne suffit pas pour permettre la réaction des deux substances, à laquelle il faut une exposition de plusieurs heures à 37°. Dans ce cas, la neutralisation de la tétanotoxine se trouve assurée d'une façon définitive et les éléments nerveux de l'organisme ne réagissent plus à son contact.

Mais, de même que des mélanges toxine-antitoxine tétaniques, neutres pour une espèce animale, ne le sont plus pour une autre, de même une préparation toxine-adrénaline inoffensive pour la souris ne l'est pas pour le cobaye.

Diluons dans 3 c.c. d'eau physiologique un mélange de 0.02 c.c. de toxine tétanique et de 0.20 c.c. d'adrénaline à 1‰; après 18 heures de séjour à 37°, la moitié est injectée sous la peau de la patte à un cobaye de 320 gr., et l'autre moitié à une souris de 16 gr.: le premier succombera à un tétanos typique 5 jours après l'inoculation, tandis que la souris n'aura pas manifesté le plus léger signe de tétanos local.

L'étude, chez le cobaye, de l'action des mélanges toxine-adrénaline présente une double difficulté en raison de la sensibilité très grande de cette espèce vis-à-vis de l'adrénaline, comme de la toxine tétanique. Un cobaye de 300 gr. succombe rapidement après une injection de 0.0008 gr. de l'alcaloïde dont une souris de 15 gr. supporte 0.0001 gr.; de plus, on n'ignore pas qu'il faut six à sept fois moins de toxine par gramme d'animal pour tuer un cobaye que pour tuer une souris. Il résulte de ces affinités différentes qu'un mélange toxine-adrénaline, neutre pour la souris, se montrera tétanigène pour le cobaye, son organisme modifiant la réaction produite, à moins qu'il ne succombe à l'intoxication adrénalinique, si la dose de l'alcaloïde a été augmentée. Dans ces conditions, on s'explique comment le cobaye tolère la neutralisation par l'adrénaline seulement de 5—6 doses de toxine, mortelles pour lui, soit d'une quantité 10 fois moindre que pour la souris, bien que les proportions réciproques de toxine et d'alcaloïde soient à peu près les mêmes.

Tableau VI.
Mélanges toxine tétanique — adrénaline chez le cobaye.

Mélanges injectés après 20 heures à 37°	Jours						
	1	2	3	4	5	6	7
1° Cobaye 45 (460 gr). 0.01 c. c. Tt. + 1 c. c. Eau phys.	—	≡	†				
2° Cobaye 44 (560 gr). 0.01 c. c. Tt. + 0.50 c. c. Adr. 1‰ + 0.50 c. c. Eau phys.	0	0	0	0	0	0	0
3° Cobaye 52 (390 gr). 0.05 c. c. Tt. + 0.50 c. c. Adr. 1‰ + 0.50 c. c. Eau phys.	0	0	0	0	0	0	0
4° Cobaye 47 (530 gr). 0.10 c. c. Tt. + 0.50 c. c. Adr. 1‰ + 0.50 c. c. Eau phys.	0	—	=	≡	≡	†	

III. Action de l'adrénaline sur la toxine diphtérique.

La toxine tétanique n'est pas la seule toxine bactérienne qui soit neutralisée par l'adrénaline, mais cet alcaloïde exerce de même sur la toxine diphtérique un action assez comparable.

En effet, en préparant et exposant à la température de 37° différents mélanges de toxine diphtérique et d'adrénaline en solution millésimale, nous avons constaté que cet alcaloïde pouvait neutraliser environ 5 à 6 doses de toxine mortelles pour le cobaye.

Tableau VII.
Neutralisation de la toxine diphtérique par l'adrénaline.

Mélanges injectés après 20 heures à 37°	Jours						
	1	2	3	4	5	6	7
1° Cobaye de 325 gr. 0.01 c. c. Tox. dipht. + 1 c. c. Eau phys.	0	†					
2° Cobaye de 435 gr. 0.06 c. c. Tox. dipht. + 0.50 c. c. Adr. 1‰ + 0.50 c. c. Eau phys.	0	0	0	0	0	0	0
3° Cobaye de 630 gr. 0.10 c. c. Tox. dipht. + 0.50 c. c. Adr. 1‰ + 0.50 c. c. Eau phys.	0	0	†				

Qu'il s'agisse de la toxine diphtérique ou de la toxine tétanique, l'action de l'adrénaline sur elles est toujours une action de contact et ne s'opère jamais à distance. On peut,

après une injection de l'alcaloïde, ou même d'un mélange neutre toxine-adrénaline, inoculer dans la même région une dose mortelle de la toxine pure, les animaux succomberont à l'intoxication spécifique et dans le même temps que les témoins.

Toutefois il se peut qu'une fois introduite dans l'organisme une toxine bactérienne exerce sur les glandes surrénales une action directe, ou indirecte par l'intermédiaire du système nerveux dont l'influence sur la fonction sécrétoire des capsules est un fait bien démontré.

En effet, si l'on se reporte aux recherches entreprises par Luksch (6) au laboratoire de Julius Pohl sur les troubles fonctionnels de ces organes dans les intoxications expérimentales, on voit que chez des animaux, des lapins, inoculés avec de la toxine diphtérique, on a pu noter d'une façon constante une diminution énorme du pouvoir hypertensif de leurs capsules, comme si ces glandes avaient épuisé toute leur réserve d'adrénaline. Pour qu'il en fut ainsi, l'intoxication devait être d'une durée assez longue: en pareil cas, et surtout chez les animaux présentant des accidents paralytiques, cet état de déchéance physiologique des surrénales put être bien établi, en dépit des résultats contradictoires en apparence de Ehrmann qui, opérant avec des doses trop fortes de toxine diphtérique, provoquait la mort des animaux dès la 30^{ième} heure.

Des observations analogues ont été faites chez des animaux infectés par un colibacille, des staphylocoques, le microbe de la tuberculose.

Récemment, R. Porak (7), étudiant l'activité fonctionnelle des glandes surrénales chez des lapins inoculés sous les méninges avec du virus rabique (virus fixe) a constaté qu'elle paraissait normale pendant les premiers jours de l'incubation, mais que vers la fin de la maladie cette activité fonctionnelle, estimée d'après l'action de l'adrénaline, se montrait extrêmement diminuée, sinon anéantie.

Si des observations analogues se trouvaient confirmées pour les toxi-infections, on serait conduit logiquement à rattacher les accidents d'asthénie cardiaque, si fréquents dans les maladies infectieuses, à une insuffisance de la fonction

adrénalinique et à l'affaiblissement consécutif du système vasculaire.

On n'ignore pas combien de tels accidents apparaissent fréquemment au cours des différentes manifestations de la diphtérie et nous rappellerons qu'on a souvent préconisé contre eux l'emploi de l'adrénaline qui, injectée très lentement dans les veines, pourrait, d'après von Fürth et Straub (8), relever pour longtemps la pression sanguine.

Zusammenfassung.

1) Natürliches oder synthetisches Adrenalin neutralisieren *in vitro* das Tetanustoxin.

2) Leicht oxydierende Substanzen stören die Neutralisation (Hämoglobin).

3) Die Nebennieren in verschiedener Form, sei es als emulsiertes Pulver oder als Glycerinextrakt, üben trotz der Anwesenheit des Alkaloids keine Wirkung auf das Tetanustoxin aus; außerdem stören diese Nebennierenauszüge die Neutralisation des Toxins durch das Adrenalin.

4) Das Alkaloid der Nebenniere neutralisiert auch das Diphtherietoxin.

5) Diese neutralisierenden Wirkungen werden nie *in vivo* beobachtet; sie verlangen eine Temperatur von 37° und einen dauernden Kontakt zwischen den beiden Substanzen.

Ouvrages cités.

- 1) Marie, A., C. R. Soc. Biol. T. 72, p. 864.
- 2) Tiffeneau, M., Thèse de Paris, 1910.
- 3) Siebert, Zeitschr. f. phys. Chemie, 1901.
- 4) Marie, A., C. R. Soc. Biol., T. 73, p. 39.
- 5) Wassermann, A., und Bruck, Deutsche med. Wochenschr., 1904, No. 21, p. 764.
- 6) Luksch, Wien. klin. Wochenschr., 1905, No. 18, p. 345.
- 7) Porak, R., C. R. Soc. Biol., T. 73, p. 601.
- 8) Straub, Münch. med. Wochenschr., 1911, p. 1388.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der k. Hochschule Florenz (Direktor: Prof. A. Lustig).]

Ueber einige biologische Eigenschaften der Milz bei experimenteller Naganainfektion.

Von

Priv.-Doz. Dr. **Pietro Rondoni** und Dr. **Guido Goretti**,
Assistenten.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Februar 1913.)

Da bei experimenteller Infektion der Laboratoriumstiere mit *Trypanosoma Brucei* die mehr oder weniger ausgesprochene Milzschwellung eine der häufigsten Erscheinungen bildet, und da andererseits die Ansichten über die Bedeutung der Milz für den Schutz des Organismus und für die Entstehung des Krankheitsbildes noch sehr geteilt sind, haben wir es als nicht unnützlich betrachtet, einige biologische Eigenschaften dieses Organes während der Infektion zu studieren. Und zwar haben wir erstens das Vorkommen von trypaniziden Stoffen und die Anhäufung von spezifischen Trypanosomenstoffen in der Milz untersucht und zweitens das Verhalten der hämolytischen Wirksamkeit der Milz selbst auf der Höhe der Infektion. Da unsere Ergebnisse ausführlicher in der italienischen Zeitschrift „*Lo Sperimentale*“ (Florenz) veröffentlicht werden sollen, werden wir uns hier nur mit einer zusammenfassenden Uebersicht begnügen.

I. Trypanizide Stoffe und Trypanosomenantigene in der Milz.

Die Frage, ob trypanolytische oder irgendwie trypanizide Stoffe in der Milz vorkommen, ist verschieden beantwortet worden. Nach Bradford und Plimmer, Sauerbeck, Rodet und Vallet, Yakimoff sollte die Milz sowohl *in vivo* wie *in vitro* trypanizid wirken; während Laveran und Thiroux und Massaglia eine trypanizide Wirksamkeit der Milz ausschließen. Jaffé, der eine der besten Arbeiten auf diesem Gebiete (unter Schillings Leitung) ausgeführt hat, findet eine ausgesprochene trypanizide Wirkung bei der Milz von künstlich immunisierten Ratten (infiziert, dann mit Arsenophenylglyzin geheilt, und in der Weise immun geworden); er hat aber nicht untersucht, ob die Milz der Tiere,

die einfach infiziert worden sind, also von jedem Immunisierungsverfahren unabhängig, trypanolytisch zu wirken imstande ist, d. h. ob die Milz bei der natürlichen Verteidigung des Organismus eine Rolle spielt; er hat nur in eingehender Weise die trypanolytische Wirkung von Autolysaten und Trockenextrakten von Organen der normalen Tiere untersucht und gefunden, daß diese Wirkung mit der hämolytischen Wirkung derselben Autolysate und Organextrakte in Parallele zu setzen sei. — Lanfranchi mißt in mehreren Arbeiten der trypanosomenabtötenden bzw. -abschwächenden Wirkung der Milz eine große Bedeutung bei. Das Nagana-virus sollte in der Milz so abgeschwächt werden, daß die Hunde durch intrasplenische Impfung von Naganavirus sogar immunisiert werden könnten.

Mutermilch hat besonders die Frage studiert, ob während der Infektion trypanizide Stoffe in der Milz mehr als in anderen Organen und im Blute vorkommen; er nimmt an, daß die Antikörper, die beim Meerschweinchen die charakteristischen Krisen (Schwund der Trypanosomen aus dem peripheren Blut) hervorrufen, in der Milz gebildet werden, daß aber die Antikörperbildung plötzlich einsetzt und die Antikörper rasch in die Blutbahn ausgestoßen werden, so daß der Nachweis eines hohen Antikörpergehaltes in der Milz schwer gelingt.

Schon aus diesem Auseinandergehen der Meinungen der Verfasser, die die Frage behandelt haben, glauben wir entnehmen zu dürfen, daß der Nachweis von trypaniziden Stoffen in der Milz nicht leicht sein muß; trotzdem haben wir ihn in einigen Fällen deutlich führen können.

Es seien einfach einige Versuchsprotokolle angeführt. Zuerst haben wir mit Meerschweinchenmilzen gearbeitet, und aus solchen mit physiologischer Kochsalzlösung einfache Extrakte hergestellt, die man *in vitro* auf Trypanosomen einwirken ließ, um dann die Abschwächung der Trypanosomen durch Mäuseimpfung nachzuweisen. Es wurden 6 Milzen von mit Nagana infizierten Meerschweinchen und 2 von normalen Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten verarbeitet. Die normalen Milzen gaben stets negative Resultate, die Extrakte auf Milzen der infizierten Tiere (zu verschiedenen Infektionsperioden) waren manchmal mit geringem trypaniziden Vermögen versehen; aber in folgendem Versuche war das Ergebnis sehr deutlich positiv.

22. XI. 1912. Ein Nagana-infiziertes Meerschweinchen (10. Infektionstag) wird entblutet; Blut, ungefähr 15—20 Trypanosomen im Gesichtsfeld enthaltend, mit Citratbouillon gemischt (die Aufschwemmung enthält 4—5 Trypanosomen im Gesichtsfeld). Die Milz ist steril entnommen; Gewicht 1,8 g; sie wird mit 5,4 ccm physiol. Kochsalzlösung zerrieben

(unter Zusatz von Glaspulver); der Milzbrei bleibt 15 Minuten bei Zimmertemperatur; dann wird dekantiert, um die groben Gewebepartikel zu beseitigen. Dieser Extrakt (Menge ungefähr 5 ccm) wird mit 5 ccm der trypanosomenhaltigen Blutaufschwemmung gemischt: Gemisch A.

Andererseits werden 5 ccm derselben Blutaufschwemmung mit 5 ccm Kochsalzlösung (anstatt des Malzextraktes) gemischt: Gemisch B.

Die zwei Gemische werden auf Eis aufbewahrt; von Zeit zu Zeit Impfung auf Mäuse (0,5 ccm pro Maus intraperitoneal).

Die Mäuse werden jeden der folgenden Tage untersucht; folgende Tabelle zeigt den Verlauf der Infektion der Mäuse, die mit Gemisch A (Trypanosomen + Milz) und mit Gemisch B (Trypanosomen + NaCl-Lösung) injiziert worden sind.

Hier, wie bei anderen Versuchen, bedeutet 0, daß das Blut trypanosomenfrei ist, + spärliche Trypanosomen im Blut, ++ viele Trypanosomen im Blut, +++ äußerst starke Infektion (Blut von Trypanosomen wimmelnd). † bedeutet Tod des Tieres.

Tabelle I.

Mäuse injiziert nach	Tage	23. XI.	24. XI.	25. XI.	26. XI.	27. XI.	28. XI.	29. XI.
1½ Std.	mit Gem. A	0	+	+	++	+++	†	
	mit Gem. B	+	++	+++	†			
5 Std.	mit Gem. A	0	+	++	++	++	+++	†
	mit Gem. B	+	++	+++	†			
9 Std.	mit Gem. A	+	+	+	++	++	+++	†
	mit Gem. B	+	++	+++	†			

Aus diesem Versuche ist also deutlich zu sehen, daß der Kochsalzextrakt aus der Milz eine deutliche Abschwächung der Virulenz der Trypanosomen, schon nach 1½ Stunden, bewirkt hat.

Bei Ratten, bei denen die Naganainfektion rascher verläuft, ohne Remissionen oder Krisen, haben wir nie so deutliche Resultate erhalten können; wir können aber annehmen, daß auch mit Rattenmilzen ebenfalls eine gewisse, obwohl leichte, trypanizide Wirkung zu erreichen ist. Folgender Versuch mag als Beweis dafür dienen, daß vielleicht auch bei Ratten auf der Höhe der Infektion eine gewisse Wirksamkeit der Milzextrakte nachzuweisen ist.

11. XII. 1912. Zwei stark infizierte Ratten getötet (durch Entblutung); Milz steril entnommen; die zwei Milzen wiegen zusammen 1,7 g. Sie werden mit 8,5 ccm Kochsalzlösung zerrieben. Nach ½-stündigem Verweilen in Zimmertemperatur wird die Emulsion dekantiert: der Extrakt aus der Milz der infizierten Ratten ist fertig.

Gleichzeitig ist eine normale Ratte getötet und ihre Milz, die 0,5 g wiegt, mit 2,5 ccm zerrieben worden usw.: auch der Extrakt aus normaler Milz ist fertig.

Dann werden folgende Gemische hergestellt:

- A 1,5 ccm Extrakt aus der infizierten Milz + 1,5 ccm einer Aufschwemmung vom Blut einer infizierten Maus mit Citratbouillon, die ungefähr 10 Trypanosomen im Gesichtsfeld enthält.
- B 1,5 ccm Extrakt aus normaler Milz + 1,5 ccm derselben Mausblutaufschwemmung.
- C 1,5 ccm physiol. Kochsalzlösung + 1,5 ccm derselben Mausblutaufschwemmung.

Ueber Nacht auf Eis. Am nächsten Morgen Impfung auf Mäuse (0,5 pro Maus intraper.). Tabelle II zeigt den Verlauf der Infektion der Mäuse.

Tabelle II.

Mäuse injiziert mit	Tage	13. XII.	14. XII.	15. XII.	16. XII.	17. XII.	18. XII.	19. XII.	20. XII.
Gemisch A {	Maus 1	0	+	+	++	+++	+		
	Maus 2	0	0	+	+	+	++	+++	+
	Maus 3	0	+	+	+++	+			
Gemisch B {	Maus 1	0	+	++	+++	+			
	Maus 2	0	0	++	+++	+			
Gemisch C {	Maus 1	0	+	++	+++	+			
	Maus 2	0	+	+	++	++	+++	+	

Der Unterschied ist etwas deutlicher, wenn wir Reihe A mit Reihe B vergleichen, d. h. die Wirkung der Extrakte aus den infizierten Ratten mit denjenigen aus den normalen Tieren: am 15. Dezember, dem dritten Tage seit der Infektion, ist der Unterschied zwischen den 2 Mäusen B und den 3 Mäusen A besonders deutlich. In der Reihe C scheint die Kochsalzlösung an und für sich etwas die Trypanosomen geschädigt zu haben; obwohl die auffallende Resistenz einer Maus auch auf individuellen Eigenschaften beruhen könnte.

Auch bei Ratten kann es also wohl gelingen, den Nachweis einer gewissen leichten trypanoziden Wirkung der Milz während der Infektion zu führen, und solche Wirkung darf nicht auf das Serum, das noch in den Milzextrakten enthalten ist, zurückgeführt werden, weil wir bei unseren Versuchen nie eine trypanozide Wirkung des Serums der Ratten während der Infektion nachweisen konnten. Es scheint sogar, daß das Serum der normalen und der infizierten Tiere dieselbe lebens-

verlängernde Wirkung auf Trypanosomen hat, die Schern, Mesnil und Brimont im Serum selbst und in der Leber gefunden haben.

Eine andere Frage, die wir zu entscheiden suchten, war folgende: Sind in der Milz während der Infektion Trypanosomenantigene aufgespeichert, d. h. ist eine immunisierende Wirkung der Milz nachzuweisen, die mehr oder weniger die immunisierende Wirkung anderer Organe und des Blutes selbst übertrifft? Wenn in der Milz der Ort des Zugrundegehens der Parasiten (M. Meyer) ist, dürfte die Vermutung wohl berechtigt sein, daß in diesem Organe viele Leibesstoffe der Trypanosomen angehäuft sind: geht nun die Zerstörung der Trypanosomen so weit, daß diese spezifischen Stoffe ihren Antigencharakter verlieren oder bleiben die spezifischen antigenen Eigenschaften erhalten, so daß in der Milz, mehr als in anderen Organen, Immunantigene im Sinne Schillings vorhanden sind? Wenn letztere Annahme richtig ist, sollte der Milzbrei imstande sein, mehr als ein Extrakt aus anderen Geweben und mehr als Blut selbst (wo die Trypanosomen nicht so massenhaft zugrunde gehen), Immunität auszulösen.

Nun haben unsere Versuche immer zu negativen Ergebnissen geführt: Milzbrei, der $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde bei 45° erhitzt wurde, um die eventuell vorhandenen Trypanosomen abzutöten (es wurden immer stark infizierte Ratten benutzt), konnte gar nicht Mäuse immunisieren, auch nicht eine Verlängerung der Inkubationsperiode hervorrufen. Es wurde auch eine andere Methode benutzt, um steriles Milzgewebe aus infizierten Ratten zu gewinnen — das Organ wurde steril entnommen, über Nacht bei 37° aufbewahrt (dann sterben die Parasiten sicherlich), am nächsten Tage mit weniger Kochsalzlösung zerrieben und der Saft zur Impfung angewandt: bei der nachträglichen Infektion erwiesen sich die Mäuse nicht als immun.

Es sei nebenbei bemerkt, daß wir in einem Kontrollversuche mit bei 45° erhitztem Leberbrei eine ziemlich ausgesprochene immunisierende Wirkung dieses Organs (die diejenige des Blutes selbst übertraf) gefunden haben (beträchtliche Verlängerung der Inkubationsperiode). Wir können also zu dem Schlusse kommen, daß die Milz eine gewisse trypanozide Wirksamkeit manchmal besitzen kann, obwohl der genaue

Nachweis nicht immer gelingt; daß andererseits eine Anhäufung von Immunantigenen in ihr nicht anzunehmen ist, daß also die Trypanosomenstoffe beim Zugrundegehen der Parasiten so denaturiert werden, daß sie nicht mehr imstande sind, als Antigene zu wirken.

II. Hämolytische Eigenschaften der Milz während der Naganainfektion.

Wir wollen hier nicht die zahlreichen Arbeiten über die hämolytische Wirkung der Organextrakte resumieren. Es sei nur darauf hingewiesen, daß auch die neuesten Forschungen die Ergebnisse der klassischen Arbeit von Korschun und Morgenroth bestätigen, daß die hämolytische Wirksamkeit der Organextrakte auf den Gehalt an Lipoiden (Toxolecithiden nach Friedemann, Seifen nach Schäfer) zurückzuführen ist, daß sie also nichts mit den komplexen Serumhämolysinen zu tun hat.

Nur für einige Organe wird von manchen Forschern eine besondere Art der hämolytischen Wirkung angenommen, so z. B. für die Bauchspeicheldrüse und die Milz: hier sollten besondere Hämolysine auch *intra vitam* von Bedeutung sein.

Was die Milz anbetrifft, weiß man schon lange, daß dieses Organ eine zerstörende Wirkung auf rote Blutkörperchen schon physiologisch ausübt. Man weiß aber nicht bestimmt, ob phagocytäre Eigenschaften der Milzzellen allein eine Rolle dabei spielen oder ob auch besondere eigenartige Milzhämolysine existieren, die normalerweise auf die eigenen Blutkörperchen (autohämolytisch) einzuwirken vermögen. Diese Frage ist in den letzten Jahren besonders von französischen Verfassern eingehend behandelt worden und die Ansichten sind noch sehr geteilt. Um nur wenige Forscher zu erwähnen, wollen wir auf die Arbeiten von Gilbert, Chabrol und Bénard hinweisen, die eine hämolytische Wirkung des Hundemilzextraktes auf die roten Blutkörperchen desselben Individuums annehmen zu dürfen glauben. Diesen Forschern entgegen haben Achard, Foix und Salin behauptet, daß frische Milzextrakte nicht autohämolytisch wirken, daß solche nur dann lösende Eigenschaften für rote Blutkörperchen erwerben, wenn sie in nicht sterilem Zustande 2—3 Tage lang aufbewahrt werden. Diese spät erscheinende hämolytische Fähigkeit wäre wohl auf Bakterien zurückzuführen.

Auch Widal, Abrami und Brulé kommen zu ähnlichen Schlüssen: frische Hundemilzextrakte sind nicht hämolytisch für frische Blutkörperchen desselben Hundes. Eine hämolytische Wirkung, wenn sie überhaupt vorkommt, setzt sehr spät ein, als Folge von autolytischen Zersetzungs Vorgängen, die im Milzbrei stattfinden, und solche hämolytische Wirkung hätte deshalb keine besondere intravitale Bedeutung. Auch Kindborg und Cain haben keine auto- bzw. isolytische Fähigkeit von exstirpierten menschlichen Milzen nachweisen können.

Trotz einer nicht unbeträchtlichen Verwirrung, die auf diesem Gebiete herrscht, dürfen wir aber im großen und ganzen annehmen, daß die normale Milz eine deutliche hämolytische Fähigkeit nicht oder nur in geringem Grade besitzt; daß aber der Nachweis von Milzhämolysinen leichter gelingt, wenn die Milz von unter der Einwirkung einiger hämolytischer Gifte stehenden Tieren untersucht wird (Gilbert und Mitarbeiter, Wolf usw.), und daß auch klinische Bilder in der menschlichen Pathologie bekannt sind, die auf einer gesteigerten hämolytischen Funktion der Milz beruhen (Banti). Auch die Hämoglobinurie bei Affenmalaria sollte nach den schönen Untersuchungen von Gonder und Rodenwaldt mit der Milz in Zusammenhang stehen.

Es erschien uns wichtig, bei Naganainfektion die hämolytische Wirksamkeit der Milzextrakte zu erforschen, um so mehr, als, wie bekannt, schwere anämische Zustände bei Trypanosomenkrankheiten vorkommen können und die Rolle der Milzfunktion dabei unbekannt ist.

Wir haben die Milzen von 29 (meist stark) infizierten Ratten und von 3 infizierten Meerschweinchen und von 25 normalen Ratten und 2 normalen Meerschweinchen benutzt. Es war natürlich für uns von Bedeutung, einen Vergleich zwischen normalen und trypanosomierten Milzen zu machen; wir haben deshalb am selben Tage immer 1—2 normale und 1—2 infizierte Milzen verarbeitet, so daß Unterschiede in der Resistenz der zum Versuche verwandten Blutaufschwemmung (5-proz. gewaschenes Ratten- und Meerschweinchenblut), die von Tag zu Tag verschieden war, auszuschließen sind.

Wir haben Milzen von infizierten Tieren auf Blutkörperchen desselben Individuums, auf Blutkörperchen eines anderen (infizierten oder normalen) Individuums derselben Art und auf heterologe Blutkörperchen einwirken lassen und auch Milzen von normalen Tieren in derselben Weise untersucht, so daß alle möglichen Kombinationen beobachtet worden sind.

Die wässerigen Extrakte wurden in der gewöhnlichen Weise hergestellt: die Milzen waren mit der 4—10-fachen Gewichtsmenge Kochsalzlösung zerrieben (selbstverständlich für jede Milzengruppe dieselbe Verdünnung, und in jeder Gruppe war wenigstens eine normale Milz vorhanden); der Brei wurde

nach kurzer Zeit dekantiert und der dekantierte Extrakt entweder sofort oder nach höchstens 24 Stunden verwandt.

Aus 6 infizierten Milzen und aus 5 normalen sind alkoholische Extrakte hergestellt worden: jede Milz wurde mit der 2-fachen Gewichtsmenge Kochsalzlösung zerrieben, dann mit der 20-fachen Menge Alkohol (absol. oder 90°) versetzt; nach einem 7—8-stündigen Verweilen bei Zimmertemperatur war der Extrakt durch Papier abfiltriert, die filtrierte Flüssigkeit bei 37° abgetrocknet, der Rückstand in Kochsalzlösung vollständig aufgenommen, und zwar in eine Menge Kochsalzlösung, die dem 10-fachen Gewicht der Milz entsprach. Die alkoholischen Extrakte aus infizierten Milzen waren meistens trüber als diejenigen aus normalen Milzen: man konnte öfters deutlich sehen, daß die alkohollöslichen Stoffe in den infizierten Milzen in größerer Menge als in den normalen vorhanden zu sein pflegen.

Die Ergebnisse lassen sich kurz zusammenfassen: die wässerigen Extrakte aus den Milzen der naganainfizierten Tiere waren fast immer mehr hämolytisch wirksam als diejenigen aus den normalen Milzen. Die Naganamilzextrakte wirkten in der Mehrzahl der Fälle gleich stark auf die eigenen Blutkörperchen (autohämolytisch) wie auf die Blutkörperchen anderer Tiere derselben oder anderer Art (iso- und heterohämolytisch). Die Kontrollen mit normalen Milzen ergaben stets entweder eine ganz schwache oder keine hämolytische Wirksamkeit, so daß wir für die Milz von Ratten und Meerschweinchen uns mehr an die Meinung von Widal, Abrami und Brulé anschließen als an die von Gilbert, Chabrol und Bénard, d. h. ein normales Milzhämolysin bis jetzt als unbewiesen erachten.

Aber daß die wässerigen Extrakte aus den Milzen der naganakranken Meerschweinchen und Ratten eine ausgesprochene hämolytische Wirksamkeit besitzen, das steht für uns außer jedem Zweifel. Manchmal waren schon Dosen von 0,5—0,25 eines 1:10-Extraktes stark hämolytisch (Testdosis der Blutaufschwemmung 0,5 einer 5-proz. Aufschwemmung). Die Haupteigenschaften dieses Hämolysins (wir sagen jetzt so, ohne auf dessen Bedeutung und Wesen vorgreifend eingehen zu wollen) sind folgende:

1) Die hämolytische Fähigkeit der wässerigen Extrakte ist durch Erhitzen bis 56° mehr oder weniger abgeschwächt, nie vollständig aufgehoben.

2) Die Säuren (HCl) und Alkalien (NaOH) in an und für sich nicht lösenden Dosen haben keinen deutlichen Einfluß auf die Hämolyse.

3) Das normale Rattenserum hat einen deutlichen, obwohl nicht ausgesprochen hemmenden Einfluß.

4) Die Wirksamkeit der Extrakte nimmt mit dem Alter etwas zu; wir haben nie Extrakte gebraucht, die mehr als 24 Stunden alt waren.

5) Die Hämolyse geht langsam vor sich; manchmal ist sie nach 2 Stunden Aufenthalt der Röhrchen bei 37° nicht sehr deutlich und wird stark nach der Nacht auf Eis.

Was nun die alkoholischen Extrakte anbetrifft, haben wir gefunden, daß von den 6 Milzen, die aus infizierten Tieren stammten, 5 stark hämolytisch wirkende Extrakte geliefert haben; von den 5 normalen Milzen war nur eine ebenfalls hämolytisch. Es scheint also, daß es mit Alkohol leichter und öfter gelingt, aus den Milzen der naganakranken Tiere hämolytische Stoffe zu extrahieren, als es bei normalen Milzen der Fall ist. Es hat uns sogar geschienen, daß die Menge der hämolytischen alkohollöslichen Stoffe mit der Schwere der Infektion in Zusammenhang steht. Man darf also behaupten, daß die Stoffe, die in den wässerigen Extrakten wirksam sind, auch in die alkoholischen gewöhnlich übergehen; daß also das Hämolsin der infizierten Milzen einen alkohollöslichen Stoff oder wahrscheinlicher ein Gemisch von Stoffen darstellt, von denen viele größtenteils alkohollöslich sind.

Wir glauben, daß wir es in den Milzen der Naganatiere mit lipoidalen Stoffen zu tun haben: die Charaktere der Hämolyse sind größtenteils diejenigen der Lipoidhämolyse, die Alkohollöslichkeit der hämolytischen Stoffe und die Hemmung durch Serum sprechen gleichfalls dafür. Daß die Säuren und Alkalien die Hämolyse nicht beeinflussen, wie es gewöhnlich bei der Lipoidhämolyse der Fall ist, das soll uns nicht befremden: denn die kleinen Mengen von HCl und NaOH, die zugesetzt werden müssen (um die eigene hämolytische Wirkung der Säure und des Alkalis zu vermeiden), von den vielen

Proteinen und Proteiden der stark eiweißhaltigen wässerigen Extrakte gebunden werden und können so auf die wirksamen hämolytischen Substanzen keinen Einfluß ausüben.

Das Verhalten der Wärme gegenüber spricht auch für eine Lipoidhämolysen: die hämolytische Wirkung der reinen Lipoiden ist zwar ganz koktostabil (und koktostabil war wirklich die hämolytische Wirkung unserer alkoholischen Extrakte), aber man weiß, und H. Sachs hat nachdrücklich darauf hingewiesen, daß die Wirkung der Lipoiden, die mit Eiweißstoffen gemischt bzw. gebunden sind, auch thermolabil sein kann: und die Liebermannsche Theorie der Seifennatur der Komplemente beruht auch eben auf dieser Tatsache. In unserem Falle glauben wir annehmen zu dürfen, daß das nicht gleichmäßige Verhalten der Naganamilzextrakte der Erhitzung gegenüber ein Ausdruck der verschiedenen Festigkeit der Bindung der aktiven Lipoiden an die Eiweißbestandteile der Extrakte sein kann. Wir wollen auch erwähnen, daß aus histologischen Untersuchungen, die noch im Gange sind, ein erhöhter Gehalt der Milz an Fettsubstanzen während der Infektion hervorzugehen scheint und daß mit dem Polarisationsmikroskop eine Zunahme der doppeltbrechenden Körper oft in solchen Milzen nachzuweisen ist. Solche Befunde, die wir später zu erweitern und bestätigen beabsichtigen, sprechen durchaus für eine Anhäufung von Lipoiden in der Naganamilz, die sich sehr gut mit der ausgesprochenen hämolytischen Fähigkeit in Einklang bringen läßt.

Wir glauben nicht, daß der größte Teil dieser hämolytischen lipoidalen Stoffe von den Trypanosomenleibern stamme; von Landsteiner und Raubitschek ist zwar eine leichte hämolytische Wirkung der Trypanosomen nachgewiesen worden, und wir selbst konnten in einigen durch eine besondere Methode hergestellten Extrakten eine leichte hämolytische Fähigkeit in Erscheinung treten sehen; aber die Wirkung vieler Milzen war zu stark, um sie nur auf die Trypanosomen zurückführen zu können. Wir glauben eher, daß die Lipoiden als Ausdruck der komplizierten Zersetzungs- und Reaktionsvorgänge und der tiefen Störungen des Stoffwechsels vorkommen, die sicherlich auf der Höhe der Infektion in diesem Organe vor sich gehen.

Die intravitale Bedeutung dieser hämolytischen Wirksamkeit wird nicht groß sein; es ist übrigens zu bezweifeln, nach den Untersuchungen von Löwenstein, ob wirklich bei der akuten Infektion der kleinen Laboratoriumstiere wahre anämische Zustände vorkommen; und jedenfalls wären solche mit einer hämolytischen Wirkung von in der Milz aufgespeicherten Lipoiden schwer in Zusammenhang zu bringen, da man weiß, daß die Lipoidhämolyse durch das Serum und durch viele Eiweißstoffe gehemmt wird, so daß hier die Milzhämolyse mehr als ein *in vitro*-Phänomen zu betrachten ist, welches auf tiefe Veränderungen im Stoffwechsel der Gewebe während der Infektion hindeutet.

Zusammenfassung.

1) Die Milz der mit Nagana infizierten Meerschweinchen und Ratten kann eine nachweisbare trypanolytische Fähigkeit besitzen; eine deutliche Anhäufung von aus den Trypanosomen stammenden Immunantigenen ist in der Milz nicht nachzuweisen.

2) Die Milz derselben Tiere auf der Höhe der Infektion hat *in vitro* eine ausgesprochene hämolytische Wirksamkeit (auto-, iso- und heterolytisch), die auf einen vermehrten Gehalt an Lipoiden zurückzuführen ist; diese Milzhämolyse hat wahrscheinlich keine oder kaum eine intravitale Bedeutung.

Literatur.

- Achard, Foix et Salin, Compt. rend. de la Soc. de Biol., 9 mars 1912.
Banti, Sperimentale, Jahrg. 65, 1911, Heft 1, p. 112.
Friedemann, Arch. f. Hyg., Bd. 69, 1909, p. 109.
Gilbert, Chabrol et Bénard, Zahlreiche Mitteilungen in den Compt. rend. de la Soc. de Biol., 1911—12.
Gonder und Rodenwaldt, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 54, 1910, Heft 3.
Jaffé, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 55, 1910, Heft 6.
Kindberg et Cain, Compt. rend. de la Soc. de Biol., juin 1912.
Korschun und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 37.
Landsteiner und Raubitschek, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 45, 1908, Heft 7.
Lanfranchi, Moderno Zooiatro, parte scient., 1910, No. 5.
— Recueil d. Méd. vétérinaire, 15 mars 1912.
— Clinica veterinaria, 1911—1912.
Laveran et Thiroux, Annales de l'Inst. Pasteur, T. 21, 1907.

Hidaka, Beziehungen zw. Syphilis- und Recurrens-Immunität. 443

Liebermann, Arch. f. Hyg., Bd. 62, 1907.

Löwenstein, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, Bd. 63, 1909, Heft 3.

Massaglia, Atti delle Società med-chir. di Modena, 12 febr. 1909.

— Compt. rend. de l'Acad. des Sciences, T. 149, p. 516.

Mesnil et Brimont, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 65, 1908, p. 77.

Meyer, M., Trypanosomen als Krankheitserreger, in Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, 2. Aufl.

Mutermilch, Annales de l'Inst. Pasteur, T. 25, 1911.

Nolf, Compt. rend. de la Soc. de Biol., 8 avril 1911, 27 février 1912.

Rodet et Vallet, Compt. rend. de l'Accad. des Sciences, 22 juillet 1907.

Sachs, H., Wien. klin. Wochenschr., 1908, No. 10.

Schäfer, Biochem. Zeitschr., Bd. 53, 1911, p. 455.

Schern, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte, Bd. 38, 1911, Heft 3.

Schilling, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Beil. zu Bd. 54, 1912.

Widal, Abrami et Brulé, Compt. rend. de la Soc. de Biologie, 4 mai 1912.

Nachdruck verboten.

[Aus der Königlichen dermatologischen Universitätsklinik zu Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Neisser).]

Zur Frage der Beziehungen zwischen Syphilis- und Recurrens-Immunität.

Von Dr. S. Hidaka (Japan).

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Februar 1913.)

Zu den wertvollsten Errungenschaften, die wir der modernen Syphilisforschung verdanken, gehört ohne Zweifel auch die Klärung der Frage der Immunität bei der Lues. Nach allen den Schwankungen und Irrtümern, denen dieses Problem so lange Zeit hindurch unterworfen war, stehen wir heute auf dem hauptsächlich durch die experimentellen Arbeiten Neissers und seiner Schüler klar und einwandfrei begründeten Standpunkt, daß es eine echte Immunität bei der Syphilis nicht gibt, daß man vielmehr nur von einer sogenannten „Anergie“ sprechen kann, d. h. von einem Refraktärsein gegen neue spezifische Impfungen, solange der Körper noch Syphilisgift beherbergt. Da also dieser Zustand der Anergie zugleich mit

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XVII.

30

der Krankheit schwindet, so kann es nach völliger Ausheilung der Syphilis zu einer echten Reinfektion kommen.

Neisser erklärt das Zustandekommen der Anergie so, daß von den im Organismus sich aufhaltenden Parasiten eine dauernde Schutzwirkung ausgeht, entweder durch Beeinflussung der Gewebe und Zellen, so daß diese auf die Spirochäten schwer oder gar nicht reagieren, oder durch Vermittlung des Serums. Dieses wirke entweder direkt spirochätenabtötend oder entfalte seine antiparasitären Eigenschaften dadurch, daß es (durch Opsonine oder Neufelds bakteriotrope Substanzen) die Phagocytose begünstige. Was nun die Anergie speziell bei der Syphilis betrifft, so scheint sie nach Neisser nur eine relative zu sein, insofern als noch während des Bestehens der Krankheit, hauptsächlich in ihrem späteren tertiären Stadium, Superinfektionen möglich sind.

Bei dem Bestreben, uns von dem Begriff der „Anergie“ möglichste Klarheit zu verschaffen und ihn auf sichere wissenschaftliche Basis zu stellen, mußte auch die Frage nach der Spezifität dieses Zustandes laut werden, d. h. es mußte sich die Forderung ergeben, festzustellen, ob sich diese Anergie nur gegen den spezifischen Erreger richte, oder ob während ihres Bestehens auch ein Refraktärsein des Organismus gegen andersartige, vielleicht dem Syphiliserreger nahe verwandte Giftstoffe zu konstatieren sei.

Von Neisser selbst zusammen mit Baermann und Halberstädter sind in dieser Richtung Versuche angestellt worden, und zwar bezogen sich diese auf die wechselseitigen Immunitätsverhältnisse bei Lues und der der Syphilis weitaus am nächsten stehenden Infektionskrankheit, der Frambösie. Uebereinstimmend mit schon vorher von Charlois angestellten Beobachtungen fanden Neisser, Baermann und Halberstädter, daß mit Lues infiziert gewesene Tiere für Frambösie wohl empfänglich sind, und umgekehrt. Demgegenüber waren Levaditi und Nattan-Larier nicht imstande, syphilitischen Affen Frambösie einzupfropfen und halten die Versuche der anderen Autoren nicht für voll beweisend; sie geben aber zu, daß Tiere, die Frambösie überstanden haben, für Syphilis noch empfänglich sind.

Während diese Untersuchungen ursprünglich nur den Beweis zum Ziele hatten, daß es sich bei der Lues und der Frambösie, diesen klinisch so überaus ähnlichen Erkrankungen, um zwei artverschiedene Affektionen handele, wurden von mir weiterhin Versuche angestellt, die lediglich zur Entscheidung der vorhin erwähnten Frage nach der Spezifität der Anergie bei Syphilis beitragen sollten. Ich wählte zu diesem Zwecke

gleichfalls einen der Syphilispirochäte vielleicht nahestehenden Mikroorganismus, die Spirochaete Duttoni, den Erreger der afrikanischen Recurrens, eine Erkrankung, deren Uebertragung auf das Tier, speziell auf den Affen, sehr leicht gelingt, wie Breinl, Kinghorn und Todd und nach ihnen Mathis und Leger gezeigt haben.

Was die Immunität bei Recurrens nach dem Ueberstehen der Infektion betrifft, so konnten Breinl, Kinghorn und Todd bei Versuchen an Affen und Ratten eine — allerdings nur relative — aktive Immunität nachweisen, die bei Affen über 4, bei Ratten 7 $\frac{1}{2}$ Monate dauerte, während nach Mantoufel die Immunitätsdauer bei Ratten nur 4, beim Menschen bis 4 $\frac{1}{2}$ Monate beträgt.

Es liegen also beim Rückfallfieber die Immunitätsverhältnisse wesentlich anders als bei der Lues. Durch das Eindringen der Spirochaeta Duttoni in den tierischen Organismus wird nicht nur eine „Anergie“, sondern es werden echte, den Krankheitszustand relativ lange überdauernde Immunitätsvorgänge erzeugt, welche nach der Ansicht von Metschnikoff und Soudakewitsch durch phagocytäre Prozesse zustande kommen, während Gabritschewsky durch seine Versuche nachgewiesen hat, daß sich im Laufe der Infektion gegen die Spirochaeta Duttoni echte bakterizide Substanzen bilden.

Gerade wegen dieser Verschiedenheit in den Immunitätsverhältnissen schien es mir der Mühe wert, bei meinen Untersuchungen das Rückfallfieber zum Vergleich mit der Lues heranzuziehen und die Frage zu entscheiden, ob die durch Recurrens erzeugte echte Immunitätsreaktion auch gleichzeitig gegen Syphilis sich richte.

Meine Versuche wurden daher in der Weise angestellt, daß ich einen frisch mit Syphilis infizierten Affen mit Recurrensmaterial, und umgekehrt einen frisch mit Recurrens infizierten Affen mit Syphilismaterial impfte.

Das Syphilistier, ein Pavian, war vorher schon einmal mit Lues infiziert und dann mit Salvarsan behandelt und geheilt worden. Daß die Heilung eine vollkommene war, bewies die erfolgreiche Reinokulation, die am 31. Mai 1911 mit

Menschensyphilismaterial vorgenommen wurde. Am 27. Juni zeigte das Tier wieder typische Primäraffekte, nämlich entzündliche, schuppige Infiltrationen an den Augenbrauen, in denen sich allerdings *Sp. pallidae* nicht nachweisen ließen. Am 28. Juli erfolgte bei noch vorhandenem Primäraffekt eine subkutane Einspritzung von Recurrensspirochäten-haltigem Mäuseblut. Am 3. Tage nach der Infektion trat hohes Fieber auf, welches aber nur einen Tag anhielt. Nachdem ich 9 Tage lang das Blut untersucht hatte, ohne Recurrens-Spirochäten zu finden, impfte ich am 10. Tage eine Maus mit 0,5 des Affenblutes. Diese Impfung ergab nach 7-tägiger erfolgloser Untersuchung am 8. Tage das Vorhandensein von typischen *Sp. Duttoni*.

Der Recurrensaffe, gleichfalls ein Pavian, der zunächst als Kontrolltier für den Syphilisaffen diente, zeigte genau wie dieser nach der ersten Impfung mit Recurrens-Mäuseblut Fieber und positiven Spirochätenbefund im Blute. Um eine starke Immunität zu erzeugen, machte ich dann 40 Tage nach der ersten Infektion eine zweite Einspritzung mit Recurrens-Mäuseblut. Dieses Mal zeigte sich kein Fieber, auch blieb der Spirochätenbefund negativ, wahrscheinlich infolge der bereits eingetretenen Immunität. 37 Tage nach der letzten Recurrensinfektion impfte ich nun das Versuchstier mit Menschensyphilismaterial. Die Impfung wurde in der Weise vorgenommen, daß die vorsichtig rasierten Augenbrauen gründlich skarifiziert wurden, und daß dann das Impfmateriale 10 Minuten lang eingerieben wurde. Nach 25 Tagen zeigte sich der beginnende Primäraffekt, nämlich schwach entzündliche Schuppenbildung, die jedoch nur 10 Tage lang bestand und dann langsam zurückging. *Spirochaeta pallidae* fanden sich in dem Krankheitsherde nicht, obgleich dieser das für einen Primäraffekt durchaus typische Aussehen darbot.

Es dürfte demnach durch diese beiden Versuche der Beweis erbracht sein, daß ein mit Syphilis infizierter Organismus voll empfänglich gegen die Infektion mit Recurrensvirus bleibt, und daß umgekehrt die durch Recurrens im Tierkörper ausgelösten Immunitätsvorgänge in keiner

Weise gegen das erfolgreiche Eindringen des Syphilerregers Schutz gewähren.

Aehnliche Versuche hat schon Uhlenhuth angestellt. In Gemeinschaft mit Woithe hat er mit artverwandten Protozoen (auch mit avirulenten) gegen Spirochäten und Trypanosomen zu immunisieren versucht. Die Immunisierung oder Resistenzerhöhung mit Tryp. Lewisii und mit der Recurrens-Spirochäte gegen Dourine gelingt aber an Ratten nur ausnahmsweise. Das Mißlingen der Immunisierung gehört zur Regel. Ebenso erwerben mit Hühnerspirochäten vorbehandelte Ratten keine Immunität gegen Recurrens und umgekehrt. Auf die vielen interessanten Beobachtungen im Verlaufe dieser Versuche kann hier nicht eingegangen werden.

Die Versuche, Kaninchen mit wiederholten subkutanen Injektionen hoher Dosen spirochätenhaltigen Hühnerblutes gegen Syphilis zu immunisieren, gelangen Uhlenhuth und Mulzer nicht. Meine Versuche an Affen bestätigen die von Uhlenhuth an Kaninchen gewonnenen Resultate.

Um zum Schluß noch auf die negativen Spirochätenbefunde bei den syphilitischen Primäraffekten unserer beiden Versuchstiere kurz einzugehen, so dürften diese ihre Erklärung in den übereinstimmenden Angaben von Prowazek, Metschnikoff und Neisser finden, nach denen bei Affensyphilis die *Sp. pallidae* seltener als bei Menschensyphilis nachweisbar sind. Neisser hat aber gefunden, daß auch bei negativem Spirochätenbefund eine Weiterimpfung von den verdächtigen Stellen durchaus erfolgreich sein kann, daß also in solchen Fällen wirklich Syphilis vorliegt. Daß der Primäraffekt, der das Impfresultat bei dem Recurrensaffen war, auffällig leicht und schnell verlief, hängt wohl sicher nicht mit der vorhergehenden Recurrensimpfung zusammen, sondern hat vielmehr seinen Grund in dem jugendlichen Alter des Versuchstieres. Neisser sagt darüber: „Für die an den Augenbrauen-Primäraffekten beobachteten Differenzen scheint mir am wahrscheinlichsten das Alter, also das Ausgewachsensein der Tiere und die damit verbundenen anatomischen Differenzen der Brauen der jungen und alten Tiere entscheidend zu sein. Alte Tiere zeigen öfter sehr schöne, nach

der Breite und Tiefe gut entwickelte Indurationen, während die kleinen Tiere häufig nur ganz kleine papelartige, schuppene, distinkt stehende Effloreszenzen aufweisen.“ Da unser Recurrensaffe sehr jung war, zeigte er also nur einen leichten, abortiv verlaufenden Primäraffekt, während der alte Syphilisaffe starke, monatelang anhaltende Primäraffekte aufwies.

Zusammenfassung.

Es wird experimentell nachgewiesen, daß die sogenannte „Anergie“ bei Syphilis (d. h. das Refraktärsein gegen eine Neuinfektion bei noch bestehender Krankheit) vor einer Infektion mit dem Spirillum Duttoni und umgekehrt, eine Immunität nach Ueberstehen des afrikanischen Recurrensfiebers vor einer Syphilisinfection nicht schützt.

Die „Anergie“ bei Syphilis ist nach den bisherigen Forschungen spezifisch.

Literatur.

- 1) Breinl, Kinghorn und Todd, Centralbl. f. Bakt., Refer., Bd. 39, 1907, p. 350.
- 2) Gabritschewsky, M., Annal. Pasteur, T. 10, 1896.
- 3) Levaditi et Nattan-Larrier, Annal. Pasteur, T. 22, 1908, p. 260.
- 4) Manteufel, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 27, 1900, H. 2.
- 5) Mathis und Leger, Bull. Soc. de Pathol. exot., I, III, 1910, p. 422.
- 6) Metschnikoff und Soudakewitsch, Virch. Arch., 1887, p. 109.
- 7) Neisser, Beiträge zur Pathologie und Therapie der Syphilis. Berlin (Jul. Springer) 1911.
- 8) Neisser, Baermann und Halberstädter, Münch. med. Wochenschrift, 1906, No. 28.
- 9) v. Prowazek, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 26, 1907, H. 1.
- 10) Uhlenhuth und Woithe, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 29, H. 2.
- 11) Uhlenhuth und Mulzer, Berl. klin. Wochenschr., 1191, No. 15.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Helsingfors.]

Zur Agglutinationsresistenz der sogenannten Exsudatbakterien.

Von **K. F. Hirvisalo**,
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Februar 1913.)

Wie bekannt, veröffentlichte Bail (1) im Jahre 1902 eine umfangreiche Abhandlung, in welcher er die Erscheinung, „daß Typhusbakterien aus dem Exsudate intraperitoneal infizierter Meerschweinchen viel weniger Neigung zeigen, auf Zusatz eines Immunserums zu Haufen zusammenzutreten als gewöhnliche, etwa in Bouillon gezüchtete“, zu erklären sucht. Nachdem er in verschiedenen Richtungen nach der Lösung dieser Frage gesucht hat, kommt er schließlich bei der Untersuchung der Agglutinin-konstitution zu der Auffassung, daß die Typhusbakterien im Peritoneum der Meerschweinchen die Agglutininkomponente, das sogenannte Agglutinophor, binden und infolgedessen weniger agglutinationsfähig werden. Bails Versuche, welche nachweisen sollten, daß die Agglutinine die gleiche Konstitution besitzen wie die Hämolytine und die Bakteriolytine, d. i. daß das Agglutinophor sich mit Hemiagglutinin komplettiert, waren nach Joos (4)¹⁾ zu wenig beweisend. Paltauf (2) hält es nicht für möglich, die Agglutinationsfähigkeit eines Serums wieder herzustellen, nachdem sie durch Erhitzung zerstört worden ist²⁾; auch sind die Komplettierungsversuche späterer Autoren nicht immer gelungen. Nach Eisenberg (5) ist die Sache nicht sicher bewiesen, obwohl man mit ihrer Möglichkeit zu rechnen hat. Shibayama (6) hält das in einem von ihm beobachteten Falle von Agglutinationshemmung auftretende Verschwinden der Agglutinoidzone unter Zusatz von normalem Kaninchenserum für eine Agglutinoidablenkung, wobei die intakten Agglutinine wirksam werden. Brauns (7) Untersuchungen über den agglutinierenden Einfluß von normalem Rinder-serum auf Choleravibrionen führten zu dem Ergebnis, daß die Reaktion

1) Bail stützt seine Auffassung auf einen Versuch, wo auf $\frac{1}{10}$ verdünntes Immunserum, auf 75° C erhitzt, seine Agglutinationsfähigkeit in bezug auf Typhusbacillen vollkommen verliert. Ich habe in meinen Versuchen mit dem Serum gegen Typhus immunisierter Kaninchen beobachtet daß die Agglutinationsfähigkeit unter den erwähnten Verhältnissen nicht total verschwunden ist. Außerdem ist es leicht denkbar, daß das im Kaninchenserum vorhandene Konglutinin die Ausflockung zustande bringt.

2) Auch in seiner späteren Darstellung (3) ist seine Auffassung noch dieselbe.

durch zwei Faktoren hervorgerufen wird, welche synergetisch wirken und von denen der eine thermostabil, der andere thermolabil ist. Dieses Resultat wurde durch Komplettierungsversuche unter Benutzung zweier verschiedener Verfahren erhalten: durch Aktivierung eines Rinderserums, dessen thermolabile Komponente durch Erhitzen auf 60° zerstört ist, mit einem solchen Rinderserum, dessen thermostabile Komponente mit Hilfe von Bakterien absorbiert wurde. Auf solche Art erhielt Braun öfters ein positives Ergebnis. Indessen sagt er in diesem Zusammenhang (l. c. p. 138): „Doch müssen wir ausdrücklich hervorheben, daß ein mißglückter Versuch keine Ausnahme bildet und das Ergebnis nie vorausgesagt werden kann. Wir halten uns deswegen nicht für berechtigt, die Agglutination durch normales Rinderserum in jedem Falle von zwei Komponenten abhängig anzusehen und suchten deshalb nach anderen Versuchsanordnungen, um uns volle Sicherheit zu verschaffen, ob es in jedem Rinderserum zwei wirksame Faktoren gibt.“ Zu diesem Zweck benutzte er nachher Kälberserum zur Aktivierung des Rinderserums, weil ersteres komplementhaltig war, aber verhältnismäßig wenig Agglutinine für Cholera vibrionen, deren er sich bediente, enthielt. Ein solches Verfahren ergab immer ein positives Resultat. Bayer (8) kommt in seinem eben erschienenen Aufsatz zu dem Schluß, daß das Komplement die Agglutinationserscheinung günstig beeinflusst, und daß diese agglutinationsfördernde Wirkung von seiner Globulinfraction (Mittelstück) ausgeht.

Im Widerspruch mit den vorhergehenden steht die Beobachtung v. Loghems (9), daß das Komplement die Agglutinationserscheinung hemmend beeinflusse. Dieselbe Auffassung hat Streng (10, 11), welcher bekanntlich außerdem nachgewiesen hat — wie Bordet und Gay (12), Bordet und Streng (13) für die Blutkörperchen —, daß eine Flockenbildung der Bakterien vorkommt, bei deren Entstehung Alexine nötig sind, ebenso wie der der Bakterie entsprechende Sensibilisator und irgendein Kolloid, welches im Rinderserum ziemlich reichlich vorhanden ist, wie man es auch, obwohl in geringerem Maße, in vielen anderen Serumarten findet. Diese sogenannte Konglutinationserscheinung ist wenigstens zunächst von der Agglutination zu unterscheiden, weil jene unbedingt die Mitwirkung der Alexine verlangt, diese jedoch nicht. Höchstwahrscheinlich hat Braun bei der Ausführung seiner letztgenannten Komplettierungsversuche es gerade mit der Konglutinationserscheinung zu tun gehabt, denn offenbar sind hier alle Faktoren der erwähnten Flockenbildung zugegen gewesen. Auch ist es nicht unmöglich, daß die Konglutination in den erwähnten Versuchen Bayers (l. c.) mitgespielt habe, oder daß seine Ergebnisse von der Summation der normalen Agglutinine beeinflusst worden seien. Uebrigens hat Gengou (14) nachgewiesen, daß gerade das Mittelstück des Komplements in der Konglutinationsreaktion wirksam ist.

Da es ohne Zweifel deutlich bewiesen ist, daß die Alexine die Entstehung der Agglutinationserscheinung hemmen und da die Exsudatbakterien während ihres Verweilens im Peri-

toneum diesem Einfluß ausgesetzt werden, so ist es denkbar, daß die von Bail in der angeführten Erscheinung wahrgenommene Agglutinationsverzögerung gerade auf den Einfluß der Alexine zurückzuführen sei. Die Typhusbakterien würden also während ihres Aufenthalts im Peritoneum eines Meerschweinchens sensibilisiert werden und zugleich das Alexin an sich verankern. Ist dieses wirklich der Fall, so müssen sich solche Bakterien zu dem inaktiven, von den entsprechenden Agglutininen befreiten Rinderserum ebenso verhalten wie überhaupt die sensibilisierten und alexinierten Bakterien zum inaktiven Rinderserum. Um dieses zu untersuchen, habe ich folgenden Versuch angestellt:

Tabelle I.

Tube 1. 1 ccm Exsudatbakt.-Susp. + 0,20 ccm inakt. erschöpft. Rinderser.
 „ 2. 1 „ Nat. Bakt.-Susp. + 0,20 „ „ „ „

Die Reagenzgläser werden auf 2 Stunden in den Brutschrank bei 37° C gestellt und von Zeit zu Zeit geschüttelt. Schon nach ¼ Stunde zeigen die Bakterien der Tube 1 eine bemerkenswert starke Ausflockung, die im Laufe der ersten halben Stunde weiter zunimmt, während an der Tube 2 keine Veränderung wahrzunehmen ist. Nach Verlauf von 2 Stunden sowie nach weiteren 24 Stunden langem Stehen in Zimmer-temperatur ist das Resultat noch dasselbe.

Zum agglutinierenden Typhusimmunserum verhalten sich die Bakterien in dem gleichzeitig angeführten Versuche wie folgt:

Tabelle II.

1 ccm Serumverdünnung	1 ccm Exsudatbakt.-Susp.	1 ccm nat. Bakt.-Susp.
1/10	+++ ¹⁾	+++
1/100	+	++
1/250	(+)	++
1/500	—	+
1/1000	—	+
1/2000	—	(+)

1) +++ Großkörnige Ausflockung, klare Flüssigkeit, ++ mittelkörnige Ausflockung, opaleszierende Flüssigkeit, + kleinkörnige Ausflockung, (+) bloß mit der Lupe sichtbare Ausflockung, — keine Ausflockung.

Die Probierröhrchen werden 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank gehalten und von Zeit zu Zeit geschüttelt. Das mitgeteilte Resultat wird binnen 1/2 Stunde erzielt und verändert sich kaum während der Beobachtungszeit.

Die im Peritoneum gewesenen Bakterien sind also auffallend resistent gegen Typhusagglutinine, treten aber in derselben Zeit mit Hilfe inaktiven, von den entsprechenden Agglutininen befreiten Rinderserums zu Flocken zusammen, welches nicht vorbehandelte Bakterien nicht tun.

Ich habe die obenerwähnten Versuche sehr viele Mal und stets mit gleichem Resultat ausgeführt, jedoch mit dem Unterschiede, daß die mit Hilfe von Rinderserum der genannten Art nur an Exsudatbakterien erhaltene Ausflockung einmal sehr stark war, wie in dem oben angeführten Falle, ein anderes Mal schwächer, bisweilen sogar so schwach, daß man sie nur mit der Lupe wahrnehmen konnte. Doch war das Resultat stets ein positives, während der mit nativen Bakterien angestellte Kontrollversuch immer negativ ausfiel, wenn die normalen Agglutinine nur genau entfernt waren. Die Deutlichkeit der Reaktion wird bedeutend befördert, wenn die Bakterien aus dem Exsudat sorgfältig ausgewaschen sind und wenn das Konglutininserum nach der Entfernung der normalen Agglutinine tadellos klar ist.

Die zu den Versuchen benutzten Meerschweinchen wogen 300–700 g. Von den Typhusbakterien kamen drei verschiedene Stämme zur Anwendung (Stamm Wien L-r, Berlin H. J. und Hamburg Br.). Den Meerschweinchen wurden verschiedene Bakterienmengen eingespritzt: in 3 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung wurde resp. 1/10, 1/5, 1/2, 1, 2, 4 (24 Stunden alte) Agarkulturen suspendiert und von dieser Mischung bei jedem einzelnen Versuche etwa 2 ccm injiziert. Die kleineren Mengen schienen eine deutlichere Reaktion zu geben. Einigemal ließ man ein Meerschweinchen sterben und entnahm ihm gleich nach dem Tode (14–18 Stunden nach der Infektion) Exsudat. Meistens wurden jedoch die Tiere 8–10 Stunden nach der Infektion getötet. Von dem bakterienreichen und häufig etwas Blut enthaltenden Exsudat erhielt man 3–8 ccm; es wurde aseptisch entnommen, mit dem Platindraht von Fibrin befreit und in die Zentrifuge getan. In einigen Minuten wurde der Bodensatz von der noch ganz trüben Flüssigkeit geschieden und enthielt dann rote und weiße Blutkörperchen sowie Bakterien mit geronnenem Fibrin vereinigt. Es wurde so lange zentrifugiert, bis die Flüssigkeit klar war; der Rückstand wurde in der gleichen Menge Koch-

salzlösung suspendiert, durch steriles Filtrierpapier filtriert, um die zurückgebliebenen Blutkörperchen zu entfernen (bei mikroskopischer Prüfung wurde dort kein Blut mehr bemerkt), aufs neue zentrifugiert, nochmals mit Kochsalzlösung gewaschen und schließlich in einer der ursprünglichen Exsudatmenge entsprechenden Kochsalzlösung suspendiert. Aus den nativen Bakterien wurde eine ebenso trübe Kochsalzsuspension bereitet, weil man nur in dieser Weise in beiden Mischungen ungefähr die gleiche Bakterienmenge erhielt. Zu den Kontrollversuchen wurde stets eine 24 Stunden alte Agarkultur desselben Stammes, mit dem das Meerschweinchen infiziert worden war, benutzt. — Behufs der Absorption der Normalagglutinine aus dem Rinderserum kamen im Durchschnitt 15 Typhusagarkulturen auf 3 ccm Rinderserum zur Anwendung. Die Mengen des Rinderserums schwankten in den einzelnen Versuchen zwischen 0,05 und 0,25 ccm, doch wurden meistens 0,2–0,25 ccm benutzt. Die Probierrgläser wurden 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank gehalten und hin und wieder geschüttelt. Diese Versuche und die entsprechenden Agglutinationsversuche wurden so gleichzeitig und unter so gleichen Umständen wie möglich ausgeführt. In den Agglutinationsversuchen wurde einige Monate altes Typhusimmunkaninchenserum verwendet.

Um die Gegenwart des Alexins im Exsudat mit Hilfe der bekannten Alexinreaktion und zugleich mittels der Konglutinationsreaktion nachweisen zu können, wurde einigemal ein Versuch mit Peritonealexsudat *in vitro* angestellt. Ich teile im folgenden einen dieser Versuche mit.

Einem Meerschweinchen von 400 g Gewicht werden 7 ccm 1-proz. Aleuronatsuspension in 0,85-proz. Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert. Nach 15 Stunden werden dem Meerschweinchen 5 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung ins Peritoneum eingespritzt, worauf das Tier auf solche Weise getötet wird, daß man alles Blut aus der Carotis ausfließen läßt; die Bauchhöhle wird aseptisch geöffnet, eine kleine Menge trüber Flüssigkeit aus dem Peritoneum gesammelt und die Höhle nochmals mit etwas Kochsalzlösung, die mit der vorigen vereinigt wird, gespült. Man erhält im ganzen etwa 7–8 ccm trübe Flüssigkeit. Diese wird zentrifugiert, bis sie klar geworden ist, in zwei ganz gleich große Teile geteilt, deren einer $\frac{1}{2}$ Stunde in 56° C gehalten wird. Von beiden Teilen werden genau 2 ccm genommen, mit je 2 normalen Oesen volle 24 Stunden alter Typhusagarkultur suspendiert und auf 3–4 Stunden in den Brutschrank gestellt.

Die in oben beschriebener Weise dargestellten Bakterienmischungen wurden dann folgendermaßen untersucht:

Tabelle III.

Tube 1.	1 ccm Typhusbakt.-Susp. in akt. Exs.	+ 0,25 ccm inakt. ersch. Rinders.
„ 2.	1 „ „ in inakt. „	+ 0,25 „ „ „ „
„ 3.	1 „ Kochsalzsusp. der nativ. Bakt.	+ 0,25 „ „ „ „

Die Reagenzgläser werden 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank gehalten und von Zeit zu Zeit geschüttelt. Im Verlaufe dieser Zeit ist in keinem der Gläser eine Veränderung bemerkbar; erst nach 12 Stunden zeigt sich in Tube 1 eine leichte Ausflockung, die nach 24 Stunden recht deutlich hervortritt; die Tuben 2 und 3 sind unverändert. Beim Wiederholen der Versuche ergibt sich einmal ganz dasselbe, ein anderes Mal ein negatives Resultat.

Die Agglutinationsversuche liefern nicht die „Bailsche Erscheinung“, sondern es bilden sowohl die in inaktivem als aktivem Serum gewonnenen Bakterien gleich den nichtvorbehandelten Flocken. Gleichzeitig wurde mit dem hämolytischen System die Gegenwart des Alexins im nicht erhitzten Exsudat nachgewiesen, und zwar war es in allen Versuchen positiv, obwohl schwach. — Um Hämolyse zu bekommen, mußten nämlich recht große Exsudatmengen und kräftige Ambozeptoren verwendet werden. Die im Reagenzglas befindlichen Mengen des Alexins waren also offenbar unzureichend, um eine deutliche und schnelle Reaktion hervorzubringen, namentlich weil die Bakterienmenge während der Beobachtungszeit bedeutend zunimmt. Doch ist die erst nach 24 Stunden wahrgenommene kräftige Konglutinationsreaktion der im aktiven Exsudat gewesenen Bakterien zu beachten, welches darauf hinweist, daß diese faktisch, wenn auch schwach, das Alexin an sich verankert hatten.

Wie ersichtlich, verhalten sich die Exsudatbakterien zum inaktiven, von den entsprechenden Agglutininen befreiten Rinderserum ebenso wie die sensibilisierten und alexinierten Typhusbakterien.

Späterhin wurde untersucht, wie die Erwärmung der Exsudatbakterien in dieser Beziehung wirken würde, weil sie möglicherweise die Art der an der Reaktion beteiligten Substanzen andeuten könnte.

Die auf gewöhnliche Weise in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens behandelten Typhusbakterien werden erst in inaktives, von Agglutininen befreites Rinderserum getan, um zu erfahren, wie sie sich zu dem erwähnten Serum gleich nach dessen Entnahme aus dem Peritoneum und vor der Erwärmung verhalten.

Tabelle IV.

Tube 1. 1 ccm Exsudatbakt.-Susp. + 0,20 ccm inakt. ersch. Rinderser. (+ + +)
 „ 2. 1 „ nat. Bakteriensuspension + 0,20 ccm inakt. ersch. Rinderser. (—)

Tube 1 zeigt bereits nach $\frac{1}{4}$ Stunde eine starke Ausflockung, Tube 2 bleibt trübe, ohne die geringste Andeutung dazu. Dieselben, im vorigen Versuche benutzten Bakterienmischungen werden nun 2 Stunden lang im Wasserthermostat bei 56° C gehalten und jede halbe Stunde wird der Einfluß von Rinderserum auf dieselben geprüft.

Tabelle V.

Ver- suchs- zeit	1 ccm Exsudat- bakterien (56° C) + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum	1 ccm nat. Bakt. (56° C) + 0,2 ccm inakt. erschöpft. Rinderserum	1 ccm Exsudat- bakterien (nicht erwärmt) + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum	1 ccm nat. Bakt. (nicht erwärmt) + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum
$\frac{1}{2}$ Std.	+	—	+++	—
1 „	(+)	—	+++	—
$1\frac{1}{2}$ „	(+)	—	+++	—
2 „	(+)?	—	+++	—

Wie aus diesem Versuch hervorgeht, wirkt die gewöhnliche Komplement-Inaktivierungswärme schon binnen $\frac{1}{2}$ Stunde dermaßen auf die Exsudatbakterien ein, daß die obenerwähnte Flockenbildung mit inaktiv erschöpftem Rinderserum recht bedeutend gehemmt wird.

Vor dem Erhitzen verhalten sich die Exsudatbakterien zum Typhusimmunserum folgendermaßen:

Tabelle VI.

1 ccm Bakterien- mischung	1 ccm Immunserumverdünnung					
	1:10	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:2000
Exsudatbakt.	+	(+)	(+)	(+)	(+)?	—
Nat. Bakter.	+++	+++	++	+	+	+

2 Stunden 37° C. Die nach der ersten halben Stunde erhaltene Reaktion besteht bis zum Ende der Versuchszeit.

Nach der Erhitzung verhalten sich die obengenannten Bakterien zum Typhusimmunserum wie folgt. (Diese Versuche wurden zu gleicher Zeit ausgeführt wie die vorhergehenden Versuche mit Rinderserum und mit erwärmten Bakterien.)

Tabelle VII.

Agglut.-Serum- verdünnungen	1/2 Stunde 56° C		Nicht erwärmt		1 Stunde 56° C		Nicht erw.		1 1/2 Std. 56° C		Nicht erwärmt		2 Stunden 56° C		Nicht erw.	
	Exsudat- bakterien	Nat. Bakt.	Exsudat- bakterien	Nat. Bakt.	Exsudat- bakterien	Nat. Bakt.	Exs.-Bakt.	Exs.-Bakt.	Exsudat- bakterien	Nat. Bakt.	Exsudat- bakterien	Nat. Bakt.	Exsudat- bakterien	Nat. Bakt.	Exs.-Bakt.	Nat. Bakt.
1:10	+++	+++	+	+	+++	+++	+	+	+++	+++	+	+	+++	+++	+	+
1:100	+++	+++	(+)	(+)	+++	+++	(+)	(+)	+++	+++	(+)	(+)	+++	+++	(+)	(+)
1:250	++	+++	(+)	(+)	++	++	(+)	(+)	++	++	(+)	(+)	+++	++	(+)	(+)
1:500	+	++	(+)	(+)	+	++	(+)	(+)	+	++	(+)	(+)	++	+	(+)	(+)
1:1000	(+)?	+	(+)?	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)?	(+)	+	+	(+)	(+)
1:2000	-	+	-	(+)?	+	+	-	(+)	+	-	(+)?	(+)	(+)	(+)	-	(+)

Auf 56° C erhitzt verlieren die Exsudatbakterien ihre Konglutinationsfähigkeit, erhalten aber in auffallendem Grade ihre Agglutinationsfähigkeit wieder.

Die zuletzt angeführten Versuche mit Rinderserum und mit Typhusimmunserum legen dar, daß Agglutination und Konglutination ihrem Mechanismus nach deutlich verschiedene Erscheinungen sind. Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß die betreffende Agglutinationsresistenz der Typhusbakterien verhältnismäßig rasch, schon innerhalb der ersten halben Stunde, verschwindet.

Erneute Versuche lieferten dasselbe Ergebnis. Wurde die Temperatur auf 60° C erhöht, war das Resultat das gleiche, bloß mit dem Unterschiede, daß der Einfluß des inaktiven Rinderserums auf die Bakterien relativ noch schwächer war. In der Wirkung des agglutinierenden Serums war kein Unterschied bemerkbar, wenn man sie mit dem Resultat verglich, welches beim Erhitzen der erwähnten Bakterien auf 56° C erhalten wurde.

Vergleichen wir das Verhältnis der alexinierten und sensibilisierten Typhusbakterien (Streng, l. c.) einerseits, der Exsudatbakterien andererseits zu dem von den entsprechenden Agglutininen befreiten inaktiven Rinderserum und Typhusimmunserum, so finden wir, daß die entsprechenden Reaktionen vollkommen analog sind. Alle beide bilden leichter Flocken

mit dem erwähnten Rinderserum und schwerer mit Typhusimmunserum als die zu den Kontrollversuchen benutzten nativen Typhusbakterien. Dieses berechtigt uns zu dem Schlußsatz, daß auch die Exsudatbakterien in entsprechender Weise sensibilisiert und alexiniert sind. Und ist dieses einmal der Fall, so hat man die von der Erhitzung bewirkte Veränderung der Exsudatbakterien als durch die Zerstörung der Alexinwirkung — schwerlich infolge der Veränderung der Agglutinine — entstanden anzusehen, besonders weil sie schon bei der Temperatur, wo die Alexinwirkung auch aus dem Serum verschwindet, eintritt.

Dieser Umstand ist auch darum bemerkenswert, weil er darlegt, daß selbst gebundenes Alexin noch inaktiviert werden kann und weil er zugleich die Gelegenheit gibt, die Verhältnisse, unter welchen eine derartige Inaktivierung stattfindet, näher zu prüfen.

Wie bekannt, vernichtet Aqua destillata die Komplementwirkung des Serums. Es war daher interessant, zu sehen, in welcher Weise die Exsudatbakterien sich nach einer Behandlung mit destilliertem Wasser zu dem von mir benutzten Rinderserum und Typhusimmunserum verhalten würden. Um dieses zu untersuchen, verfuhr ich folgendermaßen:

Das auf gewöhnliche Weise aus dem Peritoneum mit Typhusbakterien infizierter Meerschweinchen erhaltene Exsudat wurde in zwei gleichgroße Teile geteilt. Die Bakterien wurden gesondert zentrifugiert, worauf man den einen Teil mit Aqua destillata, den anderen mit 0,85-proz. NaCl-Lösung wusch. Die Bakterien blieben 4 Stunden in den betreffenden Lösungen und wurden alle Stunden auf Rinderserum und Typhusimmunserum untersucht. Bei diesem Versuch wurden auch die in destilliertem Wasser gewesenen Bakterien in Kochsalzlösung suspendiert. Aus diesen Versuchen ging hervor, daß Aqua destillata nach 3 und deutlicher nach 4 Stunden in der Weise auf die Exsudatbakterien einwirkt, daß diese mit inaktivem, von den entsprechenden Agglutininen befreiten Rinderserum eine schwächere Ausflockung zeigen als die ebensolange in Kochsalzlösung gewesenen Exsudatbakterien. Der Unterschied ist allerdings lange nicht so deutlich wie bei den erhitzten und nichterhitzten Exsudatbakterien, jedenfalls aber bemerkbar.

Zum Typhusimmunserum verhalten sich beide ganz ebenso, indem sie deutlich die „Bailsche Erscheinung“ zeigen. Einige erneute Versuche lieferten dasselbe Resultat. Obwohl der Unterschied minimal ist, dürfte er doch darauf hinweisen, daß die Abnahme der Komplementwirkung die Entstehung der Konglutinationsreaktion teilweise gehemmt hat.

Zusammenfassung.

1) Die mit den Eigenschaften der sogenannten Exsudatbakterien ausgerüsteten Typhusbakterien geben mit inaktivem Rinderserum, aus welchem die Normalagglutinine bei einer großen Menge von Typhusbacillen vorher entfernt sind, eine auffallend starke Ausflockung, wogegen die nativen Typhusbakterien keine Flocken bilden.

2) Wenn man die Exsudatbakterien erhitzt, verlieren sie schon bei 56° C in recht anschaulichem Maße ihre erwähnte Ausflockungsfähigkeit mit Rinderserum, indem sie zugleich mit Typhusimmunserum leichter agglutinierbar werden.

3) Ebenso wie die Erhitzung scheint auch Aqua destillata auf die Fähigkeit der Exsudatbakterien, mit inaktivem, von normalen Typhusagglutininen befreiten Rinderserum Flocken zu bilden, einzuwirken, wenngleich dieser Einfluß ein ziemlich schwacher ist. Eine Zunahme der Agglutination mit Typhusimmunserum ist an den auf solche Weise behandelten Bakterien nicht wahrzunehmen.

4) Der obenerwähnte ausflockende Einfluß des inaktiv erschöpften Rinderserums auf die Exsudatbakterien berechtigt uns, einstweilen auf der Grundlage bekannter Tatsachen die Ausflockung der Exsudatbakterien für eine Konglutationsreaktion zu halten.

5) Die Agglutinationsresistenz der Exsudatbakterien rührt wahrscheinlich davon her, daß diese im Peritoneum der Meerschweinchen sensibilisiert und alexiniert werden und dadurch die Wirkung der Agglutinine widerstehen vermögen.

6) Es läßt sich mit Hilfe der Konglutationsreaktion nachweisen, daß die Wirkung der gebundenen wie der nicht gebundenen Alexine schon bei 56° C verschwindet.

Literatur.

- 1) Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 42, 1902, p. 307.
- 2) Paltauf, Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann, Bd. 4, 1904, p. 740.
- 3) — ebenda, II. Aufl., Bd. 2, 1912, p. 581.
- 4) Joos, zit. nach Paltauf, Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann, Bd. 4, 1904, p. 740.
- 5) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 41, 1906, p. 253.
- 6) Shibayama, ebenda, Bd. 42, 1906, p. 64, 144.
- 7) Braun, Arch. f. Hyg., Bd. 68, 1909, p. 116.
- 8) Bayer, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 15, 1912, p. 220.
- 9) van Loghem, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 45, 1908, p. 539.
- 10) Streng, ebenda, Bd. 50, 1909, p. 47.
- 11) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, 1909, p. 515.
- 12) Bordet-Gay, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1906.
- 13) Bordet-Streng, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 49, 1909, p. 260.
- 14) Gengou, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 725.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie
der K. K. Universität Graz (Vorstand: Hofrat Prof. Dr.
R. Klemensiewicz).]

Zur Kenntnis der Hämolysevergiftung.

Von Prof. Dr. **Hermann Pfeiffer** und Dr. **M. de Crinis**.

Mit 5 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Februar 1913.)

Die grundlegenden Untersuchungen von E. Rosenthal haben dargetan, daß die sogenannte antitryptische, besser die antiproteolytische Wirkung normaler und pathologischer Seren bedingt ist durch ihren natürlichen Gehalt an Eiweißspaltprodukten. Auf dieser Arbeit aufbauend und auf den älteren Erfahrungen von H. Pfeiffer und S. Mita fußend, wonach die anaphylaktische Erkrankung verursacht wird durch das Auftreten eines immunisatorisch gebildeten, proteolytischen Fermentes, konnte Rusznjak zeigen, daß in der ersten Periode des anaphylaktischen Shocks von mit Eiereiweiß vorbehandelten und nachgespritzten Meer-schweinchen das Hemmungsvermögen der Seren jenes normaler Tiere um ein Mehrfaches übertrifft. Er hatte damit dargetan, daß tatsächlich das proteolytische Ferment dem Antigen der Vorbehandlung gegenüber in Wirksamkeit tritt und sich im Organismus seiner letal erkrankten Versuchstiere Eiweißspaltprodukte, deren toxische Wirkung ja heute

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XVII.

31

schon genau studiert ist und sich bis in alle Einzelheiten mit den Vergiftungserscheinungen der Eiweißzerfallstoxikosen deckt, in quantitativ höherem Ausmaße nachweisen lassen, als in der Norm. H. Pfeiffer und A. Jarisch, welche in orientierenden Vorversuchen diese Beobachtung Rusznjaks bestätigen konnten, vermochten auch für den Fall einer Vergiftung mit natürlichem Rinderhämolysin diesen primären Anstieg des sogenannten antitryptischen Seruntiters nachzuweisen, fanden aber sowohl hier als auch ebenso für den Fall der klassischen Anaphylaxie, daß der anfänglichen Vermehrung sehr bald ein rasches Absinken des Hemmungsvermögens, demnach ein Absinken des Gehaltes der Seren an Eiweißspaltprodukten, also ein subnormaler Tiefstand des parenteralen Eiweißstoffwechsels folgt¹⁾.

Von der Vermutung ausgehend, daß dieser Absturz die Folge des während der ersten Vergiftungsperiode durch einen explosionsartigen Abbau entstandenen Giftes sei, untersuchten sie die Wirkung von Pepton Witte, Harn und Ergamin auf das Hemmungsvermögen der Seren von Tieren, die toxische Dosen davon erhalten hatten. Sie fanden, daß hier ohne primären Anstieg sofort ein Rückgang des Hemmungsvermögens auf subnormale Werte in die Erscheinung trete. Sie folgerten daraus, daß der eigentümliche Verlauf der Antitrypsinkurve im anaphylaktischen Shock und bei der Hämolysinvertgiftung die Resultante zweier, in entgegengesetzter Richtung auf den parenteralen Eiweißstoffwechsel einwirkender Komponenten sei, deren eine der fermentative Abbau von Eiweiß im Sinne einer Steigerung, deren andere die Wirkung des in der ersten Phase entstandenen Zerfallsgiftes sei. Solange in der allerersten Vergiftungsperiode das — immunisatorisch gebildete oder von außen einverleibte — Ferment in seiner Wirksamkeit überwiegt und der Organismus noch nicht Zeit gefunden hat, auf die durch diese Wirkung freiwerdenden Gifte zu reagieren, wird ein Ansteigen des Hemmungsvermögens beobachtet. Später, wenn die Wirkung des Giftes sich in einer schweren Erkrankung, in einem schweren Darniederliegen aller Stoffwechselvorgänge des Versuchstieres dokumentiert, überwiegt über die Zerfallsvorgänge die dem Gifte eigentümliche Bremsung des Eiweißstoffwechsels. Es folgt das sekundäre Absinken der Antitrypsinkurve.

Aus Anlaß von derzeit noch unveröffentlichten Studien, die der eine von uns (H. Pfeiffer) über das quantitative Verhalten der im Serum kreisenden Eiweißspaltprodukte bei anderen Toxikosen des akuten parenteralen Eiweißzerfalls, speziell bei dem Verbrührungstode anstellte, hatten wir Gelegenheit, die von H. Pfeiffer und A. Jarisch aufgedeckten Verhältnisse bei der Hämolysinvertgiftung nochmals zu prüfen.

1) Vergleiche auch die wesensgleiche, nicht näher verfolgte Beobachtung von E. Seligmann in dieser Zeitschrift, Bd. 14, Heft 4, p. 422.

Hinsichtlich der von uns bei allen einschlägigen Versuchen verwendeten Technik hielten wir uns in allen Einzelheiten an die Angaben, die in der Arbeit von H. Pfeiffer und A. Jarisch über die Ausführung der Fould-Grossschen, von E. Rosenthal modifizierten Methode gemacht wurden. Mit fortschreitender Uebung brachten wir es dahin, immer mit Systemen von 0,2, nur ausnahmsweise mit 0,3 ccm Trypsin zu arbeiten und fanden in Uebereinstimmung mit Rusznjak den Serumtiter des normalen Meerschweinchens (und Kaninchens) im Gegensatz zum Menschen als absolut konstant. Er betrug, wie auch aus den folgenden Tabellen hervorgeht, in beiläufig 100 Kontrollversuchen konstant 20 AE., so daß wir Seren mit 30 AE. als sicher erhöht ansprechen durften. Gegenteilige Angaben in der Literatur, die dieses Verhalten des Meerschweinchenserums leugnen, sind nach unseren vielfachen einschlägigen Erfahrungen auf Fehler in der Versuchstechnik zurückzuführen, die wohl nicht schwierig ist, aber immerhin Uebung und ein peinlich sauberes Arbeiten verlangt. Nichtsdestoweniger wurden die nachfolgenden Befunde zur Sicherheit des Urteiles ausnahmslos in der Weise erhoben, daß einmal größere Reihen von Seren gleichzeitig untersucht, die Ergebnisse gegeneinander abgeschätzt wurden, ferner bei jeder Versuchsreihe mindestens ein normales Meerschweinchenserum zur Kontrolle diente. Nicht ganz eindeutige Resultate wurden durch neuerliches Anstellen der Probe überprüft und nur absolut feststehende Werte in die Tabellen eingesetzt. Nachdem wir nunmehr in nahezu einjähriger Uebung in weit über tausend einzelnen Untersuchungen die Methodik nach Fould-Gross vollkommen beherrschen, müssen wir unser abschließendes Urteil darüber als ein vorzügliches bezeichnen. Sie gibt — Uebung und Exaktheit des Arbeitens vorausgesetzt — nicht nur scharfe, sondern auch quantitativ gut verwertbare Resultate.

Tabelle I.

Ver- such No.	Datum	Injektion	Reaktion in $\frac{1}{10}^{\circ}$ C	Ge- tötet nach	Titer	Anmerkung
1	28. XI. 1912	10 ccm R.-S. a. ip.	48 \times 0 \times	15 Min.	50	} 250—300 g, tödliche Dosis
2	" " "	" " "	18 \times 0 \times	15 "	30	
3	" " "	" " "	18 \times 0 \times	15 "	40	
4	" " "	" " "	36 \times 0 \times	15 "	45	
5	20. XI. 1912	4 ccm R.-S. a. ip.	16 \times 0 \times	15 Min.	30	} 300 g, tödliche Dosis
6	" " "	" " "	17 \times 0 \times	15 "	30	
7	20. XI. 1912	2,5 ccm R.-S. a. ip.	23 \times 0 \times	30 Min.	10	} 350—400 g, stark toxische Dosis
8	" " "	" " "	26 \times 0 \times	30 "	30	
9	" " "	" " "	24 \times 0 \times	60 Min.	20	
10	" " "	" " "	24 \times 0 \times	60 "	20	
11	" " "	" " "	20 \times 14 \times	3 Std.	10	
12	" " "	" " "	18 \times 10 \times	3 "	20	
13	" " "	" " "	52 \times 10 \times	6 "	10	
14	" " "	" " "	48 \times 18 \times	6 "	10	
15, 16	" " "	" " "	0 0	0 "	20	

Zeichenerklärung: R.-S. a. = Rinderserum aktiv; ip. = intraperitoneal;
 \times = Temperatur fallend; \times = steigend.

Wie aus Tabelle I und mancher später mitgeteilten hervorgeht, konnten wir zunächst die früheren Erfahrungen über den primären Anstieg des proteolytischen Hemmungsvermögens bestätigen. So fanden wir 15 Minuten nach der intraperitonealen Einverleibung von 10 und 4 ccm aktiven Rinderserums wesentlich über die Norm erhöhte Werte. Wie rasch aber unter Umständen dieser Anstieg einem sekundären Absinken des Hemmungsvermögens Platz machen kann, ergibt sich aus den Versuchen 7—14 der Tabelle, wo schon 30 Minuten nach der Injektion nur mehr eines der Tiere eine schwache, wenn auch deutliche Erhöhung von 30 AE. aufwies, das andere schon ein vermindertes Hemmungsvermögen zeigte. Diese Hemmung hielt nun auch während der 6-stündigen Dauer des Versuches an.

Es erscheint also nach diesen und später mitzuteilenden Erfahrungen zum Nachweis der primären Steigerung bei der Vergiftung mit Rinderhämolyisin nicht unnötig, daß man unmittelbar nach der Injektion, am besten nach der ersten Viertelstunde, das Serum des Tieres prüft, dann aber auch, daß man große Dosen, am besten sicher tödliche dem Tiere peritoneal einverleibt¹⁾. Bei späterer Blutentnahme und bei mittleren Dosen kann sonst dieser Nachweis Schwierigkeiten bereiten und nur mehr die sekundäre Senkung in die Erscheinung treten.

H. Pfeiffer und A. Jarisch hatten bei ihren Studien über den antitryptischen Seramtiter bei der Hämolyisinvergiftung nur innerhalb der ersten 6 Stunden nach Einverleibung des toxischen Agens untersucht und zu dieser Zeit ausnahmslos den Tiefstand des Eiweißstoffwechsels an der Herabsetzung des Seramtiters ihrer noch schwerkranken Versuchstiere wahrgenommen. Als wir, andere Ziele verfolgend, nun Sera von Meerschweinchen untersuchten, welche 24 und 48 Stunden früher mit 2,5 und 4,0 ccm, bzw. 3,0 und 4,5 ccm aktiven Rinderserums intraperitoneal in 24-stündigen Intervallen vorbehandelt waren, wurden wir durch das auf Tabelle II wiedergegebene Resultat überrascht. Während die

1) In jüngster Zeit bekamen wir auch bei Verwendung ausgewachsener, 500—600 g schwerer Tiere ausgesprochene und anhaltende primäre Titersteigerungen.

normalen Kontrollen (12—15 der Tabelle) den konstanten Wert von 20 AE. des gesamten Meerschweinchens aufwiesen, waren bei den Versuchstieren, die sich aus jenen schweren toxischen Shocks schon vollkommen erholt hatten, meist aber wohl noch in Form von leichtem Fieber in mildester Art erkrankt waren, wesentlich erhöhte Werte bis zu 50 AE. nachweisbar. War, wie in Versuch 7 und 8, ein längerer Zeitraum (72 Stunden) nach der letzten Einspritzung verstrichen, so erschienen wieder die dem normalen Tiere entsprechenden Werte von 20 AE.

Tabelle II.

Ver- such No.	Datum	I. Injektion	Re- aktion	Inter- vall	II. Injektion	Re- aktion	Ge- tötet nach	Hemmungs- vermögen des Serums
1	11. XI. 1912	2,5 ccm R.-S. a. ip.	12 960	24 Std.	4,0 ccm R.-S. a. ip.	6 600	48 Std.	30
2	dgl.	dgl.	18 600	dgl.	dgl.	18 000	48 "	50
3			?			11 960	24 "	50
4	15. XI. 1912	3,0 ccm R.-S. a. ip.	7 560	"	4,5 ccm R.-S. a. ip.	450	48 "	40
5	dgl.	dgl.	5 710	"	dgl.	960	48 "	50
6	"	"	7 080	"	"	8 140	48 "	40
7	"	"	8 140	"	"	9 720	48 "	30
8	"	"	1 200	"	"	720	72 "	20
9	"	"	5 460	"	"	2 400	72 "	20
10	"	"	10 200	"	"	2 160	72 "	30
11	"	"	4 620	"	"	9 600	72 "	20
12—15	11. XI. 1912	0	0	0	0	0	0	20

Erklärung der Abkürzungen: R.-S. a. = Rinderserum aktiv; ip. = intraperitoneal. Reaktion: Die Ziffern wurden durch Auswertung des Temperatursturzes nach der Formel H. Pfeiffers gewonnen.

Es war also die zweite, den schweren Vergiftungserscheinungen entsprechende Periode der sekundären Senkung des antiproteolytischen Hemmungsvermögens zur Zeit der Erholung von einer dritten Phase gefolgt, in der neuerlich eine recht bedeutende und, wie es schien, konstante und längerdauernde Anhäufung von Eiweißspaltprodukten im Serum wahrnehmbar wurde. Unsere erste Vermutung richtete sich darauf, ob nicht vielleicht die zweimalige Injektion toxischen Rinderserums zu der Erscheinung in ursächlicher Beziehung stehen konnte. Wir untersuchten daher, wie Tabelle III wiedergibt, an einer Serie von 12 Versuchstieren und zwei Kontrollen nach einmaliger intraperitonealer Ein-

verleibung von 2,5 ccm aktiven Rinderserums zu den in der Zusammenstellung angegebenen Zeiten das Hemmungsvermögen von je zwei Seren. Da erst 30 Minuten nach der Injektion die Untersuchung begann, konnte nach dem Vorhergesagten nur an einem Tiere die primäre Anhäufung der Spaltprodukte wahrgenommen werden. Es folgte dann das sekundäre Absinken, welches auch noch in der sechsten Versuchsstunde sehr deutlich war. Die beiden Tiere, die nach 48 Stunden getötet wurden, wiesen ganz wie die früher erörterten und zweimal gespritzten 50 und 40 AE. in ihrem Serum auf, also eine ganz wesentliche Vermehrung ihres hemmenden Vermögens.

Tabelle III (20. XI. 1912).

Vers. No.	Injektion von	Getötet nach	Temperaturreaktion zur Zeit des Todes	Hemmungsvermögen der Seren	Durchschnitt
1	2,5 ccm R.-S. a. ip. dgl.	30 Min.	23 ^x 0 ^x	10 AE.	20 (30)
2		30 "	26 ^x 0 ^x	30 "	
3		60 "	24 ^x 0 ^x	20 "	20
4		60 "	24 ^x 0 ^x	20 "	
5		3 Std.	20 ^x 14 ^x	10 "	15
6		3 "	18 ^x 10 ^x	20 "	
7		6 "	52 ^x 10 ^x	10 "	10
8		6 "	48 ^x 18 ^x	10 "	
9		24 "	44 ^x 44 ^x	—	nicht bestimmt!
10		24 "	36 ^x 42 ^x	—	
11		48 "	46 ^x 46 ^x	50 AE.	45
12		48 "	42 ^x 42 ^x	40 "	
13, 14		.	0	0	20 "

Zeichenerklärung siehe Tabelle I.

Aus diesem Befunde, sowie aus den folgenden Tabellen IV—IX konnte demnach gefolgert werden, daß der tertiäre Anstieg des antitryptischen Serumtiters nach Einverleibung toxischer Dosen von Rinderhämolyisin nicht mit der Wiederholung der Injektion zusammenhängt, sondern daß schon die einmalige Einspritzung einer krankmachenden Menge genügt, ihn hervorzurufen.

Zur Erklärung dieses, wie uns schien, für die ganze Frage prinzipiell wichtigen Verhaltens standen von vornherein verschiedene Möglichkeiten offen: 1. einmal konnte a priori der Gedanke nicht von der Hand gewiesen werden, daß un-

abhängig von der Wirkung des Hämolyseins, also unabhängig von der toxischen Erkrankung der Versuchstiere dieser tertiäre Anstieg erfolge als Reaktion auf die Einverleibung des artfremden Eiweiß überhaupt. Es wäre möglich gewesen, daß wir darin den ersten Ausdruck der beginnenden Sensibilisierung der Versuchstiere durch das Rindereiweiß vor uns hatten, wenn auch der Zeitpunkt des Auftretens unseres Phänomens — 24 Stunden nach der Injektion — recht sehr mit den Erfahrungen über das erste Auftreten von Antikörpern kontrastierte. Sollte diese Möglichkeit weiterhin im Versuche diskutierbar sein, so mußte sich zeigen: daß a) ganz unabhängig von der Wirkung von Hämolyse auch atoxisches, also inaktives Rinderserum zur fraglichen Zeit einen Anstieg des antitryptischen Seruntiters bedinge, da ja erfahrungsgemäß unter diesen Versuchsbedingungen sein sensibilisierendes Vermögen voll erhalten bleibt; daß auch anderes, an sich schwach giftiges oder ungiftig gemachtes artfremdes Eiweiß, z. B. Pferdeserum in demselben Sinne und zur selben Zeit den Eiweißstoffwechsel beeinflusse; c) daß der tertiäre Anstieg um die 48. Stunde nicht ein Maximum des Phänomens bilde, sondern sich durch eine längere Zeitperiode, mindestens bis zum 10. bis 12. Tage nach der Injektion, also bis zum Eintritt höherer Grade von Ueberempfindlichkeit sich nicht nur erhalte, sondern steigere. Denn war der tertiäre Anstieg eine Folge des ersten Auftretens von Antieweiß, so stand zu erwarten, daß mit seiner Zunahme im Säftestrome auch das davon hypothetisch unabhängige und gesteigerte Hemmungsvermögen der Seren mindestens anhalte.

Als zweite Erklärungsmöglichkeit wäre zu prüfen gewesen, daß wir in dem tertiären Anstieg den Ausdruck einer Nierenerschöpfung durch den Shock, einer passageren Urämie vor uns haben, die ja (für den Fall der reinen Retentionsurämie) nach H. Pfeiffer und A. Jarisch gleichfalls mit einer Steigerung des Seruntiters einhergeht und nach älteren Erfahrungen des einen von uns über die Harngiftigkeit bei der Hämolysevergiftung nicht auszuschließen war. Sollte solch eine Erklärung genügen, so mußte sich zeigen, a) daß bei fehlender Vergiftung, also nach Injektion von atoxischem Serum das tertiäre Ansteigen ausbleibe, b) daß bei schwachen

Vergiftungen mit kleinen Mengen von Hämolyisin es gleichfalls nicht wahrnehmbar sei und daß es vor allem c) unter den sub b) genannten Versuchsbedingungen, wenn überhaupt, nicht früher, sondern später eintrete als bei stärkeren Vergiftungen, da vernunftgemäß diese eine Nierenschädigung und die damit hypothetisch in Verbindung gebrachte Titersteigerung rascher zum Erscheinen bringen mußte, als eine schwächere.

Drittens schien es uns notwendig, zu untersuchen, ob nicht bei der in Rede stehenden Erscheinung der neuerliche Anstieg nichts anderes sei, als der Ausdruck der eingetretenen Erholung von der Giftwirkung, die, wie schon früher nachgewiesen wurde, den Eiweißstoffwechsel herabdrückt und so die Wesenheit der an der Vergiftung ursächlich beteiligten Stoffwechselvorgänge verdeckt. Diese Erklärungsmöglichkeit hatte von vornherein die größte Wahrscheinlichkeit für sich. Sie konnte vielleicht auch mit der Erscheinung der, von H. Pfeiffer und S. Mita zuerst nachgewiesenen Unterempfindlichkeit eines hämolysinvergifteten Tieres gegen eine nachfolgende neuerliche und wesensgleiche Vergiftung, also mit dem unspezifischen, nicht auf Antikörperverschwendung basierenden Anteile der Unterempfindlichkeit in ursächlichem Zusammenhang stehen, da wir heute wissen, daß proteolytische Fermente durch die Spaltprodukte des abgebauten Substrates gehemmt werden. Sollten wir demnach im tertiären Anstieg nichts als ein Symptom der Erholung vor uns haben, wodurch ein neuerlicher Beweis für die Richtigkeit unserer Anschauung über die Wesenheit der fermentativen Zerfallstoxikosen zu erwarten stand, so mußte: a) bei fehlender Erkrankung, demnach auch bei fehlender „Erholung“, also bei Einverleibung inaktivierten, atoxischen Rinder- oder Pferdeserums der tertiäre Anstieg ausbleiben; b) nach größeren, eben subletalen Dosen später eintreten und länger anhalten als nach kleineren; c) bei kleinsten Giftmengen die tertiäre Steigerung vor der 24. bzw. 48. Stunde — entsprechend der rascheren Erholung — sich zeigen; d) bei minimalen Schädigungen mit einem Ausbleiben der sekundären Senkung primärer und tertiärer Anstieg zeitlich zusammenfallen.

Endlich mußte es sich e) zeigen lassen, daß unter Versuchsbedingungen, wo eine Unterempfindlichkeit der Ver-

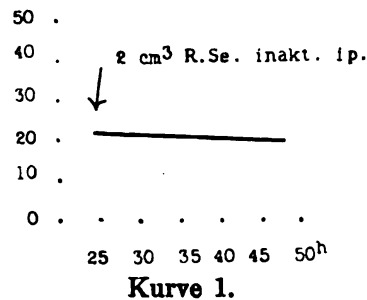
suchstiere gegen das Hämolyse besteht, also bei einer zweiten Injektion die Erkrankung bei gleichbleibender Dosis geringer ist, die Antitrypsinkurve eine länger dauernde primäre Steigerung und eine schwächere sekundäre Senkung zeigt.

Tabelle IV (2.—4. II. 1913).

Vers. No.	Injektion von ¹⁾	Getötet nach	Hemmungsvermögen des Serums	Durchschnittliches Hemmungsvermögen
M. 1	2 ccm R.-S. inakt. ip.	24 Std.	20 25 AE.	} 20 AE.
M. 2		24 „	20 „	
M. 3		48 „	20 „	} 20 AE.
M. 4		48 „	20 „	
M. 5		72 „	20 „	} 20 AE.
M. 6		72 „	20 „	
M. 7, 8	0	—	20 „	

Wie sich aus Tabelle IV und Kurve 1 ergibt, konnten wir zunächst feststellen, daß der tertiäre Anstieg des Serumtiters abhängig ist davon, daß das Versuchstier an Hämolysevergiftung überhaupt erkrankte und daß es nicht die Einverleibung des artfremden Serums an sich ist, welcher ihn bedingt. 6 Versuchstiere wurden mit je 2,0 ccm exakt inaktivierten, auch im Sinne der Temperaturreaktion völlig wirkungslosen Rinderserums intraperitoneal gespritzt und ihr Serum, sowie jenes von unvorbehandelten Kontrollen 24, 48 und 72 Stunden nach der Injektion, also zur kritischen Zeit untersucht. Die sechs Tierseren boten durchaus den normalen Wert von 20 AE.

Versuch vom 2.—4. II. 1913.
Kombinierte Antitrypsinkurve bei 2 ccm R.Se. inaktiv, intrap. (Meerschweinchen.)



Eine zweite, in Tabelle V wiedergegebene Versuchsreihe, die sich von der 3. bis zur 120. Versuchsstunde ausdehnte und nach der völlig wirkungslosen Injektion von 2,0 ccm inaktiven Pferdeserums gewonnen wurde, zeigte, der 8. und 24. Stunde entsprechend, einen ganz leichten, den Ergebnissen mit gleich großen Mengen aktiven Rinderserums gegenüber

1) Kein Temperatursturz.

Tabelle V (28. I. bis 2. II. 1913).

Vers. No.	Injektion von ¹⁾	Getötet nach	Hemmungsvermögen der Seren	Durchschnittliches Hemmungsvermögen
1	2 ccm Pf.-S. inakt. dgl.	3 Std.	20 AE.	} 20 AE.
2		3 "	20 "	
3		8 "	30 "	} 25 AE.
4		8 "	20 "	
5		24 "	20 "	
6		24 "	30 "	} 25 AE.
7		48 "	20 "	
8		48 "	20 "	} 20 AE.
9		48 "	20 "	
10		72 "	20 "	} 20 AE.
11		72 "	20 "	
12		96 "	25 "	} 20 AE.
13		96 "	20 "	
14		120 "	20 "	} 20 AE.
15		120 "	20 "	
16—20	0	—	20 "	} 20 AE.

aber unwesentlichen Anstieg der Titer bei einzelnen Tieren, um die 48. Stunde hingegen und über diese hinaus durchaus normale Werte. Dadurch ist ebenso wie in Tabelle IV dargetan, 1) daß zum Zustandekommen des tertiären Anstieges das Ueberstehen einer Hämolysinvergiftung notwendig ist, 2) daß er unabhängig ist von der Tatsache der Einverleibung artfremden, an sich aber ungiftigen Eiweißes und endlich 3) daß er nach dem früher Gesagten unmöglich der erste Ausdruck einer beginnenden Sensibilisierung der Versuchstiere sein kann.

Diese letzte Folgerung wird übrigens auch durch die Ergebnisse der in Tabelle VI, Kurve 2 zusammengestellten Versuche erhärtet, die zum Ziele hatten, festzustellen, wie die Antitrypsinkurve nach einer intensiven Vergiftung mit aktivem Rinderserum über den von uns schon früher untersuchten Zeitpunkt hinaus sich verhält, mit anderen Worten: wie lange Zeit die tertiäre Anreicherung des Säftestromes an Eiweißspaltprodukten unter den gewählten Versuchsbedingungen währe. Wir ersehen daraus, daß Versuchstiere, die mit 2,0 ccm aktiven Rinderserums auf intraperitonealem Wege vergiftet wurden, schon nach 24 Stunden, also mit Eintritt der Erholung, eine wesentlich erhöhte Steigerung ihres antitryptischen Titors er-

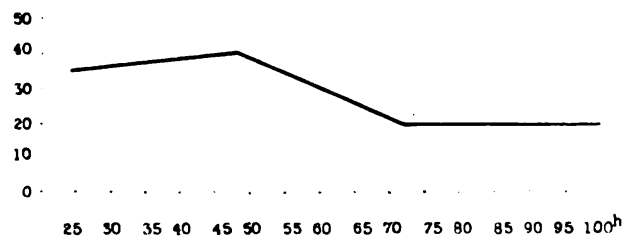
1) Kein Temperatursturz.

Tabelle VI (27. I. bis 2. II. 1913).

Vers. No.	Injektion von	Getötet nach	Hemmungsvermögen des Serums	Durchschnitt
1	2 ccm R.-S. akt. ip. dgl.	24 Std.	40 AE.	} 35 AE.
2		24 "	35 "	
3		48 "	50 "	
4		48 "	40 "	} 40 AE.
5		48 "	35 "	
6		48 "	40 "	
7		48 "	40 "	
8		48 "	40 "	
9		72 "	20 "	} 20 AE.
10		72 "	20 "	
11		96 "	20 "	} 20 AE.
12		96 "	20 "	
13		120 "	20 "	} 20 AE.
14		120 "	20 "	
15		144 "	20 "	} 20 AE.
16		144 "	20 "	
17, 18		0	0	

kennen lassen, daß dieser innerhalb der nächsten 24 Stunden, also 48 Stunden nach dem Shock, noch eine nicht unwesentliche Zunahme erfährt, daß aber vom 3. Tage ab wieder normale Verhältnisse eintreten und mindestens bis zum 6. Tage nach der Vergiftung anhalten.

Kombinierte Antitrypsinkurve nach intraperitonealer Einverleibung von 2 ccm Rinderserum aktiv.



Kurve 2.

Da somit die erste der früher erörterten Erklärungsmöglichkeiten ausgeschaltet werden konnte, blieb noch übrig zu entscheiden, ob der tertiäre Anstieg im Sinne einer passageren Niereninsuffizienz gedeutet werden muß, gegen die schon das Wohlbefinden der Tiere zur Zeit dieser Titererhöhung sprach, oder ob wir es mit einem Symptom der Erholung vom Shock zu tun haben, welches uns erst einen Einblick in die wesentlichen Stoffwechselforgänge während der Vergiftung gestattet. Wie früher angedeutet, stand diese Entscheidung von der Anwendung kleinerer Giftdosen zu erwarten,

wobei den quantitativen Verhältnissen und insbesondere dem zeitlichen Auftreten des tertiären Anstieges besonderes Augenmerk zugewendet werden mußte.

Die eben erwähnte Tabelle VI und die folgenden VII, VIII und IX enthalten die Zusammenstellung unserer Beobachtungen, die wir nach intraperitonealer Einverleibung von 2,0, 1,0, 0,5 und 0,25 ccm aktiven Rinderserums in Meerschweinchen des Durchschnittsgewichtes von 300–400 g zu verschiedenen Zeiten machten. Wie aus Tabelle VI und III hervorgeht, setzt die tertiäre Titererhöhung mit der 24. Stunde ein und ist nach der 72. Stunde aus dem Symptombilde verschwunden. Setzt man durch Einverleibung von 1,0 ccm eines aktiven Rinderserums eine Schädigung geringeren Grades, die nur zu Temperaturabnahmen von 3–4° C. führt und nach beiläufig 4 Stunden einer leichten Fieberbewegung Platz gemacht hat, so bemerkt man, wie Tabelle VII und Kurve 3 lehren, daß innerhalb der ersten 3 Stunden nicht der von den

Tabelle VII (4.–6. II. 1913).

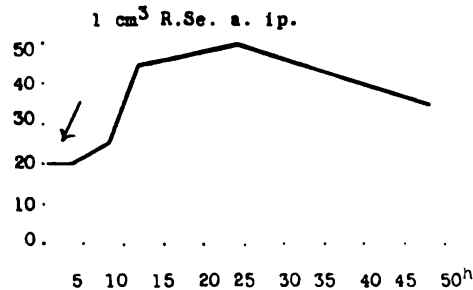
Vers. No.	Injektion von	Getötet nach	Temperatur zur Zeit des Todes	Hemmungsvermögen des Serums	Durchschnitt
1	1,0 ccm R.-S. a. ip. dgl.	30 Min.	36,2°	20 AE.	20 AE.
2		30 "	36,0°	20 "	
3		60 "	35,8°	20 "	20 AE.
4		60 "	35,2°	20 "	
5		3 Std.	39,2°	20 "	20 AE.
6		3 "	38,8°	20 "	
7		8 "	39,6°	30 "	25 AE.
8		8 "	39,0°	20 "	
9		12 "	39,2°	40 "	45 AE.
10		12 "	39,6°	50 "	
12		24 "	39,0°	50 "	50 AE.
12		24 "	38,6°	50 "	
13		48 "	38,4°	30 "	35 AE.
14		48 "	39,0°	40 "	
15, 16	0	0 "	0	20 "	

schweren Vergiftungen her bekannte Titerabfall unter die Norm in die Erscheinung tritt, sondern das Hemmungsvermögen innerhalb dieser Zeitperiode¹⁾ trotz subnormaler Temperatur

Nach dem primären Anstieg nach 15 Minuten wurde in diesen und den folgenden Versuchen nicht gesucht.

der Norm entspricht. Schon um die 8. Stunde beginnt nunmehr der tertiäre Anstieg sich bemerkbar zu machen, ist nach 12 Stunden stark ausgeprägt, erreicht nach 24 Stunden sein Maximum und ist nach 48 Stunden wohl noch deutlich nachweisbar, aber wesentlich schwächer als tags vorher. Es ist also bei dieser schwachen Vergiftung von dem sekundären Titerabfall unter die Norm keine Rede mehr, der tertiäre Anstieg ist quantitativ ebenso deutlich wie früher, tritt hingegen zeitlich stark verfrüht zwischen der 8. und 12. Stunde auf. Seine Zeitdauer ist annähernd so groß, wie nach starken Vergiftungen.

Versuch vom 4.—6. II. 1913.
Kombinierte Antitrypsinkurve bei 1 ccm
R.Ser. aktiv, intraperitoneal.
(Meerschweinchen, 400 g.)



Kurve 3.

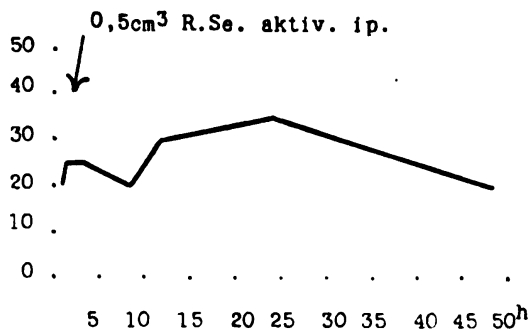
Wählt man, wie es in Tabelle VIII und Kurve 4 dargestellt wurde, noch kleinere Schädigungen, 0,5 ccm aktiven Rinderserums, so liegt der tertiäre Anstieg wieder in der 12. bis 24. Stunde. Wenn er auch deutlich nachweisbar bleibt, so ist er doch nicht mehr so intensiv, wie unter den

Tabelle VIII (4.—6. II. 1913).

Vers. No.	Injektion von	Getötet nach	Temperatur zur Zeit des Todes	Hemmungsvermögen der Seren	Durchschnitt
1	0,5 ccm R.-S. a. ip.	30 Min.	36,2°	20 A.E.	20 A.E.
2	" " " "	30 "	36,0°	20 "	
3	" " " "	60 "	36,2°	20 "	
4	" " " "	60 "	38,6°	25—30 A.E.	20—25
5	" " " "	3 Std.	37,2°	25—30 "	
6	" " " "	3 "	38,4°	20 A.E.	20—25
7	" " " "	8 "	39,8°	20 "	
8	" " " "	8 "	39,8°	20 "	20 A.E.
9	" " " "	12 "	38,8°	30 "	
10	" " " "	12 "	39,2°	30 "	30 A.E.
11	" " " "	24 "	40,0°	40 "	
12	" " " "	24 "	40,0°	30 "	35 A.E.
13	" " " "	48 "	39,0°	20 "	
14	" " " "	48 "	39,2°	20 "	20 A.E.
15, 16	0	0	0	20 "	

früher gewählten Versuchsbedingungen. Vor allem aber ist sein Eintritt nicht nur zum Augenblicke der Injektion hin verschoben, sondern auch seine Zeitdauer deutlich verkürzt, indem

Versuch vom 4.—6. II. 1913.
Kombinierte Antitrypsinkurve bei 0,5 ccm
R.Se. aktiv, intraperitoneal.
(Meerschweinchen, 350 g.)



Kurve 4.

nach 48 Stunden schon wieder völlig normale Titerwerte beobachtet wurden. Erwähnung verdient der Umstand, daß auch hier von einer sekundären Senkung unter die Norm keine Rede ist, ja sogar nach 60 Minuten und 3 Stunden gelegentlich erhöhte Werte angetroffen werden, die als Residuen des initialen Anstieges gedeutet werden

müssen, da zwischen ihnen und dem tertiären Anstieg die beiden normalen Werte von 20 AE. um die 8. Versuchsstunde liegen.

Noch deutlicher wird dieses Gesetz, daß mit fallenden Dosen von Aktivserum der tertiäre Titeranstieg gegen den Zeitpunkt der Injektion zu ver-

Tabelle IX. (7.—9. II. 1913.)

Vers.-No.	Injektion von	Getötet nach	Temperatur zur Zeit des Todes	Hemmungsvermögen der Seren	Durchschnitt
1	0,25 ccm R.-S. akt. ip.	30 Min.	37,2°	20 AE.	} 20 AE.
2		30 "	36,8°	20 "	
3		60 "	38,0°	20 "	} 20 AE.
4		60 "	39,6°	20 "	
5		3 Std.	39,0°	30 "	} 30 AE.
6		3 "	40,2°	30 "	
7		8 "	38,8°	30 "	} 30 AE.
8		8 "	38,6°	30 "	
9		12 "	—	25 "	} 30 AE.
10		12 "	—	30 "	
11		24 "	38,6°	20 "	} 20 AE.
12		24 "	39,0°	20 "	
13, 14	0	0	—	20 "	

schoben ist, kürzer dauert und weniger intensiv wird, wenn man Tabelle IX betrachtet, welche die Ergebnisse nach intraperitonealer Einverleibung von 0,25 ccm Rinderserum enthält. Da sehen wir diesen Anstieg in der dritten Versuchsstunde, zu welcher Zeit schon Erholung eingetreten ist, deutlich ausgeprägt. Er hält bis zur 12. Versuchsstunde an, aber schon nach 24 Stunden sind wieder normale Verhältnisse gegeben.

Diese Versuche insgesamt haben also gezeigt, daß: 1) bei fallender Schädigung der sekundäre Abfall des antitryptischen Titors unter die Norm ausbleibt; 2) die tertiäre Anhäufung von Spaltprodukten im Serum mit dem rascheren Eintritt der Erholung früher eintritt und kürzere Zeit dauert; 3) in quantitativer Beziehung die Titersteigerung, wenn sie auch deutlich ausgesprochen bleibt, geringer wird.

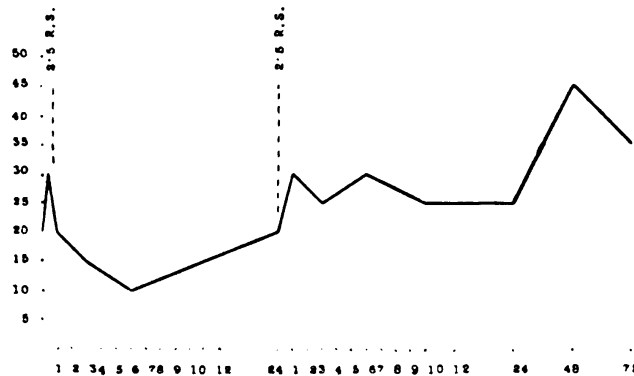
Diese Tatsachen beweisen endlich 4) in Erwägung des früher Erläuterten, daß wir in der tertiären Anhäufung von Eiweißspaltprodukten im Serum derartiger Versuchstiere es nicht mit einem Symptom passagerer Niereninsuffizienz, sondern mit einer, die Erholung begleitenden Erscheinung zu tun haben. Mit dem Nachlassen der schwersten Vergiftungserscheinungen, mit der Wiederkehr in normale oder die Norm überschreitende Temperaturverhältnisse wird abermals der dem ganzen Prozeß zugrundeliegende Stoffwechselfvorgang, der gesteigerte parenterale Eiweißzerfall, für die sogenannte Antitrypsinmethode nachweisbar. Dabei ist besonders hervorzuheben, daß eben diese Steigerung der parenteralen Zerfallsvorgänge am Eiweißmolekül nicht etwa ein, der Einverleibung artfremden (an sich aber atoxischen) Eiweißes eigentümliches Phänomen darstellt, sondern daß es die Einverleibung eines gegen das Eiweiß des Meerschweinchens wirksamen Hämolysins, also die toxische Schädigung des Versuchstieres zur Voraussetzung hat und deshalb mit dem Zustandekommen der Vergiftung in ursächlichem Zusammenhange stehen muß.

Endlich möchten wir in Tabelle X und Kurve 5 noch auf eine Versuchsreihe hinweisen, welche dartut, daß die Antitrypsinkurve von Meerschweinchen, die zweimal nach einem Intervall von 24 Stunden mit großen Dosen (2,5 ccm) aktiven

Tabelle X.

Vers.-No.	Reaktion auf I. Injektion in Zehntelgraden	Reaktion auf II. Injektion zur Zeit des Todes	Getötet nach	Hemmungsvermögen der Seren	Durchschnitt
1	40 _x	18 _x 0 _x	30 Min.	20 A.E.	} 20 A.E.
2	20 _x	15 _x 0 _x	30 "	20 "	
3	22 _x	13 _x 0 _x	60 "	30 "	} 30 A.E.
4	36 _x	23 _x 0 _x	60 "	30 "	
5	20 _x	41 _x 0 _x	3 Std.	30 "	} 20 (30) A.E.
6	36 _x	35 _x 0 _x	3 "	10 "	
7	28 _x	9 _x 7 _x	6 "	30 "	} 30 A.E.
8	50 _x	14 _x 8 _x	6 "	30 "	
9	30 _x	28 _x 26 _x	10 "	20 "	} 30 A.E.
10	42 _x	28 _x 27 _x	10 "	25 "	
11	24 _x	34 _x 34 _x	24 "	35 "	} 25 A.E.
12	42 _x	23 _x 23 _x	24 "	20 "	
13	30 _x	34 _x 34 _x	48 "	40 "	} 45 A.E.
14	60 _x	42 _x 42 _x	48 "	50 "	
15	32 _x	10 _x 10 _x	72 "	20 "	} 35 A.E.
16	60 _x	18 _x 16 _x	72 "	50 "	
17	0	0	—	20 "	} 20 A.E.
18	0	0	—	20 "	

Rinderserums gespritzt wurden, also schon einen gewissen, wenn auch noch nicht vollständigen Schutz gegen diese zweite



Kurve 5.

Einspritzung erworben haben, das zweite Mal anders verläuft als das erste Mal.

Die Versuchstiere wurden gleichzeitig mit den gleich schweren der Tabelle III zum ersten Male mit 2,5 ccm Rinderserum gespritzt, der Seramtiter der Versuchsreihe Tabelle III,

wie dort angegeben, innerhalb von 30 Minuten bis 48 Stunden bestimmt. Die Versuchstiere der Tabelle X erhielten 24 Stunden später neuerdings dieselbe Menge aktiven Rinderserums und reagierten, wie dies den Erfahrungen von H. Pfeiffer und S. Mita entspricht, auf diese Injektion meist schwächer, als auf die erste¹⁾, nicht nur was die Intensität des Temperatursturzes und der allgemeinen Krankheitserscheinungen, sondern auch was die zur Erholung nötige Zeitdauer anlangt. Vergleicht man nun die von ihnen erhaltene Antitrypsinkurve mit jener der erstmalig injizierten Versuchstiere (Kurve 4), so sieht man, daß nicht nur die primäre Titersteigerung bei den mehrmals gespritzten Tieren länger (bis zur 6. Stunde) anhält, während sie bei den erstmals injizierten Meerschweinchen schon nach 1 Stunde verschwunden ist, sondern auch, daß die sekundäre Senkung unter die Norm hier vollständig fehlt, ja daß wir zu Zeiten, wo diese bei den anderen Versuchsreihen sehr intensiv ausgesprochen ist (zwischen der 6. und 10. Versuchsstunde), hier gelegentlich noch übernormale Werte antreffen können. Ueber Verschiedenheiten im Eintreten der tertiären Steigerung kann hier leider nichts ausgesagt werden, da durch ein Versehen die 24-stündigen Seren der Versuchstiere von Tabelle III nicht untersucht wurden. Um die 48. Stunde ist sie jedenfalls unter beiden Versuchsbedingungen deutlich ausgeprägt.

Zusammenfassend können wir also über diese Versuchsreihen sagen, daß dann, wenn eine 2 Stunden vorausgehende Injektion von aktivem Rinderserum eine verminderte Empfindlichkeit der Versuchstiere gegen eine neue Einspritzung geschaffen hat, der primäre Anstieg des proteolytischen Hemmungsvermögens der Seren intensiver ist und längere Zeit anhält, als nach der ersten Injektion, und der sekundäre Abfall — immer die gewählten Versuchsbedingungen vorausgesetzt — nicht unter normale Werte geht. Auch in diesem Verhalten der Antitrypsinkurve, somit also des Gehaltes der

1) Ein vollständiger Schutz, der erst nach mehrmaligen Hämolysininjektionen und meist erst nach einem 48-stündigen Intervall bei intraperitonealer Applikation eintritt, war nach den Erfahrungen dieser Autoren nach 24 Stunden noch nicht zu erwarten!

Tierseren an Eiweißspaltprodukten, sehen wir eine Bestätigung unserer früher auseinandergesetzten Anschauung über das Wesen der Hämolysinvergiftung. Es ist sehr wohl möglich, daß dieses geänderte Verhalten nicht allein ein Ausdruck, sondern vielleicht auch eine Ursache der hier schon deutlich merkbaren Unterempfindlichkeit der Versuchstiere ist. Aus früher mitgeteilten Versuchen wissen wir, daß schon um die 24. Stunde die tertiäre Titersteigerung einsetzt, daß zu dieser Zeit die nichtspezifische Unterempfindlichkeit deutlich wird, und es wäre im Sinne von S. Rusznyák wohl denkbar, daß die zu dieser Zeit im Serum angehäuften Eiweißspaltprodukte die neuerliche Wirkung des einverleibten Hämolysins bremsen. Um dies mit Sicherheit zu entscheiden, sollen weitere Versuche unternommen werden.

Schließlich sei noch hervorgehoben, daß nach dem bis heute vorliegenden Materiale wir bei den Zerfallstoxikosen folgende wichtige Verhältnisse in dem Gehalte der Seren an Eiweißspaltprodukten vorfinden konnten: 1) Der primäre Anstieg, unmittelbar nach Einsetzen der parenteralen Zerfallsvorgänge bei beginnender Erkrankung des Versuchstieres und fallender Körpertemperatur. 2) Der sekundäre Abfall bei schwerer Erkrankung der Versuchstiere, Tiefstand der Körpertemperatur auf der Höhe der Giftwirkung. 3) Die tertiäre Titererhöhung bei oder nach Eintritt der Erholung. Wiederkehrendes Wohlbefinden der Tiere, leicht subnormale oder erhöhte Temperatur mit Tendenz zur Temperatursteigerung. 4) Scheinbar normale Titer bei schwach vergifteten oder unterempfindlichen Tieren mit leichten allgemeinen Vergiftungserscheinungen, geringen Temperaturstürzen unmittelbar nach einer primären Titersteigerung; sie geht über in die tertiäre Steigerung. 5) Der primäre Titerabfall unmittelbar nach Einverleibung eines präformierten Zerfallsgiftes, z. B. Pepton Witte. 6) Der agonale Titeranstieg (wohl zu unterscheiden von dem tertiären, der ein Ausdruck der Erholung des Tieres ist!) bei schwerster Erkrankung der Tiere, enormem Tiefstand der Temperatur unmittelbar vor dem Ende; bisher beobachtet bei der reinen Retentionsurämie von H. Pfeiffer und A. Jarisch, sowie in noch unveröffentlichten Versuchen von H. Pfeiffer

und M. de Crinis beim protrahierten Verbrühungstode von Meerschweinchen und Kaninchen¹⁾).

Zusammenfassung.

1) In dieser Arbeit werden ältere Erfahrungen von H. Pfeiffer und A. Jarisch über den primären Anstieg und den sekundären Abfall des Gehaltes von Tierseren nach Hämolysinvergiftung (aktives Rinderserum) in neuen Versuchsreihen bestätigt.

2) Es wird darauf hingewiesen, daß an diese beiden Perioden sich regelmäßig noch ein Zeitabschnitt des „tertiären Titeranstieges“ anschließt, der zeitlich mit der Erholung der Tiere von der Vergiftung zusammenfällt.

3) Diese Anreicherung an Spaltprodukten hängt wesentlich von der Setzung der Hämolysinvergiftung ab, da inaktives (atoxisches) Rinderserum und inaktives Pferdeserum nicht zu dieser Erscheinung führen.

4) Da nach der 48. Stunde die Periode des tertiären Anstieges abgelaufen ist, normalen Verhältnissen Platz macht, sie ferner durch artfremdes, dabei aber atoxisches Material nicht hervorgerufen wird, so kann es sich dabei auch nicht um eine Erscheinung beginnender Sensibilisierung, also nicht um die Folge einer beginnenden Antikörperbildung handeln.

5) Da bei schwächeren Vergiftungen die tertiäre Titersteigerung früher eintritt als bei stärkeren, kann es sich dabei auch nicht um den Ausdruck einer passageren Niereninsuffizienz, sondern es muß sich um ein Symptom der Erholung handeln, welches die Wesenheit der Hämolysinvergiftung als Toxikose des akuten parenteralen Eiweißzerfalls neuerdings dartut.

6) Bei zweimal gespritzten, hämolysinunterempfindlichen Tieren ist der primäre Anstieg des antitryptischen Serumtiters deutlicher ausgeprägt und hält längere Zeit an als nach einer ersten Injektion. Der sekundäre Abfall erreichte dort, unter den gewählten Versuchsbedingungen, im Gegensatz zu hier niemals subnormale Verhältnisse. Die Möglichkeit eines

1) Anmerkung bei der Korrektur: Einen derartigen agonalen Titeranstieg haben wir mittlerweile auch bei letal verlaufender Urannephritis gesehen, die gleichfalls als reine Retentionsurämie zu deuten ist.

inneren Zusammenhanges zwischen diesem Verhalten und der nichtspezifischen Unterempfindlichkeit im Sinne einer Bremsung weiterer Zerfallsvorgänge durch angehäuften Spaltprodukte (Hemmung einer proteolytischen Fermentwirkung durch die Spaltprodukte) wird betont.

7) Es werden die bisher bekannten Formen der Abweichung des antitryptischen Serumtiters von der Norm bei den Zerfallstoxikosen zusammengestellt.

Literatur.

- Pfeiffer, H., und Jarisch, A., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, H. 1.
 Pfeiffer, H., und Mita, S., ebenda, Bd. 5, H. 2; Bd. 6, H. 1; Bd. 6, H. 5.
 Rosenthal, E., Folia serologica, Bd. 6, 1910, p. 285.
 Rusznyák, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 4.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber Anaphylatoxinbildung durch Agar.

Von Dr. **Ernst Nathan**,
 Assistent am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Februar 1913.)

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit hat Bordet¹⁾ die interessante Tatsache mitgeteilt, daß es durch einfaches Digerieren von Meerschweinchenserum mit Agar ohne weiteren Zusatz gelingt, ein Gift zu erhalten, das nach den Eigentümlichkeiten seiner Entstehung und Wirkung als „Anaphylatoxin“ anzusprechen ist. Bei dem nicht geringen Interesse, welches dieser Feststellung zukommen dürfte, darf ich mir vielleicht erlauben, im folgenden über einige im Anschluß an die Bordetschen Befunde ausgeführten Versuche zu berichten. Wenn dieselben auch nicht zu neuartigen Ergebnissen geführt haben, so erscheint eine kurze Wiedergabe der im wesentlichen nur eine Bestätigung unter quantitativen Variationen darstellenden

1) Compt. rend. Soc. Biol., T. 74, 1913, No. 5.

Untersuchungen insofern gerechtfertigt, als bei manchen Formen der Anaphylatoxin Darstellung augenscheinlich die Bedingungen durch geringfügige, vorläufig nicht exakt zu beherrschende Umstände beeinflusst werden, so daß die Erfahrungen der einzelnen Autoren mehr oder weniger differieren können.

Daß es prinzipiell möglich ist, durch Behandeln von Meerschweinchenserum mit Agar Anaphylatoxin zu gewinnen, daran konnte natürlich nach den Angaben Bordets nicht gezweifelt werden. In der Tat konnte ich dieselben, wie nicht anders zu erwarten war, vollkommen bestätigen, und es gelang mir bisher die Anaphylatoxingewinnung durch Agar mit einer solchen Regelmäßigkeit, wie wir sie sonst nur bei der namentlich von Friedberger und seinen Mitarbeitern¹⁾ studierten Darstellung von Anaphylatoxin mit Bakterien zu sehen gewohnt sind.

Die Herstellung der Agarlösung geschah entsprechend den Angaben von Bordet. 0,5 g Agar wurden in 100 ccm 0,85-proz. NaCl gelöst, und die Lösung sterilisiert. Nach dem Erkalten resultierte eine leicht opaleszente gelatinöse Masse, die sich durch kräftiges Schütteln verflüssigen ließ.

Als Komplementlieferanten dienten Meerschweinchen im Gewicht bis zu 400 g. Innerhalb jeder Versuchsreihe wurde die gleiche Komplementmischung benutzt.

Die zu den Versuchen verwendeten Mengen von Agar und Komplementserum, sowie die Zeit der Digestion bei 37° sind aus den Tabellen ersichtlich.

Die Prüfung des nach 1/2-stündigem Zentrifugieren vom Agar abgegossenen Komplementserums geschah an Meerschweinchen von 220 bis 250 g Gewicht durch Injektion des Abgusses in die freigelegte Vena jugularis. In jedem Fall wurde sofort nach dem Tod des Versuchstieres, der immer unter den klassischen Symptomen der Anaphylaxie (Unruhe, Dyspnoë, Sprünge, Krämpfe, agonale Atmung) erfolgte, die Sektion vorgenommen. Sie ergab regelmäßig die für die akute Anaphylaxie typischen Veränderungen (starke Lungenblähung, Weiterschlagen des Herzens, Verzögerung der Blutgerinnung).

Nachdem in einer Reihe von Versuchen, entsprechend den Angaben Bordets, die Bildung einer tödlichen Giftdosis aus 1,0 ccm Agar und 5 ccm normalem Meerschweinchenserum nach 2—3-stündigem Aufenthalt im Brutofen festgestellt war, wurde die minimale tödliche Dose des derart gewonnenen Giftes bestimmt (s. Tabelle I).

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 9, 1911.

Tabelle I.

Es werden je 1 ccm Agar mit je 5 ccm normalem Meerschweinchenserum gemischt. Die Mischungen werden nach 3-stündigem Aufenthalt bei 37° 1/2 Stunde lang zentrifugiert und die Abgüsse miteinander vereinigt (A).

In gleicher Weise wird mit Mischungen von je 1 ccm Agar und 5 ccm inaktiviertem Meerschweinchenserum (1/2 Stunde 55°) verfahren (B).

Mischung	Ge- wicht g	Injiz. Dosis in ccm	Symptome	Ausgang
A	220	4,5	Schwere Anaphylaxie	Tod in 2 Min.
„	220	3,0	dgl.	Tod in 4 Min.
„	245	3,0	Anaphylaxie	Bleibt am Leben
„	230	2,5	Dyspnoë	dgl.
„	220	2,5	dgl.	dgl.
B	240	4,5	Keine Symptome	dgl.
„	230	5,0	dgl.	dgl.

Wie die Tabelle zeigt, ist die Anaphylatoxingewinnung durch Agar nur mit aktivem, nicht mit inaktivem Meerschweinchenserum gelungen. 3 ccm des Giftes waren noch imstande, Meerschweinchen von 220 g zu töten, während bei einem schweren Tiere (245 g) die gleiche Menge nicht mehr zum letalen Ausgang ausreichte.

Ferner wurde der Einfluß der Agarmenge bei konstanter Komplementdosis ermittelt. Tabelle II gibt hierfür ein Versuchsbeispiel.

Tabelle II.

Mischungen von fallenden Mengen von Agar mit je 5 ccm normalem Meerschweinchenserum kommen für 2 Stunden in den Brutschrank und werden hierauf 1/2 Stunde lang zentrifugiert. Prüfung der Abgüsse durch intravenöse Injektion.

Mengen des Agars in ccm	Ge- wicht g	Injiz. Dosis in ccm	Symptome	Ausgang
2,5	250	4,5	Anaphylaxie	Bald erholt, bleibt am Leben.
1,0	250	4,5	Schwere Anaphylaxie	Tod in 2 Min.
0,5	250	4,5	dgl.	„ „ 5 „
0,25	250	4,5	„	„ „ 3 „
0,1	250	4,0	„	„ „ 3 „
0,05	250	4,5	Anaphylaxie	Bleibt am Leben
0,025	250	3,5	Leichte Anaphylaxie	Nach 2 Min. erholt.
0,01	250	3,5	Geringe Dyspnoë	Bleibt am Leben

Der Versuch zeigt, daß man noch bei Verwendung von 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ -proz. Agarlösung, entsprechend einem absoluten Gehalt von 0,0005 g Agar, eine tödliche Dosis Gift enthält, daß aber selbst noch bei Verwendung von 0,025 ccm Agarlösung, entsprechend einer absoluten Menge von 0,000125 g Agar, deutliche Anaphylaxieerscheinungen (Krämpfe) sich auslösen lassen.

Aus der Tatsache, daß mit 2,5 ccm Agarlösung nicht mehr ein tödliches Gift gewonnen wurde, möchte ich wegen der resultierenden Verdünnung und der entsprechenden Reduktion der injizierten absoluten Serummengung keine Schlußfolgerungen ziehen. Nicht unerwähnt soll aber bleiben, daß in manchen Versuchen auch die mit 1,0 ccm Agarlösung hergestellten Anaphylatoxine weniger giftig waren, als die mit 0,5 ccm Agar erhaltenen, so daß vielleicht auch hier, wie es bei der Anaphylatoxingewinnung im allgemeinen die Untersuchungen Friedbergers und seiner Mitarbeiter gezeigt haben, ein Ueberschuß des Giftbildners ungünstig wirkt. In anderen Versuchen gelang auch bei Verwendung von 1,0 ccm Agar die Giftbildung fast regelmäßig, wie es das folgende, den Einfluß der Zeit auf die Giftbildung illustrierende Versuchsbeispiel zeigt (Tabelle III).

Tabelle III.

Je 1 ccm Agar wird mit 5,0 ccm normalem Meerschweinchenserum verschieden lange Zeit bei 37° digeriert, dann werden die Mischungen $\frac{1}{4}$ Stunde zentrifugiert. Kontrolle: 1,0 ccm Agar + 5 ccm inaktives Meerschweinchenserum ($\frac{1}{2}$ Stunde 55°).

Zeit der Digestion	Gewicht g	Injiz. Dosis in ccm	Krankheitsverlauf	Ausgang
0	220	4,5	Keine Symptome	
$\frac{1}{4}$ Std.	220	4,5	Anaphylaxie	Nach 2 Min. erholt, bleibt am Leben
$\frac{3}{4}$ "	220	4,5	Schwere Anaphylaxie	Tod in 3 Min.
1 "	220	3,0	Anaphylaxie	Nach 2 Min. erholt
2 "	220	4,5	Leichte Anaphylaxie	Bald erholt
3 "	220	4,5	Schwere Anaphylaxie	Tod in 2 Min.
6 "	230	4,5	dgl.	" " 2 "
24 "	220	4,5	"	" " 3 "
Kontrolle 3 Std. 37°	220	4,25	Keine Symptome	

Der Versuch zeigt, daß schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde eine krankmachende, nach $\frac{3}{4}$ Stunden Digestion eine tödliche Menge Gift gebildet worden ist. Dabei ist allerdings die Zeit, welche das Zentrifugieren erforderte, zu berücksichtigen, so daß man wohl 1— $1\frac{1}{4}$ Stunden des Zusammenwirkens von Agar und Meerschweinchenserum für die tödliche Giftwirkung als erforderlich erachten muß.

Was nun die Deutung der Entstehung eines Anaphylatoxins beim Digerieren von Meerschweinchenserum mit Agar anlangt, so schließt Bordet aus seinen Versuchen, daß der Ursprung des Anaphylatoxins im Meerschweinchenserum selbst gelegen sei, und daß es sich bei der Bildung des Giftes um ein Adsorptionsphänomen handle. Damit gelangt Bordet zu einer Auffassung, die in wesentlichen Punkten bereits vor 2 Jahren von Ritz und Sachs¹⁾ formuliert wurde, und die in neuerer Zeit auch von Bauer²⁾, besonders aber von Doerr³⁾ und seinen Mitarbeitern vertreten worden ist. Zwar wurden schon früher von einzelnen Autoren [Friedemann⁴⁾, Pfeiffer und Mita⁵⁾, M. Neisser⁶⁾, Neufeld und Dold⁷⁾, Fuld⁸⁾, Wassermann und Keysser⁹⁾, Citron¹⁰⁾] Bedenken dagegen geäußert, daß die Matrix des Giftes im Antigen oder allein im Antigen zu suchen ist. Citron hatte dabei die Möglichkeit diskutiert, daß das Eliminieren des

1) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 22; Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, 1911, Beiheft, p. 43; Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, 1912, Beiheft, p. 248.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 8.

3) Wiener klin. Wochenschr., 1912, No. 9; Kolle-Wassermann, Handb. der pathogenen Mikroorganismen, II. Aufl., Allergie und Anaphylaxie, p. 947.

4) Fol. serol., Bd. 7, 1911, p. 366; Med. Klinik, 1910; Centralbl. f. Bakt., 1910.

5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910. „Das Problem der Eiweiß-anaphylaxie“, Jena 1910.

6) Diskussionsbemerkungen auf der Königsberger Naturforscherversammlung.

7) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 2.

8) Deutsche med. Wochenschr., 1911, p. 379.

9) Fol. serol., Bd. 7, 1911, Heft 3.

10) Fol. serol., Bd. 7, 1911, p. 352.

Komplementes aus dem Serum für die Giftbildung bereits genügt, eine Vorstellung, die freilich, wie Friedberger bereits erörtert hat, in dieser Form nicht zugänglich erscheint, und Wassermann und Keysser hatten eine fermentative Komplementwirkung auf den durch Adhäsion physikalisch-chemisch alterierten Ambozeptor angenommen. Ritz und Sachs haben dann wohl zum ersten Mal einige Möglichkeiten, welche für die Entstehung des Anaphylatoxins aus dem Serum ohne die Annahme der Interferenz einer fermentativen Ambozeptor-Komplementwirkung in Betracht kommen können, in dem Sinne präzisiert, daß entweder das Gift im Serum präformiert ist und nur durch antagonistische Faktoren, welche bei der Anaphylatoxinbildung eliminiert werden, normalerweise in seiner Wirkung verhindert wird, oder aber daß das Gift durch einen Abbau nichtspezifischer Serumbestandteile erzeugt wird, für dessen Eintritt die Entfernung antagonistisch wirkender Einflüsse maßgebend wäre. Doerr ist dann besonders dafür eingetreten, daß die Umwandlung des normalen Serums zu einem Anaphylatoxin die Folge physikalischer Adsorptionsvorgänge ist, und erblickt die Ursache der Giftwirkung wesentlich in einer Störung des Gleichgewichts der Kolloide [vgl. hierzu auch Mutermilch¹⁾]. Indessen haben die bisherigen Versuche, Meerschweinchenserum durch Behandeln mit adsorbierenden Stoffen giftig zu machen, zu denen an erster Stelle Kaolin verwendet wurde (vgl. Wassermann und Keysser, Ritz und Sachs, Doerr, Bauer, Mutermilch) insofern nicht zu befriedigenden Ergebnissen geführt, als die Gewinnung tödlicher Gifte nur in Ausnahmefällen gelang, und man muß wohl Friedberger darin Recht geben, daß das bisher vorgelegene Material zur experimentellen Begründung der Theorie der Anaphylatoxinbildung ohne Ambozeptor-Komplementwirkung nicht ausreicht. Gleichwohl sind die negativen Ergebnisse hierbei insofern weniger beweisend, als, worauf insbesondere Sachs und Ritz hingewiesen haben, gerade beim Kaolin Entgiftungsvorgänge interferieren können und als, wie auch Doerr bemerkt, bei gewissen Formen

1) Annal. de l'Inst. Pasteur, T. 27, 1913, No. 1.

der Giftgewinnung die Anaphylatoxindarstellung durchaus nicht so regelmäßig gelingt, wie das bei Bakterien der Fall ist. Ist die Theorie richtig, daß das Anaphylatoxin aus dem Serum entsteht, so muß man offenbar annehmen, daß gerade die Bakterienemulsionen die geeignetste Beschaffenheit besitzen, um das Serum mit größter Regelmäßigkeit giftig zu machen. Die Bakterien in vitro würden dann an und für sich den Bedingungen gleichkommen, welche bei der aktiven und passiven Anaphylaxie in vivo durch das Zusammenwirken von Antigen und Antikörpern entstehen. Sollte nun die Bordetsche Auffassung der Agarversuche zutreffen, daß es sich hierbei lediglich um Erscheinungen physikalischer Adsorption handeln könne, so würde die Herstellung des „Agaranaphylatoxins“ in der Tat die Anschauung von Ritz und Sachs, Doerr, Mutermilch, Bordet in einwandfreier Weise bestätigen. Bei den äußerst geringen Agarmengen, welche zur Anaphylatoxinbildung noch hinreichen (0,0005 g Agar genügen sicher für ein tödliches Gift), muß es bereits im höchsten Grade fraglich erscheinen, ob der Agar als Matrix des Giftes in Betracht kommen kann, wenn man auch berücksichtigen muß, daß minimale Serum- (Friedberger und Nathan)¹⁾ oder Bakterienmengen (Friedberger und Goldschmidt)²⁾ gleichfalls für die Anaphylatoxinbildung genügen³⁾. Außerdem enthält ja Agar relativ sehr geringe Eiweißmengen, und es erscheint demnach zum mindesten sehr fraglich, ob man von einem Eiweißabbau im Sinne Friedbergers sprechen kann. Auch würde es wohl immerhin Schwierigkeiten machen, dem mehrstündig im Dampftopf sterilisierten Agar (auch längeres Kochen der Agarlösung im Wasserbad nach dem Sterilisieren schädigt die Anaphylatoxinbildung nicht) Antigennatur zu vindizieren. Wenn man daher überhaupt einen Abbau von Agar-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 567.

2) Ebenda, Bd. 9, 1911, p. 398.

3) Anmerkung während der Korrektur: In diesem Sinne „könnte es sich“ nach Friedberger, wie Lurà in einer soeben erschienenen Arbeit (diese Zeitschr., Bd. 17, 1913, p. 239) mitteilt, „um eine Giftabspaltung aus dem im Agar nach den vorliegenden Analysen enthaltenen Eiweiß handeln“.

bestandteilen für die Giftbildung verantwortlich machen will, so würde es näher liegen, eine fermentative Wirkung (ohne Interferenz von Ambozeptoren) anzunehmen.

Wie dem aber auch sei, so verdient es doch hervorgehoben zu werden, daß der Agar bisher neben den Bakterien der einzige Stoff ist, mit dem die Anaphylatoxinbildung mit derartiger Regelmäßigkeit gelingt, und selbst wenn man eine Fermentwirkung in Betracht ziehen will, würde man nicht umhin können, außer dem Vorhandensein des Substrates auch den physikalischen Zustand, in welchem sich das letztere befindet, wesentlich für die Giftbildung verantwortlich zu machen. Dafür sprechen im übrigen auch die Versuche von Friedberger und Nathan, Neufeld und Dold¹⁾, in denen sich bei der Anaphylatoxinbildung durch normales Serum das inaktivierte Serum augenscheinlich geeigneter erwies als das aktive, sowie die Befunde von Wassermann und Keysser, Neufeld und Dold, nach denen die Adsorption von Serum an Kaolin die Bedingungen für die Anaphylatoxinbildung bei weitem günstiger gestaltet.

Gleichgültig, ob man nun einen unspezifischen fermentativen Abbau oder eine einfache Veränderung des Serums als Ursache der Anaphylatoxinbildung annimmt, in beiden Fällen würde sich, wie das von Sachs ausgeführt worden ist, als wesentlich ergeben, „daß wir dem Antikörper bei der Anaphylaxie keine direkt funktionelle Rolle zuschreiben, daß wir vielmehr der Ansicht sind, daß der Antigen-Antikörperkomplex indirekt auf die Blutbeschaffenheit derart einwirkt, daß eine schwere Noxe entsteht“²⁾. So schließt auch Bordet aus seinen interessanten Untersuchungen: „L'anaphylaxie n'est pas le contraire de l'immunité; c'est un fait secondaire, consécutif, c'est un accident qui peut resulter de la manifestation des phénomènes d'immunité et notamment de la réaction de l'anticorps avec l'antigène.“

1) Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, 1911, Beiheft, p. 49.

2) Sachs, Diskussionsbemerkung auf der 6. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1912. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, 1912, Beiheft, p. 248.

Zusammenfassung.

1) Es gelingt mit großer Regelmäßigkeit, durch Digerieren von Agar mit Meerschweinchenserum in Bestätigung der Angaben Bordets akut tödliches Anaphylotoxin zu erhalten.

2) Zur Anaphylatoxindarstellung erwies sich die Kombination von 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ -proz. Agarlösung mit 5 ccm Meerschweinchenserum als ausreichend.

3) Ein tödlich wirkendes Anaphylotoxin wurde bereits nach 1— $1\frac{1}{4}$ -stündigem Zusammenwirken von Agar und Meerschweinchenserum erhalten.

4) Die Bedeutung der Befunde für die Theorien der Anaphylaxie wird diskutiert. Wenn auch manche Ueberlegungen für den Ursprung des durch Agar und Meerschweinchenserum entstehenden Anaphylotoxins aus dem Meerschweinchenserum sprechen, so erscheint es doch noch zweifelhaft, ob man in dem durch Agar erzeugten Anaphylotoxin einen hinreichenden experimentellen Beweis für diese Anschauung erblicken darf.

Druckfehler-Berichtigung.

In der Arbeit von Kashiwabara, diese Zeitschr., Bd. 17, Heft 1, p. 27, muß es in der 2. Reihe des Textes nach den Protokollen 53° C anstatt 60° C heißen.

Nachdruck verboten.

The inhibiting effect of excess cow serum in complement fixation with infectious abortion ¹⁾.

By Dr. **Frank M. Surface.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Februar 1913.)

In the routine testing of the blood of a large number of cows for infectious abortion by means of complement fixation, we have not infrequently encountered a curious behavior with the blood of certain cows. This phenomenon consisted in the fact that tubes containing the larger quantities of the cow's serum, together with the specific antigen, did not show fixation of the complement while tubes containing smaller amounts of serum and the same amount of antigen gave complete fixation. For example, in the routine testing of cows we have ordinarily used four tubes containing respectively 0.2, 0.1, 0.05, and 0.02 c. c. of the cow's serum. The first tube is run as a control to which no antigen is added. With the serum of some cows the tube containing 0.1 c. c. of serum, together with the antigen gave 100 per cent haemolysis, the tube with 0.05 c. c. serum gave say 50 per cent haemolysis, while the last tube with only 0.02 c. c. serum showed complete fixation.

A similar phenomenon has been noted by other workers, but, so far as I am aware, the matter has never received a satisfactory explanation. As we shall see in a moment, the Neisser - Wechsberg "Komplementablenkung" will not explain this phenomenon. The following work was undertaken with the hope of getting nearer to the actual explanation.

1) From the Biological Laboratory of the Kentucky Agricultural Experiment Station, Lexington, Ky. U. S. A., Paper No. 5.

Before describing the succeeding experiments, a word should be said regarding the technic employed. This has been described in a previous paper¹⁾, and only the essential points are mentioned here.

The blood from the cow to be tested is drawn from the jugular vein and the serum allowed to separate over night in the refrigerator. Immediately before the test, the serum is inactivated by heating in a water bath at 56° C for thirty minutes.

The antigen has been prepared in various ways. In the earlier work, a bouillon culture of the *Bacillus abortus* Bang, was used. In later work, an antigen obtained by washing the growth from agar tubes with salt solution has been employed. With either antigen, the results are the same so far as the present work is concerned. In all cases, the antigen is titrated with an immune serum of known strength and five times the titre is the dose employed for each tube. It is also established that double the dose used, will not, of itself, prevent haemolysis. In the following work, unless otherwise stated, the antigen is from washed agar cultures diluted with salt solution until the titre is 0.05 c. c., and the amount added to each tube is 0.25 c. c.

The haemolytic system employed is sheep's blood vs. rabbit. The sheep's corpuscles are washed four times and 2 c. c. of the dense mass of corpuscles added to 100 c. c. of 0.85 per cent. salt solution making what we have called a 2 per cent. suspension. Onehalf c. c. of this suspension is added to each tube. Just before using, the corpuscles are loaded with five units of haemolytic rabbit serum. This haemolytic serum has a titre of 0.001 c. c. of the undiluted serum when titrated with 1.5 units of guinea-pig complement.

Fresh guinea-pig serum is used for complement. This is carefully titrated and 1.5 times the minimal lytic dose used.

The principal portion of the work reported in this paper has been done with the serum of one cow. This cow aborted about two months before this work was undertaken. On testing her blood, she showed the phenomenon referred to in the first paragraph above. This cow will be known in the following paper as Cow No. 1.

In the following table, the extended test of this cow's blood is given with reference to infectious abortion.

1) Surface, F. M., Ann. Rep. Ky. Agricultural Exper. Station, 1912, p. 303—366, Bull. No. 166.

Table No. I¹).
Titration of serum of Cow No. 1, for abortion amboceptors.

Cow serum 56°, 30 m. c. c.	NaCl 0,85 % c. c.	Compl. diluted 1 to 3 c. c.	Antigen c. c.		Haem. diluted 1 to 25 c. c.	Sheep corps 2 % c. c.		Result
0.5	1.0	0.06	0.25		0.15	0.5		++++ ²⁾
0.4	1.1	"	"		"	"		++++
0.3	1.2	"	"		"	"		++++
0.2	1.3	"	"		"	"		++++
0.15	1.4	"	"	1 hour at 37° C	"	"	2 hours at 37° C	+++
0.1	1.4	"	"		"	"		++
0.05	1.5	"	"		"	"		+
0.03	1.5	"	"		"	"		0
0.01	1.5	"	"		"	"		0
0.005	1.5	"	"		"	"		0
0.001	1.5	"	"		"	"		0
0.0008	1.5	"	"		"	"		0
0.0005	1.5	"	"		"	"		+
0.0003	1.5	"	"		"	"		++
0.0001	1.5	"	"		"	"		++++

From this table we note:

1) That in tubes with quantities of cow serum of 0.2 c.c. or greater, there is no fixation of the complement. The corpuscles in these tubes dissolve almost as readily as with only complement and haemolysin.

2) In the tubes containing 0.15 c.c. to 0.05 c.c. there is only partial fixation of the complement.

3) Tubes containing from 0.03 c.c. to 0.0008 c.c. of serum show complete fixation of the complement without a trace of solution.

4) With quantities of serum less than 0.0008 c.c., the complement is either only partially fixed or not at all.

The usual explanation offered for this phenomenon is similar to that devised by Neisser and Wechsberg³⁾ to

1) In order to save space the results of control tubes are not shown in the tables. It is to be understood, however, that in every instance sufficient controls were run to insure the proper action of each ingredient.

2) In this and the following tables, ++++ means complete haemolysis; +++ means partial haemolysis (ca. 70 per cent); ++ means approximately 50 per cent haemolysis; + trace of haemolysis, and 0, no haemolysis whatever.

3) Neisser, M., und Wechsberg, F., Münch. med. Wochenschr., 1901.

explain the effect of an excess of immune serum in bactericidal test tube experiments. It will be recalled that if an excess of immune serum is added no bacteriolysis will result. The explanation offered by the above writers is that the free amboceptors absorb the complement and do not allow it to unite with the bacteria. On first thought, the phenomenon described above appears to be a similar instance. A moment's consideration will show that such an explanation will not suffice in the present instance, at least not without important modification. If, in the present case, we assume that the free abortion amboceptors have absorbed the complement in the first part of the reaction, it is still necessary to further assume that after the addition of the sensitized corpuscles the complement changes its affinity and is freed from the abortion amboceptors and then attaches itself to the sensitized corpuscles producing the haemolysis.

Such an explanation is perhaps not impossible, but at the present time we hardly possess sufficient facts to warrant such assumptions regarding substances of which we know so little. It is not an easy matter to obtain direct evidence for or against this hypothesis. But the following experiment makes it practically certain that such an explanation does not hold in the present instance.

Cow No. 2 is a grade cow which has never aborted, so far as her history is known. Eight tests of her blood, by means of agglutination and complement fixation, have been made at intervals extending over a year. These tests have never shown the slightest trace of any abortion antibodies. The blood used in the following experiment was first subjected to the same test as detailed in table I, for Cow No. 1. With the serum of Cow No. 2 every tube showed complete haemolysis. Consequently, we may assume that the blood of this cow does not contain abortion amboceptors.

From table I, it will be seen that 0.005 c. c. of the serum of Cow No. 1, is sufficient to cause complete fixation of the complement. Accordingly, the following experiment was set up in which 0.005 c. c. of the serum of Cow No. 1 was added to each tube and then decreasing amounts of the serum of Cow No. 2. Since this latter blood did not contain abortion

amboceptors, the question of an excess of free abortion amboceptors, is out of the question. The other ingredients in the tubes were added in the same quantity and manner as given in table I.

Table No. II.

To test the effect of an excess of cow serum without abortion amboceptors.

Tube Number	Serum from Cow No. 1, heated at 56°C for 30 min. c. c.	Serum from Cow No. 2, heated at 56°C for 30 min. c. c.	Result
1	0.005	0.5	++++
2	"	0.4	++++
3	"	0.3	++++
4	"	0.2	++++
5	"	0.1	++++
6	"	0.05	++
7	"	0.02	+
8	"	0.01	0
9	"	0.005	0
10	"	—	0

From this table we note:

1) That in those tubes which contained relatively large amounts of the serum of Cow No. 2, there was complete solution of the corpuscles. Tubes 1 to 5.

2) When only a small amount of the serum of Cow No. 2 was added (tubes 6 to 9), or when none at all was used (tube 10) we obtained fixation of the complement due to the serum of Cow No. 1.

It is thus clear that this phenomenon is not due to an excess of the specific amboceptor. Similar experiments have been run using the blood of other cows in various combinations, and always with a similar result. Consequently, so far as our evidence goes, the essential point in inhibiting the fixation of the complement is to have an excess of cow serum. Apparently, the serum of one cow will answer as well as that of another.

According to the Ehrlich-Morgenroth hypothesis, the Neisser-Wechsberg phenomenon is essentially an anticomplementary action. That is, an anticomplement is assumed to be of the nature of a free amboceptor which has been cast off into the blood. Hence, we can see at once, that the objection cited above, viz: that the complement must be freed from its anticomplement in order to accomplish the haemolysis, is pertinent to any anticomplementary hypothesis.

Before discussing further explanations of this phenomenon, we may consider certain checks upon our technic, in order to be sure that the result is not an artifact.

In the first place, the amount of antigen added to the tubes has a considerable influence upon the titre of the serum. As shown in the following table, if we add various amounts of our standard antigen to tubes containing decreasing amounts of reacting cow serum, we can vary the point at which the fixation of the complement is inhibited.

Table No. III.
Effect of the amount of antigen upon complement fixation.

Serum of Cow No. 1, 56°, 30 min. c. c.	Amount of antigen				
	0.05 c. c.	0.1 c. c.	0.2 c. c.	0.3 c. c.	0.5 c. c.
0.5	++++	++++	++++	++++	++++
0.3	++++	++++	++++	++++	++
0.2	++++	++++	++++	+++	+
0.1	++++	++++	++++	++	0
0.05	++++	++++	++	+	0
0.03	++++	+++	+	0	0
0.01	+++	+	0	0	0
0.005	++	0	0	0	0
0.001	0	0	0	0	0

From this table we note, that as we increase the amount of antigen we may also increase the amount of serum and still obtain complete fixation. It is, however, evident that the only effect of varying the amount of antigen is to vary the apparent titre of the serum. With any amount of antigen which will not of itself prevent haemolysis, we can find an amount of cow serum which will prevent the fixation of the complement. The strength or the amount of antigen is in no sense a cause of this failure to fix the complement with large amounts of serum.

It is well known that in order for fixation of the complement to take place readily, it is necessary that a salt should be present, and, further, that the concentration of the serum has some effect upon the reaction. If the concentration of the serum in itself, were the cause of the inhibition of the fixation, we ought to be able to at least vary the point at which the inhibition takes place by the addition of varying amounts of salt solution.

Table No. IV.

The effect of salt solution upon the inhibition of complement fixation.

Serum Cow No. 1, 56°, 30 min. c. c.	Amount of 0.85 % NaCl			
	1.5 c. c.	2.5 c. c.	3.5 c. c.	5.0 c. c.
0.2	++++	++++	++++	++++
0.1	+++	+++	+++	+++
0.05	++	++	++	++
0.03	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0
—	++++	++++	++++	++++

From this table, it is clear that it is the actual amount of serum and not its concentration which prevents the fixation. 1.5 c. c. is the amount of salt solution ordinarily added to our tubes. There is not the least change in the titre of the serum if we add more than three times this amount of salt solution.

In the majority of the experiments, I have added 1.5 times the solving titre of the complement. It might of course be assumed that I have added too much guinea-pig complement, and that some remained after the saturation of the complement fixing amboceptors. Since the same amount of complement is added to each tube, it is not clear just why haemolysis should occur only in tubes with large amounts of cow serum, unless there is a complement still remaining in the cow serum after inactivation. This question will be considered in succeeding paragraphs, but in that discussion it will be of advantage to know just how much complement it is necessary to add in order to saturate the complement fixing amboceptors.

From table I (p. 489), we note that 0.005 c. c. of the serum of Cow No. 1, will cause complete fixation of the complement, and that further, it appears about midway between the two limits beyond which fixation will not occur. In the following table are shown the result of adding increasing amounts of guinea-pig complement to tubes containing 0.005 c. c. of the inactivated serum of Cow No. 1. A simultaneous titration of the complement showed that for the dose of haemolysin and corpuscles employed, 0.04 c. c. of a 1 to 3 dilution was just sufficient to cause complete haemolysis. 0.25 c. c. of the standard antigen was added to each tube and the tubes were incubated 1½ hours before adding the haemolytic system.

Table No. V.

Serum of Cow No. 1. 56°, 30 min.	Guinea-pig complement diluted 1-3	Result
0.005 c. c.	0.04 c. c.	0
id.	0.06 "	0
"	0.08 "	0
"	0.1 "	0
"	0.13 "	+
"	0.15 "	++
"	0.18 "	+++
"	0.2 "	++++

From this table, we see that with 0.005 c. c. of the cow serum and its antigen, it is necessary to add 0.2 c. c. of the complement dilution in order to produce complete haemolysis. Without the complement fixing system, 0.04 c. c. of the complement, will produce complete solution. Thus, this amount of cow serum is able to fix five times the titre of the complement, or, expressed quantitatively, that amount of serum will fix 0.16 c. c. of the complement dilution. If there is a complement in the inactivated cow serum, then we see by comparing table 1, that 0.2 c. c. of this cow serum must contain an amount of complement equal to at least 0.16 c. c. of the 1 to 3 guinea-pig serum. This matter will be considered further in the succeeding paragraphs.

We may note in passing, also, that if we use 1.5 times the complement titre, in this case 0.06 c. c., we still have a wide margin before the bacteriolytic system is saturated with complement.

In the preceding pages, we have shown that the failure to fix the complement with large amounts of cow serum is not due to the linking of the complement by free abortion amboceptors, i. e., it is not a Neisser-Wechsberg phenomenon. We have further shown that this inhibition of fixation is not dependent upon the strength or amount of the antigen, nor upon the concentration of the serum. Further, it is not due to a surplus of guinea-pig complement. We may now turn to the consideration of other possible explanations.

In the preceding pages it has been shown that there is something in normal cow serum which prevents the fixation

of guinea-pig complement by sensitized abortion antigen. We may next consider whether any of the guinea-pig complement is bound when large amounts of cow serum are present. To test this, I prepared three large tubes — A, B and C, each containing cow serum, antigen, salt solution and complement in the proportions used in regular tests. These proportions were as follows:

Tubes	Serum Cow No. 1, 56°, 30 min.	Antigen	NaCl	Complement
A	0.5 c. c.	0.25 c. c.	1.5 c. c.	0.05 c. c.
B	0.01 „	id.	id.	id.
C	—	„	„	„

The titre of the complement, without antigen, was 0.03 c. c. These tubes were incubated one and one-half hours and then varying amounts of the fluid, corresponding to definite amounts of complement, were placed in small tubes and sensitized sheep's corpuscles added. The results are shown in the following table:

Table No. VI.

Fluid corresponding to the following amounts of complement	Tube No.	A	B	C
	Serum	2.5 c. c.	0.05 c. c.	—
Antigen	1.25 „	1.25 „	1.25 c. c.	
NaCl	7.5 „	7.5 „	7.5 „	
Complement	0.25 „	0.25 „	0.25 „	
	Result after adding sensitized corpuscles			
0.01 c. c.		0	0	0
0.02 „		++	0	++
0.03 „		++++	0	++++
0.04 „		++++	0	++++
0.08 „		++++	0	++++

From this table we note that when serum in the proportion of 0.5 to 0.25 c. c., of antigen (Tube A) is used no guinea-pig complement whatever is absorbed by the mixture. The titre is the same as in the control (Tube C), with antigen alone. If a smaller amount of serum is employed as in Tube B, all the complement is absorbed.

If we persist in interpreting this phenomenon on the basis of Ehrlich's theories the most plausible explanation

is to be found in the assumption of an antiamboceptor in the cow's serum. That is, the results so far given could very easily be explained if there is something in normal cow serum which is able to unite with the abortion antigen-amboceptor complex and thus prevent the absorption of the guinea-pig complement. It is further necessary that this substance should have a greater affinity for the abortion amboceptor than has the guinea-pig complement. Such a substance would be of the nature of a complement or complementoid.

It will be remembered that in all these experiments we have used cow serum heated to 56° C for thirty minutes. Such a procedure ought to destroy all the complement. However in one of his earlier publications Ehrlich¹⁾ found a thermostable complement in the sera of certain cows as well as of a few other animals. I have tested the sera of a large number of cows for the presence of a haemolytic complement. The unheated sera of some cows at least, will dissolve sensitized sheep corpuscles when sufficient serum is added (ca. 1.0 c. c.). However I have never been able to produce the slightest haemolysis of sensitized sheep corpuscles with inactivated cow serum even in doses of 2.5 c. c. serum to 0.5 c. c. of 2 per cent sheep corpuscles. There is then no thermostable haemolytic complement, for the system employed, in the sera of the cows used in these experiments.

Continuing to reason upon Ehrlich's hypothesis we may assume that by heating cow serum to 56° for 30 minutes we have simply injured or destroyed the toxophore group of the complement, but left the haptophore group intact. That is, we have in place of a complement a complementoid. This complementoid would then be able to unite with the sensitized bacteria and prevent the union of the guinea-pig complement. If such were the case we ought also to obtain a union of this complementoid with sensitized sheep corpuscles. In this connection I give the two following experiments. The serum used was from Cow No. 2 (cf. p. 490).

1) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1899.

Table No. VII.

Serum Cow No. 2 unheated. c. c.	NaCl. c. c.	Haem. c. c.	Corps. c. c.	Result	Compl. (Titre 0.03) c. c.	Result
0.5	1.1	0.25	0.5	Compl. aggl.	0.045	0
0.3	1.3	"	"	id.	"	0
0.2	1.4	"	"	Nearly completed	"	+
0.1	1.5	"	"	Partial aggl.	"	++
0.05	1.5	"	"	id.	"	+++
0.02	1.5	"	"	"	"	++++
Same serum 56° C, 30 min.						
0.8	0.8	0.25	0.5	Slight aggl.	0.045	++++
0.5	1.1	"	"	id.	"	++++
0.3	1.3	"	"	No aggl.	"	++++
0.2	1.4	"	"	id.	"	++++
0.1	1.5	"	"	"	"	++++
0.05	1.5	"	"	"	"	++++
0.02	1.5	"	"	"	"	++++

From this table we note:

1) That sensitized sheep corpuscles will become saturated with cow complement when as much as 0.3 c. c. of unheated cow serum is used.

2) With the larger amounts of unheated cow serum we get very marked and rapid agglutination of the sensitized corpuscles (Conglutination of Bordet and Streng).

3) On the other hand there is practically no agglutination with the inactivated serum and further the corpuscles dissolve very rapidly on the addition of guinea-pig complement. Solution was complete in all tubes at the end of ten minutes.

It is thus clear that so far as haemolysis is concerned there is no complementoid in inactivated cow serum capable of preventing the action of the guinea-pig complement. This is an argument against the existence of such a substance in connection with the abortion amboceptors.

We may next discuss the effect of heating reacting cow serum to various temperatures. Holth¹⁾ has shown that the abortion amboceptors may be heated as high as 65° C with

1) Holth, Halfdan, Zeitschr. f. Infektionskrankheit. usw., Bd. 10, 1911.

only a slight loss of complement fixing ability but that 70° C is about the critical point.

Table No. VIII.
Effect of heat upon the inhibition of complement fixation.

Serum of Cow No. I	Heated 56° C for ½ hr.	Heated 62° C for ½ hr.	Heated 65° C for ½ hr.
0.8	++++	++++	0
0.5	++++	++++	0
0.3	++++	++++	0
0.2	++++	+++	0
0.1	++	++	0
0.05	+	+	0
0.02	0	0	0
0.01	0	0	0
0.001	0	0	0
0.0008	0	0	++
0.0005	+	+	++++

From this table it is seen:

1) That heating to 62° C does not perceptibly change the titre of the serum from what it is when heated to 56° C. The points between which complete fixation occur are the same in either case.

2) If the serum is heated to 65° C for 30 minutes the inhibition of fixation with large amounts of serum is completely locking.

3) There is a slight loss of amboceptors in serum heated to 65° C. Thus 0.0005 c. c. serum heated to 56° or 62° had sufficient amboceptors to bind practically all the complement, but when heated to 65° C this amount of serum permitted complete haemolysis.

Undiluted cow serum heated to 65° for 30 minutes shows considerable cloudiness, due to partial coagulation. Control tests however show that such serum without the abortion antigen will not fix the complement. Further, if we first dilute the serum in the proportion of 1 part of serum to 5 parts of salt solution, no such coagulation takes place on heating to 65°. On testing such serum with antigen the results are the same as shown above (Table VIII). The fixation with serum heated to 65° C is due to the presence of abortion amboceptors and not to any change in the serum caused by the heating.

These results can be readily interpreted as due to an antiamboceptor in the cow serum which has a special affinity for the abortion amboceptor but which will not unite with the haemolytic system used. This antiamboceptor will withstand heating to 62° C but is destroyed by heating at 65° C for 30 minutes. Whether this antiamboceptor is of the nature of a thermostable bacteriolytic complement, or a complementoid, has not been determined.

If this antiamboceptor of the cow serum is destroyed by heating to 65° C and the amboceptor alone remains, we ought to be able to again inhibit the fixation by adding decreasing amounts of normal cow serum (56° C, 30 min.) to tubes containing small doses of serum heated to 65° C. The following table shows the result of such an experiment. It will be remembered that the serum of Cow No. 2 does not contain abortion amboceptors.

Table No. IX.

Serum of Cow No 1 65°, 30 min. c. c.	Serum of Cow No. 2 56°, 30 min. c. c.	Result
0.01	1.5	++++
0.01	1.0	++++
0.01	0.5	0
0.01	0.3	0
0.01	0.2	0
0.01	0.1	0
0.01		0

Thus we see that it is entirely possible to bring about the inhibition of haemolysis by adding inactivated (56° C) serum to reacting serum which has been heated to 65°. The behavior is exactly what would be expected if we were adding an antiamboceptor.

If this inhibition of fixation is due to the presence of an antiamboceptor we ought to be able to absorb this from the serum along with the abortion amboceptors. The following tables give the results of such experiments. The antigen used in these cases was a rather dense suspension of the abortion bacilli in salt solution. This antigen had a titre of 0.02 c. c. when tested with 0.005 c. c. of the serum of Cow No. 1. Six 15 c. c. centrifuge tubes were made up as indicated at the heads of the columns numbered A, B etc. (cf. tables X and XI).

These tubes were incubated one and one-half hours and then were centrifuged hard (ca. 6000 rev. p. m.) for 40 minutes. This threw down almost all the suspended bacteria. There were no doubt a few remaining but the supernatant fluid was perfectly clear. This fluid was carefully pipetted off and tested for its amboceptor content as well as for its power to inhibit fixation. 0.25 c. c. of the regular antigen was added to each tube, together with 0.05 c. c. complement. After one hour sensitized corpuscles were added. Sufficient quantities of the fluid were taken in each case to be equivalent to the actual amount of serum shown in column 1 of table X. The volume in the tubes were made equal except in cases where the total volume of the fluid was over 3 c. c. The serum in every case was from cow No. 1 and inactivated at 56° for 30 minutes.

Table No. X.

Titration of cow serum previously treated with abortion antigen.

Amount of serum. (Allowance made for the dilution in each case) c. c.	Tube No.	A	B	C	D	E
		Serum	5.0 c. c.	2.5 c. c.	1.0 c. c.	0.3 c. c.
	Antigen	2.0 "	2.0 "	2.0 "	2.0 "	—
	NaCl	7.0 "	9.5 "	11.0 "	11.7 "	11.5 c. c.
	Result of testing centrifuged fluid. 0.25 c. c. regular antigen added to each tube.					
0.3		++	0	+	---	+++++
0.2		+	0	+++	+++++	+++
0.1		0	0	+++	+++++	+
0.05		0	0	+++++	+++++	0
0.03		0	0	+++++	+++++	0
0.01		0	0	+++++	+++++	0
0.005		++	+++++	+++++	+++++	0
0.001		+++++	+++++	+++++	+++++	+++

From this table we note:

1) By comparing column A with column E we see that treating the serum with antigen has lowered the amboceptor content. In the control tube E, 0.005 c. c. of serum gave complete fixation while in A, 0.005 c. c. gave only partial fixation.

2) We further note from these two columns that a portion of the antiamboceptors have also been absorbed. Thus in A, 0.3 c. c. serum gives only partial haemolysis, while in E it gives complete solution.

3) In B where a smaller amount of serum was digested with the same amount of antigen, we find that relatively more amboceptors and antiamboceptors have been absorbed.

4) In columns C and D practically all the amboceptors have been absorbed, giving complete haemolysis in nearly all tubes.

We may next test this treated antigen from the above centrifuge tubes. This antigen should be saturated, in some tubes at least, with the abortion amboceptors. Further it should have absorbed a considerable amount of the anti-amboceptor in the tubes with the larger amounts of serum.

As noted above this antigen was removed from the serum by centrifuging. It was then washed twice with 10 c. c. of salt solution to remove all traces of serum. After the last washing the antigen was resuspended in 10 c. c. of salt solution making a dilution of the original antigen of 1 to 5.

Decreasing amounts of this treated antigen from each centrifuge tube were added to test tubes containing salt solution and complement. After incubating $1\frac{1}{2}$ hours, sensitized sheep corpuscles were added. The results are shown in the following table.

Table No. XI.

Titration of antigen previously treated with various amounts of reacting cow serum.

Antigen cen- trifuged from tubes and washed twice	Tube No.	A	B	C	D	F
Serum		5.0 c. c.	2.5 c. c.	1.0 c. c.	0.3 c. c.	—
Antigen		2.0 „	2.0 „	2.0 „	2.0 „	2.0 c. c.
NaCl		7.0 „	9.5 „	11.0 „	11.7 „	12.0 „
Amount of original Antigen c. c.	0.05 c. c. guinea-pig complement added to each of the following tubes. Sensitized sheep corpuscles added after $1\frac{1}{2}$ hours					
0.1		0	0	0	0	0 ¹⁾
0.08		+	0	0	0	0
0.06		++	+	0	0	0
0.05		+++	++	0	0	0
0.04		++++	++++	+	++	+
0.03		++++	++++	++++	++++	++
0.02		++++	++++	++++	++++	++++
0.01		++++	++++	++++	++++	++++
0.005		++++	++++	++++	++++	++++

1) 0.005 c. c. inactivated serum of Cow No. 1 added to each tube in this column. Controls without serum gave complete haemolysis in very tube.

From this table we note:

1) That it is necessary to add the equivalent of 0.1 c. c. of the original antigen from tube A in order to get complete fixation.

2) In tube C where the same amount of antigen was digested with only one fifth the serum used in tube A it is necessary to add only one-half the amount of antigen, viz: 0.05 c. c., to get complete fixation.

3) In tube D where a still smaller amount of serum was used the results are similar to C, except that here apparently there were not sufficient amboceptors to saturate the rather large amount of antigen.

4) The control tube F indicates that in tube C the antigen was saturated with amboceptors but that there were not enough anti-amboceptors to interfere with the fixation of the complement.

5) These results are best explained by assuming that the antigen, in addition to absorbing the specific amboceptor, has also absorbed the anti-amboceptor. In those tubes where sufficient serum was present the complementophile groups of the amboceptors have been plugged by the anti-amboceptor.

In the preceding paragraphs we have shown that an excess of cow serum will prevent the fixation of guinea-pig complement by sensitized abortion antigen. We have shown that this occurs independently of whether the cow is or is not infected with the disease. We have further shown that the phenomenon can readily be explained by the assumption of a thermostable anti-amboceptor in cow serum having a marked affinity for the abortion amboceptor.

We may now consider briefly whether this phenomenon may not also be explained on some other hypothesis.

So far as the writer can see the facts, the hypothesis of Neufeld and Händel¹⁾ that the fixation of complement is due to a special amboceptor (Bordet amboceptor) does not aid us in interpreting the above results.

According to the view of Bordet and his school the complex formed by the union of antigen and antibody is ca-

1) Neufeld und Händel, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, 1908, p. 197—213.

pable of absorbing the complement after the method of molecular adhesion. They do not admit the existence of a chemical interbody with two affinities. Thus Bordet believes that the complement is fixed by means of the specific precipitate formed by the union of antigen and antibody. Further Bordet does not admit the existence either of more than one kind of complement or of complementoids.

That complement can be absorbed by specific precipitates is no longer doubted but there is a great difference of opinion as to whether this is the explanation of all complement fixation. Moreschi¹⁾ and Moreschi and Pfeiffer²⁾ in 1906 advanced the view that complement fixation was due to the precipitate. In the previous year Gay³⁾ had shown that the Neisser-Wechsberg phenomenon was capable of explanation in this manner. Muir and Martin⁴⁾, Klein⁵⁾ and others advanced views which tended to show the relation of precipitation and complement fixation.

On the other hand Neisser and Sachs⁶⁾, Friedberger⁷⁾ and others were able to obtain fixation under conditions in which no visible precipitate was formed. Dean⁸⁾ has recently reviewed this subject and studied the relationship between precipitation and complement fixation. Dean has been able to show 1) that there is a definite relationship between these two phenomena, especially when precipitating sera and their antisera are used. He has always found that when fixation occurs there is also a precipitate formed. In many cases this precipitate is very slight in amount and unless special care is taken it may easily escape observation. 2) He has further shown that the conditions which are most favorable for the formation of a rapid and large precipitate are not favorable for complement fixation. He believes that the most favorable conditions for complement fixation are where slow and incomplete precipitation occurs. In such cases the individual particles of the precipitate are extremely small and he suggests that there may be a relationship between the increased surface thus offered and the fixation of the complement.

1) Moreschi, C., *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 38, 1906, Beiheft, p. 96.*

2) Moreschi und Pfeiffer, *Berl. klin. Wochenschr., 1906, p. 35.*

3) Gay, F. P., *Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 19, 1905, p. 593; Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 39, 1905.*

4) Muir, R., and Martin, W. B. M., *Journ. of Hyg., Vol. 6, 1906.*

5) Klein, A., *Wiener klin. Wochenschr., 1905, p. 1261.*

6) Neisser, M., und Sachs, H., *Berl. klin. Wochenschr., 1905, p. 1388.*

7) Friedberger, E., *Deutsche med. Wochenschr., 1906, p. 578.*

8) Dean, H. R., *Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Teil I, Orig., Bd. 13, 1912, p. 84.*

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XVII.

In my experience, infectious abortion is not a good subject for the study of precipitation, at least with the antigens I have used. There is, however, very marked agglutination and to some extent precipitation even using serum heated to 56° C. I have attempted to see if I could discover any relation between the inhibition of fixation and precipitation. So far I have not been able to do this to any marked extent. Thus if we prepare several tubes containing salt solution and reacting cow serum (Cow No. 1 — 56° C, 30 minutes) in the proportion of 0.5, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 and 0.02 c. c. together with 0.25 c. c. of the antigen, we find that agglutination begins to show after about 2 hours incubation but it appears almost simultaneously in all the tubes.

Further it is probable from the data given in table No. II (p. 491) that a specific precipitate, at least, is not responsible for the inhibition. It was shown there that fixation could be inhibited by the addition of a non-reacting serum. We have no reason to believe that the addition of a non-reacting serum will increase either the rapidity or the amount of the specific precipitate or that it would cause the formation of larger flocculi.

It would appear, therefore, that the cause of this inhibition is to be found in some property inherent in cow serum and is not dependent upon the presence or absence of the specific abortion antibodies.

We know that cow serum possesses certain peculiar properties not found in the majority of other sera. One of these is the conglutinin first discovered by Bordet and Gay¹⁾ and studied more especially by Bordet and Streng and others. It is not impossible that the phenomena described in this paper may bear some relation to conglutination. This phase of the subject is now being studied and will be reported in a subsequent paper.

One further point of some practical importance in the use of complement fixation for the diagnosis of this disease may be pointed out. As has been noted already, the amount of serum necessary to inhibit fixation varies with different

1) Bordet, J., and Gay, F. P., *Annales de l'Inst. Pasteur*, T. 22, 1908, p. 625.

cows. We further know that the sera of different cows differ in their content of complement fixing amboceptors. From this it follows that if we use either too much or too little serum we will get a negative reaction, whereas with the proper amount of serum the cow would have shown a positive reaction. The following table is selected from tests of a large number of cows.

Table No. XII.
Titration of the sera from different cows.

Amount of serum ccm	Cow No.								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
0.8	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0.5	++++	++++	++	++++	++++	++++	+++	++++	++++
0.4	++++	++++	+	++	++	++++	0	+++	++++
0.3	++++	+++	0	0	+	++++	0	++	++++
0.2	+++	++	0	0	0	++	0	+	++++
0.1	+	0	0	0	0	0	0	0	++++
0.08	0	0	+	0	0	0	0	0	++
0.05	0	0	+++	0	+++	0	0	0	+
0.03	0	0	++++	0	++++	0	0	0	0
0.01	0	0	++++	0	++++	++	0	0	0
0.008	0	0	++++	0	++++	+++	++	0	0
0.005	0	+	++++	0	++++	++++	++++	0	0
0.003	0	++		0				++	++
0.001	+	++++		0				++++	++++
0.0008	+++	++++		++				++++	++++
0.0005	++++	++++		+++				++++	++++

From this table we see that in order to be certain as to whether a cow shows any reaction or not it is necessary to use a number of tubes with different amounts of serum.

It further shows that the use of tubes containing 0.2, 0.1, 0.05 and 0.02 c.c. of serum, which we have adopted in our routine work, will be very likely to show any trace of a positive reaction if such exists.

Zusammenfassung.

Ein Ueberschuß des Kuhserums in der Komplement-
ablenkungsreaktion bei infektiösen Abortus wirkt hemmend:
es werden die Ursachen dieser Hemmungswirkung und die
dabei in Betracht kommenden quantitativen Verhältnisse näher
untersucht.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Die Bildung eines akut wirkenden Giftes (Anaphylatoxin) aus Toxinen (Tetanus, Diphtherie, Schlangengift).

(Ueber Anaphilaxie. XXXIV. Mitteilung.)

Von E. Friedberger, S. Mita und T. Kumagai.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Februar 1913.)

I. Einleitung.

Auf der Naturforscherversammlung in Königsberg¹⁾, auf der Friedberger auf Grund umfassender Versuche über den engen Zusammenhang zwischen Ueberempfindlichkeit und Infektion berichtete und die „Anaphylaxie als eine akutere Form der Infektion, die Infektion als eine protrahierte mildere Form der Anaphylaxie“ auffaßte, glaubte er ausdrücklich noch die Toxikosen, Diphtherie und Tetanus, für diese Betrachtungsweise ausschließen zu sollen.

Im folgenden Jahre konnte aber bereits wiederum über Versuche berichtet werden²⁾, auf Grund deren die früher gemachte Einschränkung nicht als unbedingt notwendig erschien. Näheres über diese Versuche ist auf der Naturforscherversammlung in Karlsruhe im September 1911 mitgeteilt³⁾.

Friedberger berichtete hier über Versuche mit S. Mita, in denen es gelungen war, regelmäßig aus gewissen Dosen von Tetanustoxin durch die Bebrütung mit normalem Meer-schweinchenserum ein für die gleiche Tierspecies akut tödliches Gift vom Charakter des Anaphylatoxins zu erhalten.

1) Vgl. auch Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32 u. 42; Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 50; Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 4, 7 ff. (Verhandlg. d. Vereins f. inn. Med.); Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, Heft 1, 2 (18. Mitteilung, Schlußbetrachtung).

2) Friedberger u. Schütze, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 9.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 42.

Die Giftabspaltung gelang nicht bei Verwendung inaktiven Serums. Daß das Gift tatsächlich aus dem „Toxin“ selbst, d. h. jenem Bouillonkulturfiltrat, das der Träger der charakteristischen Giftwirkung ist, stammt, konnte experimentell erwiesen werden.

Es lag ja zunächst nahe, die Anaphylatoxinbildung auf die sekundäre Verunreinigung mit saprophytischen Bakterien zurückzuführen, wie das von Dold und Ungermann¹⁾ geschehen ist, die bei entsprechenden Versuchen nur dann eine Giftbildung sahen, „wenn stärkere bakterielle Verunreinigung der Flüssigkeit vorlag“. Unter anderen Bedingungen erhielten sie das Gift nicht, und sie wenden sich daher gegen die Ansicht, „daß es sich bei der Einwirkung des Komplementserums auf das Toxin um einen tiefergreifenden Eiweißabbau, wie er für die Anaphylatoxinbildung aus Eiweiß angenommen wird, handelt“. [Diese Autoren beobachteten aber, in Uebereinstimmung mit älteren Versuchen von de Waele²⁾, daß durch Digerierung von Toxin mit Komplement die Inkubationszeit verkürzt wird, was sich auch aus denjenigen unserer Versuche ergibt, in denen akuter Tod nicht eintritt.] Da aber, wie bereits in der vorerwähnten Arbeit (Berl. klin. Wochenschr. 1911 No. 42) von uns mitgeteilt wurde, die Anaphylatoxinbildung auch unter aseptischen Kautelen gelingt, so ist der Einwand von Dold und Ungermann hinfällig.

In dem zitierten Vortrag Friedbergers ist ferner bereits die Möglichkeit diskutiert, daß das Anaphylatoxin sich aus dem Pepton des Nährbodens bildet, daß dem Bakterientoxin anhaftet. Wie nämlich Mita und Friedberger³⁾ zuerst gezeigt haben, gelingt es aus Wittepepton akut wirkendes Anaphylatoxin abzuspalten⁴⁾.

Auch Besredka hat aus Pepton Anaphylatoxin erhalten; jedoch merkwürdigerweise nur, wenn er es vorher mit Nähr-

1) diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, p. 86.

2) Ibid., Bd. 3, 1909, p. 478.

3) Deutsche med. Wochenschr., 1911; Votr. Verein f. innere Med., 9. Jan. 1911, Diskussion.

4) Besredka teilt diese Tatsache in Unkenntnis unserer Versuche 2 Jahre später als neu mit; Doerr schreibt sie zu Unrecht gleichfalls diesem Autor zu (Centralbl. f. Bakt., Bd. 67, H. 1/2).

agar mischte. Die Annahme, daß zur Giftabspaltung eine Bindung an Agar notwendig ist, entspricht aber, wie sich aus den Versuchen von Friedberger und Mita ergibt, nicht den Tatsachen. Die Peptonmengen, die notwendig sind, um Anaphylatoxin abzuspalten, sind bedeutend höher, als diejenigen Dosen des Tetanustoxins, aus denen die Anaphylatoxinbildung gelingt.

Aronson¹⁾, der im übrigen unsere Versuche bestätigte, gibt an, nur aus erheblich größeren Mengen von Tetanusgift Anaphylatoxin erhalten zu haben. Bei ihm gaben dann auch entsprechende Mengen von Trockenbouillon ein akutes Gift. Es dürfte das darauf zurückzuführen sein, daß vielleicht in den Versuchen von Aronson nur ein relativ schwach wirksames Tetanusgift zur Verwendung kam, so daß also seine getrocknete Tetanusbouillon sich nicht sehr unterscheiden mochte von der gewöhnlichen Nährbouillon. Wenn das Gift wirklich aus dem Nährmedium stammte, so wäre es nicht zu verstehen, weshalb bei etwas größeren Dosen der Giftmatrix, bei denen der akute Tod ausbleibt, regelmäßig eine Beschleunigung der **spezifischen** Giftwirkung eintritt, die doch nur schwerlich durch das Nährsubstrat und die Veränderungen, die es unter dem Einfluß des Komplements erleidet, eine Erklärung finden kann. Aber der ganze Einwand wird, wie Friedberger schon bei anderer Gelegenheit hervorgehoben hat²⁾, dadurch widerlegt, daß die Giftbildung nicht nur aus Tetanusgift und Diphtheriegift gelingt, sondern auch aus Schlangengift, bei dem ja die Intervention eines Nährmediums überhaupt ausgeschlossen ist.

Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß im Reagenzglas aus den sogenannten Toxinen durch die Einwirkung des normalen Blutserums sich ein akut tödliches Anaphylatoxin abspalten läßt, das nun bei längerer Einwirkung des Serums in völlig atoxische Komponenten abgebaut wird. Dabei müssen wir es freilich dahingestellt sein lassen, welcher Bestandteil in jenem Gemenge von Bakterien-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1912.

2) Ibid., Verhandl. der Berl. Mikrobiol. Ges. Sitzung v. 28. März 1912 *ibid.*

stoffwechselprodukten in Bouillonkulturen, das wir mit dem Namen Toxin bezeichnen, es ist, aus dem sich das Anaphylatoxin bildet. Diese Frage muß so lange unentschieden bleiben, als wir über die wahre Natur des Toxins nichts wissen.

Ebenso wenig vermögen sie zu sagen, welche Anteile des als „Gift“ bezeichneten Sekrets der Speicheldrüse der Cobraschlange als Muttersubstanz des Giftes in Frage kommen.

Friedberger hat schon in seinem vorerwähnten Vortrag darauf hingewiesen, wie sehr die Bedingungen im Tierkörper denen im Reagenzglas bei unserer Versuchsanordnung entsprechen, und so dürfen wir annehmen, daß auch bei den echten Toxikosen das Anaphylatoxin eine Rolle spielt. Es wurde dabei offen gelassen, „ob daneben noch besondere spezifische Gifte bestehen, oder ob auch die für die einzelnen Toxine charakteristische differente Wirkung, wenigstens zum Teil, nur durch die besonderen Bedingungen der Giftbildung und durch besondere biologische Verhältnisse der Erreger verursacht ist.“

Es wurde damals der Versuch unternommen, die Antitoxinwirkung befriedigend unter den gleichen Prinzipien zu erklären, wie die Wirkung der Antieiwässer im allgemeinen, und Friedberger glaubte auf Grund der Versuche annehmen zu sollen, daß der scharfe Unterschied, den man bisher zwischen antitoxischen und antibakteriellen Seris gemacht hat und dementsprechend auch zwischen den homologen Antigenen, nicht berechtigt erscheint. Der Prozeß der Einwirkung eines Antiserums auf das homologe Eiweiß besteht unter Mitwirkung des Komplements darin, daß zunächst ein Gift gebildet wird und dies wieder in ungiftige Spaltprodukte weiter zerlegt wird.

„Es ist nun ohne weiteres klar, daß die Entgiftung über ein besonderes giftiges Zwischenprodukt hinaus zu ungiftigen Spaltprodukten um so leichter gelingen muß, je kleiner bei einer gewissen konstanten Antiserummenge die Antigendosis ist. Daher ist die Entgiftung, so paradox das zunächst erscheinen mag, am vollständigsten gerade bei den besonders toxischen Eiweißkörpern, bei denen die als tödliche Dosis im

biologischen Versuch oder in natürlichen Infektionsverhältnissen in Frage kommende Eiweißmenge eine sehr geringe ist.

Denn die Leichtigkeit der Entgiftung hängt ja nicht von der primären Giftigkeit ab, sondern von der relativen Menge des zu entgiftenden Eiweißkomplexes. Je kleiner die toxische Eiweißmenge ist (und gerade bei giftigem Eiweiß ist sie immer ja sehr klein), um so leichter ist die Entgiftung, die hier sogar ganz gesetzmäßig verlaufen kann, nämlich nach dem bekannten Ehrlichschen Gesetz der multiplen Proportionen.

Bei an sich relativ ungiftigem Eiweiß aber (Bakterienleiber, artfremde Sera höherer Tiere usw.) ist die tödliche Dosis natürlich eine enorm viel höhere und dementsprechend die Entgiftung durch Immuneserum viel schwieriger.

Hier kommt es meist nur bis zum partiellen Abbau in die akut toxischen Spaltprodukte (Anaphylatoxin).“

„Je ungiftiger jedoch ein Eiweiß an sich ist, um so größere Dosen man dementsprechend zur toxischen Wirkung nötig hat, um so schwerer ist die Entgiftung des dann reichlich entstehenden Anaphylatoxins auch durch große Mengen von Immuneserum.“

„Deshalb kann man wohl gegenüber Bakteriengiften, Schlangengift, Aalserum usw. mit Antiserum leicht eine antitoxische Wirkung nach dem Gesetz der Multipla erzielen, nicht aber z. B. gegenüber Hammelserum. Wenn man aber bei relativ wenig giftigem Eiweiß nicht die tödliche Dosis zum Maßstab nimmt, sondern mit den minimalen, fiebererzeugenden Mengen arbeitet, so gelingt es auch, derartiges Antiserum zu entgiften. Solche Versuche haben wir z. B. mit der fiebererzeugenden Dosis von Tuberkelbacillen und Antituberkuloseserum angestellt. Es ergab sich, daß es durch das Immuneserum gelingt, allerdings bei Verwendung großer Mengen, die fiebererregende Wirkung ganz nach denselben Gesetzmäßigkeiten zu neutralisieren, wie wir das bezüglich der tödlichen Dosis von Toxin durch das Antitoxin kennen.“ (Berl. klin. Wochenschr. No. 42.)

Im Nachstenden lassen wir nun die Versuche folgen, die mit verschiedenen „Toxinen“ angestellt wurden.

II. Ueber die Anaphylatoxinabspaltung aus Tetanusgift und Diphtheriegift.

Von **E. Friedberger** und **S. Mita**.

Zu den Versuchen, über die im nachstehenden berichtet wird, diente ein Tetanusgift des Frankfurter Instituts für experimentelle Therapie, das wir der Liebenswürdigkeit von Exzellenz Ehrlich verdanken.

Es handelt sich um ein Trockengift, das wir in Kochsalzlösung gelöst und durch Chamberlandkerzen filtriert benutzten. Es folgt zunächst eine Versuchsreihe über Abspaltung des akut wirkenden Anaphylatoxins aus diesem Tetanustoxin. In den Kontrollproben wurden gleiche Mengen des gleichen Giftes anstatt mit normalem Meerschweinchenserum mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt.

I. Versuch der Anaphylatoxinabspaltung aus Tetanustoxin.

0,2 g trockenen Tetanustoxins wurden in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, dann durch eine Kerze filtriert. Von diesem Filtrat wurden zwei Reihen mit je folgenden Mengen hergestellt:

0,01	0,00001
0,005	0,000005
0,0001	0,000001
0,00005	0,0000005

Die eine von diesen zwei Reihen wurde je mit 4,0 ccm Komplement und die andere je mit 4,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt, 1 Stunde bei 37° C und dann 24 Stunden in Zimmertemperatur stehen gelassen. Diese Mischungen wurden alsdann zentrifugiert und auf ihre Giftigkeit geprüft.

Auswertung. 18. II. 11.

Meerschweinchen M 394, 200 g.

12²⁴ 0,01 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Keine ernstern Erscheinungen nach der Injektion. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 396, 180 g.

12³⁵ 0,005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Sofort Krämpfe und Sprünge.

12³⁷ Legt sich. Reflexe erloschen.

12³⁹ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht; Herz schlägt noch 20 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 398, 200 g.

12⁵⁰ 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Sofort Krämpfe und Sprünge.

12⁵³ Legt sich, Schaum aus der Nase.

12⁵⁴ Reflexe erloschen. Agonale Atmung.

12⁵⁶ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, hyperämisch, Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 400, 180 g.

1⁹ 0,00005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Sofort Krämpfe und Sprünge.

1¹⁰ Legt sich. Reflexe erloschen.

1¹¹ Agonale Atmung.

1¹² Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht; Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 402, 200 g.

1²⁰ 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Sofort sehr dyspnoisch und deutlich krank.

Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 405, 190 g.

1³⁷ 0,000005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Gleich nach der Injektion sehr dyspnoisch und deutlich krank.

Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 406, 190 g.

1⁶⁵ 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Keine schweren Erscheinungen.

Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 392, 180 g.

10³⁰ 0,0000005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv.

10³² Sehr dyspnoisch, sträubt die Haare.

Tod in der Nacht zum 19. II.

Kontrollversuche. 18. II. 11.

Meerschweinchen M 393, 180 g.

11⁰⁰ 0,01 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Sofort sehr dyspnoisch.

11⁰² Sträubt die Haare, ab und zu Krämpfe. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 395, 200 g.

12³⁰ 0,005 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 397, 180 g.

12⁴⁵ 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 399, 200 g.
 12⁶⁶ 0,00005 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 401, 190 g.
 1¹⁵ 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 403, 190 g.
 1²⁶ 0,000005 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv.
 1²⁷ Sehr dyspnoisch, deutlich krank. Tod in der Nacht zum 19. II.

Meerschweinchen M 404, 190 g.
 1⁵⁰ 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Tier ganz munter nach der Injektion. Im Verlauf von 2 Stunden gestorben.

Sektionsbefund: Lunge ziemlich stark aufgebläht, stark ekchymosiert, Herzblut flüssig, Totenstarre nicht deutlich.

Meerschweinchen M 391, 180 g.
 10⁴⁶ 0,0000005 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung iv. Keine ersten Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 19. II.

In der nachstehenden Tabelle sind die Resultate der Versuche noch einmal übersichtlich zusammengestellt; aus ihr ergibt es sich, daß durch Digerierung mit Komplement sich aus gewissen, nicht zu großen und nicht zu kleinen Mengen von Tetanustoxin ein akut wirkendes Gift abspalten läßt. Ohne vorherige Digerierung mit Komplementserum gelingt das dagegen in keinem Fall. Nur bei einem Tier (Meerschweinchen M 404) haben wir einen subakuten Tod zu verzeichnen.

I. Versuch.

No. des Tieres	Körpergewicht	Dosis des Tetanusgiftes (Trockengift)	Zusatz zum Gift	Resultat
M 394	200	0,01	4,0 Kompl.	tot in 1 Tag
M 396	180	0,005	dgl.	tot in 4 Min.
M 398	200	0,0001	"	tot in 5 Min.
M 400	180	0,00005	"	tot in 3 Min.
M 402	200	0,00001	"	tot in 1 Tag
M 405	190	0,000005	"	dgl.
M 406	190	0,000001	"	"
M 392	180	0,0000005	"	"
M 393	180	0,01	4,0 NaCl	tot in 1 Tag
M 395	200	0,005	dgl.	dgl.
M 397	180	0,0001	"	"
M 399	200	0,00005	"	"
M 401	190	0,00001	"	"
M 403	190	0,000005	"	"
M 404	190	0,000001	"	tot in 2 Std.
M 391	180	0,0000005	"	tot in 1 Tag

Die folgende Versuchsreihe entspricht in ihrer Anordnung im wesentlichen der voraufgehenden; nur wurde in der Kontrollserie an Stelle von physiologischer Kochsalzlösung inaktiviertes Meerschweinchenserum zur Digerierung benutzt.

II. Versuch der Anaphylatoxinspaltung aus Tetanustoxin.

0,2 g trockenen Tetanusgiftes wurden in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, dann durch eine Kerze filtriert. Von dem Filtrat wurden zwei Reihen mit je folgenden Mengen hergestellt:

0,01	0,00005
0,005	0,00001
0,001	0,000005
0,0005	0,000001
0,0001	0,0000005

Die eine von diesen zwei Reihen wurde je mit 4,0 ccm Komplement und die andere je mit 4,0 inaktiviertem Meerschweinchenserum (gleiche Mischung) versetzt, dann 1 Stunde bei 37° C und danach 24 Stunden in Zimmertemperatur stehen gelassen. Alsdann wurden diese Mischungen zentrifugiert und die obenstehende klare Flüssigkeit auf Giftigkeit geprüft.

22. II. 11. Meerschweinchen M 422, 200 g.

4²⁹ 0,01 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Tier zeigt keine ersten Erscheinungen, bis auf Dyspnoë.

23. II. 11. 12³⁰ Tod unter dem typischen Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht, innere Organe stark hyperämisch, starke Totenstarre, Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 421, 200 g.

4²⁸ Toxin 0,005 g + 4,0 ccm Komplement iv.

4²⁴ Hüpfen und Krämpfe.

4²⁶ Neue Krämpfe, Schaum aus der Nase.

4³¹ Reflexe erloschen.

4³² Tot.

Sektionsbefund: Lungen stark aufgebläht, ekchymosiert; Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 420, 190 g.

4¹⁶ 0,001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Keine ersten Erscheinungen.

24. II. 11. 5³⁰ p. m. Tod unter dem Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 419, 190 g.

4¹² 0,0005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Nach der Injektion keine Erscheinungen, bis auf Dyspnoë. Tod im Laufe der Nacht zum 23. II.

Sektionsbefund: die Leichenstarre nicht ausgeprägt; Lunge wenig aufgebläht, stark hyperämisch, Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 418, 190 g.

⁴⁶ 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Keine ersten Erscheinungen nach der Injektion. Tod im Laufe der Nacht zum 25. II.

Sektionsbefund: Lunge blaß, nicht aufgebläht; Herzblut koaguliert; deutliche Totenstarre.

Meerschweinchen M 417, 190 g.

⁴⁰⁰ 0,00005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Nach der Injektion keine ersten Erscheinungen, bis auf Dyspnoë.

23. II. 11. 12³⁰ Tod unter dem Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht; hyperämisch, Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 416, 190 g.

³⁵⁵ 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv.

³⁵⁸ Sehr dyspnoisch, sonst keine weitere Erscheinung.

24. II. 11. 5⁰⁰ p. m. Tod unter dem Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge stark hyperämisch, nicht aufgebläht; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 415, 190 g.

³⁵² 0,000005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Keine ersten Erscheinungen.

1⁰⁰ p. m. Tod unter dem Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge stark hyperämisch, nicht aufgebläht; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 413, 190 g.

³⁴² 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv.

³⁴³ Sehr dyspnoisch, sträubt die Haare.

⁴¹³ Krämpfe.

⁴¹⁴ Liegt auf der Seite, Schaum vor der Nase, Reflexe erloschen.

⁴¹⁵ Agonale Atmung, Tod.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, ekchymosiert; Herz schlägt 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 411, 200 g.

³²² 0,0000005 g Toxin + 4,0 ccm Komplement iv. Keine ersten Erscheinungen bis auf Dyspnoë. Tier bleibt gesund.

Kontrollversuch.

Meerschweinchen M 430, 180 g.

⁶⁰⁰ 0,01 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum iv. Keine ersten Erscheinungen.

23. II. 11. 12³⁰ Tod unter dem Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge wenig aufgebläht, hyperämisch. Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 429, 180 g.

5⁶⁶ 0,005 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen.

24. II. 11. Tier starb im Laufe der Nacht zum 24. II.

Sektionsbefund: ausgeprägte Totenstarre; Lunge nicht aufgebläht,
stark hyperämisch; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 428, 180 g.

5⁸⁷ 0,001 g Toxin + 4,00 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen.

Typisches Bild von Tetanus; in der Nacht zum 25. II. gestorben.

Sektionsbefund: ausgeprägte Totenstarre; Lunge nicht aufgebläht,
blaß; Herzblut koaguliert.

Meerschweinchen M 427, 180 g.

5²⁶ 0,0005 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen nach der Injektion.

23. II. 11. Typisches Bild von Tetanus; Tod in der Nacht zum 24. II.

Sektionsbefund: Lunge wenig aufgebläht, sehr hyperämisch, ekchymosiert;
Herzblut flüssig; starke Totenstarre.

Meerschweinchen M 426, 200 g.

5¹² 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen.

12³⁰ Tod unter dem typischen Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: starke Totenstarre; Lungen wenig aufgebläht, stark
hyperämisch; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 425, 180 g.

5⁰¹ 0,00005 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen nach der Injektion.

28. II. 11. Bild von Tetanus. In der Nacht zum 1. III. gestorben.

Sektionsbefund: starke Totenstarre; Lunge kollabiert, hyperämisch;
Herzblut koaguliert.

Meerschweinchen M 424, 180 g.

5⁵⁵ 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen nach der Injektion.

In der Nacht zum 23. II. gestorben.

Sektionsbild: Lunge nicht aufgebläht, stark hyperämisch; Herzblut
flüssig; starke Totenstarre.

Meerschweinchen M 423, 190 g.

4⁵⁰ 0,000005 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine ernstesten Erscheinungen. Das Tier bleibt
am Leben und gesund.

Meerschweinchen M 414, 190 g.

3⁴⁵ 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum
iv. Keine Erscheinungen.

25. II. 11. Tetanus. Tod in der Nacht zum 28. II.

Sektionsbefund: Leichenstarre stark; Lunge nicht aufgebläht, hyperämisch, Herzblut flüssig.

Meerschweinchen M 412, 200 g.

3^{97} 0,0000005 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum iv. Keine Erscheinungen. Das Tier bleibt am Leben und ist gesund.

No. des Tieres	Körpergewicht	Dosis des Tetanustoxins (Trockengift)	Zusatz zum Gift	Resultat
M 422	200	0,01	4,0 Kompl.	tot in 1 Tag
M 421	200	0,005	dgl.	tot in 9 Min.
M 420	190	0,001	"	tot in 2 Tagen
M 419	190	0,0005	"	tot in 1 Tag
M 418	190	0,0001	"	tot in 3 Tagen
M 417	190	0,00005	"	tot in 1 Tag
M 416	190	0,00001	"	tot in 2 Tagen
M 415	190	0,000005	"	tot in 2 Tagen
M 413	190	0,000001	"	tot in 23 Min.
M 411	200	0,0000005	"	lebt, gesund
M 430	180	0,01	4,0 inakt. Ser.	tot in 1 Tag
M 429	180	0,005	dgl.	tot in 2 Tagen
M 428	180	0,001	"	tot in 3 Tagen
M 427	180	0,0005	"	tot in 2 Tagen
M 426	200	0,0001	"	tot in 1 Tag
M 425	180	0,00005	"	tot in 7 Tagen
M 424	180	0,00001	"	tot in 1 Tag
M 423	190	0,000005	"	lebt, gesund
M 414	190	0,000001	"	tot in 6 Tagen
M 412	200	0,0000005	"	lebt, gesund

Auch in diesem Versuch sehen wir, daß unter Verwendung von inaktivem Meerschweinchenserum in keinem einzigen Fall der akute Tod des Tieres eingetreten ist. Aber auch durch die Digerierung mit Komplement haben wir in dieser Versuchsreihe eigentlich nur in einem Fall akuten Tod bei einer Dosis, die auch in der ersten Versuchsreihe getötet hat. Bei kleineren Mengen, die dort gleichfalls auch akutes Gift lieferten, sehen wir jetzt keinen entsprechenden Effekt. Worauf das zurückzuführen ist, möchten wir dahingestellt sein lassen. Vielleicht war die Komplementmischung in dieser Versuchsreihe weniger wirksam.

Die vorausgehenden Versuche waren ohne streng aseptische Kautelen durchgeführt worden, obwohl auch hier möglichst steril gearbeitet wurde. Doch war nicht zu vermeiden, daß bei der länger dauernden Digerierung ein geringes Bak-

terienwachstum eintrat. Wir haben in der Mehrzahl der Fälle die nach dem Zentrifugieren zurückbleibenden Bodensätze auf ihren Bakteriengehalt mikroskopisch untersucht. Die Menge der vorhandenen Keime war so gering, daß es von vorne, herein ausgeschlossen erschien, sie als Muttersubstanz des Giftes anzunehmen. Außerdem bestand kein Parallelismus zwischen Bakterienmenge und Wirksamkeit des Abgusses. Wir hatten nicht selten in solchen Fällen, in denen relativ mehr Bakterien im Ausstrichpräparat vorhanden waren, keine Anaphylatoxinbildung gesehen und andererseits in Röhrcchen, in denen mikroskopisch keine oder nur ganz vereinzelt Keime im Sediment nachgewiesen werden konnten, wieder die Bildung eines hochwirksamen Giftes beobachtet. Um aber den Einwand, daß das Anaphylatoxin aus saprophytischen verunreinigenden Bakterien herkommen könne, gänzlich zu beseitigen, haben wir die nachstehenden Versuche unter streng aseptischen Kautelen durchgeführt. Wir überzeugten uns durch jedesmalige reichliche Aussaat aus den Giftmischungen auf Nährböden von der Sterilität. Nur in einem Fall haben wir eine geringe Verunreinigung konstatieren können, aber gerade hier (Meerschweinchen No. 16) handelt es sich um ein Tier, das nicht akut einging.

Die Versuche wurden wiederum mit normalem Meeresschweinchenserum und zur Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung angestellt. Wir suchten fernerhin die akut toxische Dosis unseres Tetanusgiftes an sich in Kochsalzlösung gelöst zu ermitteln.

III. Versuch der Anaphylatoxinabspaltung aus Tetanustoxin.

Von Tetanustoxin wurde 10-proz. Lösung hergestellt, alsdann durch eine Kerze filtriert. Mit diesem Filtrat wurde die minimale tödliche Dosis des Tetanustoxins bestimmt.

A. Die Bestimmung der minimalen tödlichen Dosis des Tetanustoxins.

22. IX. 11. Meerschweinchen P 4, 230 g.

10⁸⁸ 0,12 g = 0,05 g pro 100 g Tier iv. Keine Erscheinungen.
Tod in der Nacht zum 23. IX.

Sektionsbefund: Totenstarre sehr ausgeprägt.

Meerschweinchen P 10, 230 g.
11⁰⁶ 0,23 g = 0,1 g pro 100 g Tier iv.
11⁰⁸ Krämpfe, Urinabgang.
11¹⁰ Legt sich.
11¹¹ Reflexe erloschen, agonale Atmung.
11¹² Tot.

Sektionsbefund: Lunge blaß, stark aufgebläht; Herz schlägt 10 Min. nach dem Tode; Herzblut flüssig.

Meerschweinchen P 6, 210 g.
11¹⁵ 0,15 g = 0,07 g pro 100 g Tier iv. Keine Erscheinungen.
Tod in der Nacht zum 23. IX. Ausgeprägte Totenstarre.

Meerschweinchen M 12, 200 g.
11²¹ 0,14 g = 0,07 g pro 100 g Tier iv.
11²² Krämpfe.
11²⁶ Reflexe sehr träge.
12⁰⁰ Erholt sich wieder. Tod in der Nacht zum 23. IX. Ausgeprägte Totenstarre.

Meerschweinchen M 13, 200 g.
11³⁷ 0,20 g = 0,1 g pro 100 g Tier iv.
11³⁸ Krämpfe, legt sich.
11³⁹ Reflexe erloschen, agonale Atmung.
11⁴⁰ Tot.

Sektionsbefund: Lungen ganz blaß, stark aufgebläht; Herz schlägt 10 Minuten nach dem Tode.

Meerschweinchen 14, 200 g.
11⁴⁵ 0,14 g = 0,07 g pro 100g Tier iv. Sofort beschleunigte Atmung.
11⁴⁹ Seitenlage.
11⁵⁴ Erholt sich wieder. Tod in der Nacht zum 23. IX. Ausgeprägte Totenstarre.

Meerschweinchen M 15, 220 g.
11⁵² 0,22 g = 0,1 g pro 100 g Tier iv. Sofort Krämpfe und Sprünge.
11⁵³ Seitenlage.
11⁵⁴ Reflexe erloschen.
11⁵⁵ Agonale Atmung.
11⁵⁶ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht; Herz schlägt 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

B. Darstellung des Anaphylatoxins aus Tetanusgift.

Von der hergestellten Giftlösung wurden zwei Reihen mit folgenden Mengen angesetzt:

0,01	0,000001
0,001	0,0000001
0,0001	0,00000001
0,00001	

Diese Verdünnungen wurden alle zum Volumen von 1,0 ccm aufgefüllt; eine Reihe davon je mit 4,0 ccm Komplement, die andere mit je 4,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt, 1 Stunde bei 37° C, dann 24 Stunden in Zimmertemperatur gehalten, Kultur angelegt, dann zentrifugiert. Der Bodensatz wurde mikroskopisch auf Bakterien untersucht.

22. IX. 11. 1) 0,01 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. 30 Keime in einer Oese Aussaatmaterial zur Entwicklung gekommen; mikroskopisch Stäbchen und Kokken.

Meerschweinchen M 16, 210 g.

12¹⁷ Intravenöse Injektion. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 23. IX.

Sektionsbefund: Tetanus; keine Lungenblähung.

2) 0,001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Kultur steril; Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 17, 210 g.

12²⁶ Injektion.

12²⁷ Krämpfe. Seitenlage.

12³¹ Reflexe erloschen, agonale Atmung

12³² Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, hyperämisch; Herz schlägt 10 Minuten nach dem Tode.

3) 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. 1 Keim in einer Oese Aussaatmaterial zur Entwicklung gekommen. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 18, 210 g.

12³³ Injektion, sofort Krämpfe.

12³³ Seitenlage. Schaum vor der Nase.

12³⁴ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

12³⁵ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, hyperämisch; Herz schlägt 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

4) 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Kultur steril; Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 19, 200 g.

12³⁶ Injektion, sofort starke Krämpfe und Sprünge.

12³⁸ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

12³⁹ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark gebläht, hyperämisch; Herz schlägt 10 Minuten nach dem Tode; Herzblut flüssig.

5) 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril; Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 20, 210 g.

12³⁸ Injektion.

12⁴⁰ Sehr dyspnoisch, sonst keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum 23. IX.

Sektionsbefund: Tetanus, keine Lungenblähung.

6) 0,0000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril
Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 21, 210 g.

12⁵¹ Injektion.

12⁵⁴ Hüpfen. Das Tier bleibt am Leben und gesund.

7) 0,00000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril;
Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 29, 220 g.

1⁰⁰ Injektion. Keine Erscheinungen. Das Tier bleibt am Leben
und gesund.

Kontrollversuch.

22. IX. 11. Meerschweinchen M 22 200 g.

1⁰⁰ 0,2 g Toxin = 0,1 g pro 100 g Tier mit 4,0 ccm NaCl-
Lösung iv.

1⁰¹ Sofort Krämpfe, Seitenlage.

1⁰² Reflexe erloschen, agonale Atmung.

1⁰³ Tot.

1) 0,01 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung. Strichkultur steril; Boden-
satz steril.

Meerschweinchen M 23, 210 g.

1⁰⁴ Injektion. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum
23. IX.

Sektionsbefund: Keine Lungenblähung; Tetanus.

2) 0,001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung. Strichkultur steril. Boden-
satz steril.

Meerschweinchen M 24, 180 g.

1⁰⁶ Injektion. Keine Erscheinungen.

23. IX. 11. 12⁴⁶ Tod unter typischem Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge nicht gebläht.

3) 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung. Strichkultur steril. Bo-
densatz steril.

Meerschweinchen M 25, 210 g.

1¹⁶ Injektion. Keine Erscheinungen. Tod in der Nacht zum
23. IX.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht, Tetanus.

4) 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung. Strichkultur steril;
Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 26, 210 g.

1¹⁸ Injektion. Keine Erscheinungen.

27. IX. 11. 4⁰⁰ p. m. Tod unter dem typischen Bild von Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht, Totenstarre ausgeprägt.

5) 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung. Strichkultur steril;
Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 27, 200 g.

1²⁹ Injektion. Keine Erscheinungen. Das Tier bleibt am Leben
und gesund.

6) 0,0000001 g Toxin + 4,0 ccm NaCl-Lösung. Strichkultur steril;
Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 28, 230 g.

1²⁷ Injektion. Keine Erscheinungen. Das Tier bleibt am Leben
und gesund.

III. Versuch.

No. des Tieres	Körpergewicht	Dosis des Tetanus-toxins (Trockengift)	Zusatz zum Gift	Resultat	Bemerkungen
P 4	230	0,12	—	tot in 1 Tage	
M 12	200	0,14	—	dgl.	
P 6	210	0,15	—	"	
M 14	200	0,14	—	"	
M 15	220	0,22	—	tot in 4 Min.	
P 10	230	0,23	—	dgl.	
M 13	200	0,20	—	tot in 3 Min.	
M 16	210	0,01	4,0 Kompl.	tot in 1 Tage	30 Keime (Stäbchen u. Kokken)
M 17	210	0,001	dgl.	tot in 6 Min.	steril
M 18	210	0,0001	"	tot in 3 Min.	1 Keim
M 19	200	0,00001	"	dgl.	steril
M 20	210	0,000001	"	tot in 1 Tage	"
M 21	210	0,0000001	"	lebt	"
M 29	220	0,00000001	"	"	"
M 22	200	0,20	"	tot in 3 Min.	
M 23	210	0,01	"	tot in 1 Tage	steril
M 24	180	0,001	"	dgl.	"
M 25	210	0,0001	"	"	"
M 26	210	0,00001	"	tot in 5 Tagen	"
M 27	200	0,000001	"	lebt	"
M 28	230	0,0000001	"	"	"

Auch in dieser Versuchsreihe sehen wir namentlich in völliger Uebereinstimmung mit Versuchsreihe I, daß nur das Komplement, aus gewissen mittleren Dosen des Tetanustoxins, ein akut wirkendes Gift (Anaphylatoxin) abspaltet. Die mit physiologischer Kochsalzlösung digerierten entsprechenden Giftquoten ergaben keinen akuten Tod.

Analog der vorigen verlief die folgende Versuchsreihe IV, in der in den Kontrollversuchen wiederum inaktiviertes normales Meerschweinchenserum verwandt wurde.

IV. Versuch der Anaphylatoxinabspaltung aus Tetanustoxin.

10-proz. Tetanustoxinlösung hergestellt, durch Kerze filtriert. Dieses Filtrat wurde als Ausgangsmaterial für die Versuchsreihe verwendet.

A. Bestimmung der minimalen tödlichen Dosis der Tetanustoxinlösung.

25. IX. 11. Meerschweinchen M 59, 230 g.
1⁰ 0,23 g = 0,1 g Toxin pro 100 g Tier iv. Keine Erscheinungen.
Tod in der Nacht zum 26. IX.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht; Tetanus.

Meerschweinchen M 60, 230 g.
1⁰ 0,35 g = 0,15 g Toxin pro 100 g Tier iv. Sofort Krämpfe und Sprünge, Seitenlage.
1²¹ Reflexe erloschen. Agonale Atmung.
1²³ Tot.

Sektionsbefund: Lunge aufgebläht; Herz schlägt noch 20 Minuten nach dem Tode.

B. Darstellung des Anaphylatoxins aus Tetanusgift.

Von der hergestellten Tetanustoxinlösung wurden zwei Reihen mit folgenden Mengen angesetzt.

0,01	0,00001
0,001	0,000001
0,00001	0,0000001

Diese Verdünnungen wurden alle zum Volumen von 1,0 ccm aufgefüllt; eine Reihe je mit 4,0 ccm Komplement, die andere je mit 4,0 ccm inaktivierten Meerschweinchenserums versetzt, 1 Stunde bei 37°, dann 24 Stunden in Zimmertemperatur gehalten, Strichkultur angelegt, dann zentrifugiert. Der Bodensatz wurde auch mikroskopisch auf Bakterien untersucht.

1) 0,01 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril. Bodensatz vereinzelt Kokken.

25. IX. 11. Meerschweinchen M 47, 220 g.
12¹⁸ Injektion iv. Sofort sehr dyspnoisch.
12²¹ Starke Sprünge. Schaum vor der Nase, Seitenlage.
12²³ Reflexe erloschen.
12²⁴ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, stark hyperämisch; Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode.

2) 0,001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 48, 210 g.

12¹⁷ Injektion iv.

12¹⁸ Krämpfe und Sprünge.

12²⁰ Seitenlage, Schaum vor der Nase.

12²² Reflexe erloschen.

12²⁴ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht; Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode.

3) 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 49, 210 g.

12²¹ Injektion iv. Sofort Krämpfe. Schaum vor der Nase.

12²³ Reflexe erloschen. Agonale Atmung.

12²⁴ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, hyperämisch; Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode.

4) 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 50, 220 g.

12²⁵ Injektion iv. Sofort Krämpfe und Sprünge.

12²⁸ Reflexe erloschen. Agonale Atmung.

12²⁹ Tot.

Sektionsbefund: Lunge stark aufgebläht, hyperämisch; Herz schlägt noch 10 Minuten nach dem Tode.

5) 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 51, 220 g.

12²⁹ Injektion iv. Etwas dyspnoisch, sonst keine Erscheinungen
Tier bleibt immer am Leben und gesund.

6) 0,0000001 g Toxin + 4,0 ccm Komplement. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 52, 230 g.

12³³ Injektion iv. Keine Erscheinungen. Tier bleibt am Leben.

Kontrollversuch.

25. IX. 11. Meerschweinchen M 61, 240 g.

1²⁸ 4,0 ccm Komplement iv. Keine Erscheinungen.

1) 0,01 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 58, 230 g.

12³⁷ Injektion iv. Keine Erscheinungen.

Tod in der Nacht zum 26. IX.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht; Tetanus.

2) 0,001 g Toxin = 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 57, 230 g.

12⁵⁵ Injektion iv. Keine Erscheinungen.

26. IX. 11. 3⁰⁰ Tod unter dem Bild von typischem Tetanus.

Sektionsbefund: Lunge nicht aufgebläht.

3) 0,0001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 56, 230 g.

12⁴⁸ Injektion iv. Keine Erscheinungen.

27. IX. 11. Typischer Tetanus.

3⁰⁰ p. m. tot.

Sektionsbefund: Tetanus. Lunge nicht aufgebläht.

4) 0,00001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 55, 210 g.

12⁴⁶ Injektion iv. Keine Erscheinungen. Tier bleibt am Leben.

5) 0,000001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 54, 230 g.

12⁴¹ Injektion iv. Keine Erscheinungen. Tier bleibt am Leben.

6) 0,0000001 g Toxin + 4,0 ccm inaktiviertes Meerschweinchenserum. Strichkultur steril. Bodensatz steril.

Meerschweinchen M 53, 210 g.

12³⁸ Injektion iv. Keine Erscheinungen. Tier bleibt immer am Leben.

IV. Versuch.

No. des Tieres	Körpergewicht	Dosis des Tetanustoxins (Trockengift)	Zusatz zum Gift	Resultat	Bemerkung.
M 59	230	0,23	—	tot in 1 Tage	
M 60	230	0,45	—	tot in 3 Minuten	
M 47	220	0,01	4,0 Kompl.	tot in 11 Minuten	steril
M 48	210	0,001	dgl.	tot in 7 Minuten	„
M 49	210	0,0001	„	tot in 3 Minuten	„
M 50	220	0,00001	„	tot in 4 Minuten	„
M 51	220	0,000001	„	lebt	„
M 52	230	0,0000001	„	lebt	„
M 61	240	—	4,0 Kompl.	keine Erscheing.	
M 58	230	0,01	4,0 inakt. Ser.	tot in 1 Tage	steril
M 57	230	0,001	dgl.	dgl.	„
M 56	230	0,0001	„	tot in 2 Tagen	„
M 55	210	0,00001	„	lebt	„
M 54	230	0,000001	„	lebt	„
M 53	210	0,0000001	„	lebt	„

Aus allen den vorhergehenden Versuchen ergibt es sich, daß Dosen von Tetanustoxin, die an sich nicht mehr oder nur nach mehreren Tagen giftig wirken, ein akut tödliches Gift abspalten, sobald sie mit normalem Meerschweinchenserum digeriert werden. Da die Giftabspaltung auch gelingt, wenn die Mischungen absolut steril gehalten sind, so können sekundäre bakterielle Verunreinigungen nicht als Muttersubstanz des Anaphylatoxins hier in Frage kommen.

In einer Reihe weiterer Versuche wollten wir nun ermitteln, ob sich Toxin-Antitoxingemische bei vorheriger Digerierung mit Komplement anders verhielten als ohne dieses. Zu diesem Zweck wurde zunächst die innerhalb 24 Stunden tödliche minimale Dosis von Tetanustoxin und die neutralisierende Dosis von Antitoxin bestimmt.

Als dann wurde untersucht, wie sich die gleichen Tetanusantitoxingemische bei Digerierung mit Komplement verhalten.

Multiplaversuche mit Tetanustoxin.

I. Ermittlung der minimalen Dosis, welche den Tod des Tieres unter typischem Bild des Tetanus in 24 Stunden hervorruft (intravenös).

4. X. 1911.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Dosis des Tetanustoxins pro Tier in g	Erscheinung	Ausgang
M 77	220	0,05	Tetanus	tot in 24 Std.
M 78	240	0,01	„	dgl.
M 79	220	0,001	„	„
M 80	240	0,0001	„	tot in 48 Std.

Aus diesen Versuchen ergibt es sich, daß die minimale Tetanustoxindosis, welche den Tod des Tieres unter typischem Bild des Tetanus in einem Tage hervorruft, 0,001 g ist.

II. Ermittlung der Mengenverhältnisse, in welchen 0,001 g Tetanustoxin mit Antitoxin bzw. mit Antitoxin und Komplement neutralisiert wird.

0,001 g Tetanustoxin einerseits einfach mit fallender Menge von Antitoxin, andererseits mit fallender Menge des Antitoxins und Komplements versetzt, zum Volumen von 4,7 ccm aufgefüllt, 2 Stunden bei 37° C gehalten und intravenös injiziert.

5. X. 1911.

A.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Tetanustoxin in g	Tetanusantitoxin in g	Ausgang
M 81	230	0,001	—	tot in 1 Tag
M 109	260	„	0,001	tot in 1 „
M 108	190	„	0,005	tot in 12 Tagen
M 82	220	„	0,010	tot in 7 „
M 83	210	„	0,100	tot in 12 „
M 84	220	„	0,400	tot in 4 „
M 85	220	„	0,700	tot in 3 „

B.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Tetanustoxin in g	Tetanusantitoxin in g	Komplement in ccm	Ausgang
M 111	280	0,001	0,001	4,0	tot in 1 Tag
M 110	260	„	0,005	„	akuter Tod
M 86	220	„	0,010	„	tot in 3 Tagen
M 87	230	„	0,100	„	tot in 17 „
M 88	230	„	0,400	„	tot in 12 „
M 89	240	„	0,700	„	tot in 15 „

Aus dem Versuch ergibt sich, daß bei konstanter Giftosis und wechselnder Antitoxindosis bei einer bestimmten Menge von Tetanusantitoxin (0,005) ein akutes Gift in Freiheit gesetzt wurde, nicht aber bei größeren oder kleineren Dosen. Im übrigen besteht kein wesentlicher Unterschied, ob die Toxin-Antitoxingemische mit Komplement digeriert worden sind oder nicht.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt es sich, daß die Menge von Antitoxin, welche 0,001 g Tetanustoxin, das ist die in 24 Stunden tödliche Dosis, bei intravenöser Zufuhr neutralisiert, 0,1 g Antitoxin beträgt. Wir haben nun eine Reihe von Versuchen angestellt, in denen wir Multipla von Toxin und Antitoxin einmal mit und einmal ohne Komplement aufeinander einwirken ließen.

Bei der Mischung von Toxin und Antitoxin verfahren wir stets so, daß wir einen Ueberschuß von Antitoxin gegenüber dem sich rechnerisch ergebenden Multiplum anwandten. Die Mischungen von Toxin und Antitoxin mit bzw. ohne Komplement (und dann mit entsprechenden Mengen von Koch-

salzlösung) blieben bei 37° 2 Stunden in Kontakt. Danach erfolgte die intravenöse Einspritzung. Nachstehend bringen wir die entsprechenden Versuche.

19. X. 1911.

A.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Tetanusantitoxin in g	Tetanustoxin in g	Multipla	Ausgang
M 153	230	—	0,001	Kontr.	tot in 1 Tage
M 154	250	0,1	0,001	1-fach	tot in 7 Tagen
M 155	240	$0,1 \times 2,5 (> 2)$ = 0,25	$0,001 \times 2 = 0,002$	2-fach	tot in 6 Tagen
M 156	230	$0,1 \times 7,5 (> 5)$ = 0,75	$0,001 \times 5 = 0,005$	5-fach	lebt noch nach 7 Tag.
M 157	250	$0,1 \times 15 (> 10)$ = 1,5	$0,001 \times 10 = 0,010$	10-fach	dgl.

B.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Tetanustoxin in g	Tetanusantitoxin in g	Kompl. in cem	Multipla	Ausgang
M 158	210	0,001	0,1	4,0	1-fach	lebt noch nach 7 Tag.
M 159	220	$0,001 \times 2 = 0,002$	$0,1 \times 2,5 (> 2)$ = 0,25	4,0	2-fach	tot in 7 Tag.
M 160	220	$0,001 \times 5 = 0,005$	$0,1 \times 7,5 (> 5)$ = 0,75	4,0	5-fach	tot in 7 Tag.
M 161	200	$0,001 \times 10 = 0,010$	$0,1 \times 15 (> 10)$ = 1,5	4,0	10-fach	tot in 6 Tag.

Wie sich aus diesen Versuchen ergibt, ist die vorherige Digerierung mit Komplement ohne nachweisbaren Einfluß auf die Toxin-Antitoxinmischungen. Sie verhalten sich bei nachträglicher Einspritzung in das Tier nicht anders wie die ohne Komplement stehen gelassenen. Es ist das an sich ja auch nicht weiter verwunderlich, denn wir müssen annehmen, daß im Tierkörper in den Kontrollversuchen das Komplement ja gleichfalls in Aktion tritt und ohne weiteres die mit dem Antikörper verbundenen kleinen Toxinkomplexe abzubauen vermag.

Wir haben nun analoge Versuche auch mit Diphtherietoxin angestellt; sie folgen im nachstehenden. Die Versuchsanordnung entsprach vollkommen der bei den Tetanusversuchen. Wir benutzten dazu ein unter Toluol aufbewahrtes flüssiges Diphtherietoxin.

Multiplaversuche mit Diphtherietoxin.

I. Ermittlung der minimalen Dosis des Diphtherietoxins, welche in einem Tage den Tod des Tieres hervorruft (intravenös).

12. X. 1911.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxinmenge in g	Ausgang	Sonstige Bemerkungen
M 112	200	0,001	tot in 8 Tagen	venöse Stauung der inneren Organe; Hydrops der Pleurahöhle
M 113	210	0,005	tot in 4 Tagen	
M 114	200	0,01	tot in 2 Tagen	Hydrops der Pleurahöhle; venöse Stauung der inneren Organe
M 115	200	0,05	tot in 1 Tag	dgl.
M 116	200	0,07	dgl.	„

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß die minimale Diphtherietoxindosis, welche den Tod des Tieres in einem Tage hervorruft, 0,05 g ist.

II. Ermittlung der Mengenverhältnisse, in welchem 0,05 g Diphtherietoxin mit Antitoxin, bzw. mit Antitoxin und Komplement neutralisiert werden.

Die folgenden Mischungen wurden 2 Stunden bei 37° C in Kontakt gelassen (alle zum Volumen von 5,0 ccm aufgefüllt) und dann intravenös injiziert.

14. X. 1911.

A₁.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxin in g	Diphtherieantitoxin in g	Ausgang
M 117	210	0,05	—	tot in 1 Tag
M 118	210	„	0,10	tot in 3 Tagen
M 119	220	„	0,05	tot in 10 Tagen
M 120	220	„	0,01	tot in 3 Minuten
M 121	220	„	0,005	tot in 1 Tag

B₁.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxin in g	Diphtherieantitoxin in g	Komplement in ccm	Ausgang
M 126	200	0,05	—	—	tot in 1 Tag
M 122	200	„	0,10	4,0	tot in 10 Tagen
M 123	210	„	0,05	„	dgl.
M 124	200	„	0,01	„	tot in 1 Tag
M 125	200	„	0,005	„	tot in 6 Minuten

16. X. 1911.

A₁.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxin in g	Diphtherieantitoxin in g	Ausgang
M 127	200	0,05	—	tot in 1 Tag
M 129	"	"	0,10	tot in 9 Tagen
M 130	"	"	0,05	tot in 10 Tagen
M 131	"	"	0,01	tot in einigen Stunden
M 132	"	"	0,005	dgl.

B₁.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxin in g	Diphtherieantitoxin in g	Komplement in g	Ausgang
M 128	200	0,05	—	—	tot in 1 Tage
M 133	210	"	0,10	4,0	tot in 4 Minuten
M 134	210	"	0,05	"	tot in einigen Stunden
M 135	210	"	0,01	"	tot in 6 Tagen
M 136	220	"	0,005	"	tot in 11 Tagen

Aus diesen Versuchen ergibt sich die Tatsache, daß die Mischungen von Diphtherietoxin und Antitoxin auch ohne vorherige Komplementdigerierung in gewissen Mengen akut oder subakut toxisch wirken können. Bei der vorherigen Behandlung mit Komplement sehen wir akutes Gift unter etwas anderen Mengenverhältnissen entstehen. Wir müssen annehmen, daß in dem ersteren Falle sich das akute Gift im Organismus des Tieres durch dessen Komplement bildet, und zwar mit Mengen des Antitoxins, die mit denen im Vitroversuch nicht völlig über einzustimmen brauchen.

Wir haben nun entsprechende Versuche auch mit Vielfachem der tödlichen Diphtherietoxindosis und entsprechenden Mengen von Antitoxin angestellt und hier wiederum, wie in den analogen Versuchen mit Tetanustoxin, jeweils geringe Ueberschüsse von Antitoxin über die rechnerisch ermittelten Mengen zugesetzt. Die Mischungen blieben, wie in den vorausgegangenen Versuchen, 2 Stunden bei 37° stehen und wurden dann intravenös injiziert.

17. X. 1911.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxin in g	Diphtherie-Antitoxin in g	Multipla	Ausgang
A₁.					
M 137	200	0,05	—	Kontr.	tot in 1 Tag
M 138	210	0,05	0,05	1-fach	tot in 9 Tagen
M 139	200	$0,05 \times 2 = 0,10$	$0,05 \times 2,5 (> 2)$ $= 0,125$	2-fach	tot in 3 Tagen
M 140	230	$0,05 \times 5 = 0,25$	$0,05 \times 7 (> 5)$ $= 0,35$	5-fach	tot in 14 Tag.
M 141	230	$0,05 \times 10 = 0,50$	$0,05 \times 15 (> 10)$ $= 0,75$	10-fach	tot in 17 Tag.
A₂.					
M 142	200	0,05	—	Kontr.	tot in 1 Tag
M 144	210	$0,05 \times 2 = 0,10$	$0,05 \times 2,5 (> 2)$ $= 0,125$	2-fach	tot in 5 Tagen
M 151	210	$0,05 \times 5 = 0,25$	$0,05 \times 7 (> 5)$ $= 0,34$	5-fach	lebt noch nach 8 Tag.
M 146	250	$0,05 \times 10 = 0,5$	$0,05 \times 15 (> 10)$ $= 0,75$	10-fach	tot in 14 Tag.

B.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Diphtherietoxin in g	Diphtherie-Antitoxin in g	Kompl. in cem	Multipla	Ausgang
M 147	250	0,05	0,05	4,0	1-fach	tot in 8 Tagen
M 148	230	$0,05 \times 2 = 0,10$	$0,05 \times 2,5 (> 2)$ $= 0,125$	„	2-fach	lebt noch nach 8 Tag.
M 152	230	$0,05 \times 5 = 0,25$	$0,05 \times 7 (> 5)$ $= 0,35$	„	5-fach	lebt noch nach 8 Tag.
M 150	250	$0,05 \times 10 = 0,5$	$0,05 \times 15 (> 10)$ $= 0,75$	„	10-fach	tot in 4 Tagen

Wie aus dem vorstehenden Versuch ersichtlich ist, besteht eine ausgesprochene Differenz zwischen den zuvor mit Komplement behandelten Toxin-Antitoxingemischen und den Kontrollgemischen nicht.

Ueber die Anaphylatoxinbildung aus Cobragift.

Von **E. Friedberger** und **T. Kumagai**.

Im Anschluß an die voraufgegangenen Versuche von Friedberger und Mita über die Anaphylatoxinbildung aus Tetanusgift und Diphtheriegift haben wir entsprechende Versuche angestellt mit Verwendung von Cobragift. Es geschah das, um die Untersuchungen auf eine Reihe von weiteren

Giften auszudehnen, zugleich aber boten die Versuche mit einem Gift tierischen Ursprungs den Einwand, daß etwa Bakterientoxinen anhaftende Nährsubstrate als Quelle des Giftes in Frage kämen, ohne weiteres zu widerlegen. Wir benutzten zu diesem Versuch Cobragift, das uns in dankenswerter Weise von Herrn Prof. Faust in Würzburg zur Verfügung gestellt war. Dieses Gift wurde in Kochsalzlösung gelöst benutzt, die Injektionen geschahen stets intravenös. Zunächst mußte die tödliche Dosis des Cobragiftes ermittelt werden.

Darstellung des Anaphylatoxins aus Cobragift.

I. Bestimmung der tödlichen Dosis von Cobragift bei der intravenösen Injektion (12. III. 12).

0,1 g Cobragift (Würzburg) wurde in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Von dieser Stammlösung wurden verschiedene Verdünnungen bereitet.

Meerschweinchen J 388, 200 g. 12²⁸ 0,00006 iv. Lebt.
 Meerschweinchen J 371, 190 g. 12³⁰ 0,00009 iv. Lebt.
 Meerschweinchen J 380, 200 g. 12²⁷ 0,0001 iv. Krank, bleibt leben.
 Meerschweinchen J 402, 230 g. 12⁶ 0,0002 iv. 3^a Tot.
 Meerschweinchen J 370, 240 g. 1⁵ 0,0003 iv. 3^a Tot.
 Meerschweinchen J 372, 220 g. 1² 0,0005 iv. 1^a Krämpfe, Seitenlage.
 1⁴ Tot.

Uebersichtstabelle.

Dosis	Resultat
0,0005	tot in 2 Minuten
0,0003	tot nach 1 Std. 55 Min.
0,0002	tot nach 1 Std. 54 Min.
0,0001	lebt
0,00008	lebt
0,00006	lebt

Nach Ermittlung der akut tödlichen Dosis des Cobragiftes stellten wir entsprechende Versuche an wie mit Tetanusgift, d. h. wir digerierten gewisse Cobragiftmengen mit normalem Meerschweinchenserum und in Kontrollversuchen mit entsprechenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung. Nachstehend bringen wir eine derartige Versuchsanordnung.

II. Bereitung des Anaphylatoxins aus Cobragift (12. III. 1912).

Fallende Mengen von Cobragift wurden mit je 4 ccm des frischen Meerschweinchenserums 1 Stunde bei 37° C digeriert. Zur Kontrolle wurden dieselben Mengen von Gift an Stelle des Komplements mit je 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung ebenfalls 1 Stunde bei 37° gehalten. Nach 1 Stunde wurde sie Meerschweinchen intravenös injiziert.

- Meerschweinchen K 222, 190 g.
 6⁰⁰ 0,0003 Cobragift + 4 ccm Komplement iv.
 6³⁵ Krämpfe.
 6³⁴ Seitenlage.
 6³⁵ Reflexlos.
 Sektion: Lunge etwas aufgebläht, rot, Herzblut flüssig.
- Meerschweinchen K 223, 210 g.
 6¹⁵ 0,0003 Cobragift + 4 ccm NaCl¹⁾ iv.
 6⁴⁵ Krämpfe.
 6³⁰ Tot.
 Sektion: Lunge kollabiert, rot, Herzblut geronnen.
- Meerschweinchen K 224, 210 g.
 6⁴⁵ 0,0002 Cobragift + 4 ccm Komplement iv. Sofort schwer krank.
 9⁰⁰ Tot.
 Sektion: Lunge aufgebläht, rot, Herz schlägt.
- Meerschweinchen K 225, 190 g.
 6⁴⁵ 0,0002 Cobragift + 4 ccm NaCl.
 7⁰⁰ Krämpfe, am folgenden Tag tot.
 Sektion: Lunge kollabiert, hämorrhagisch, Herzblut geronnen.
- Meerschweinchen K 226, 190 g.
 7⁰⁰ 0,00015 Cobragift + 4 ccm Komplement.
 7⁴⁵ Sehr krank. am folgenden Tag tot.
 Sektion: Lunge aufgebläht, Blut flüssig.
- Meerschweinchen K 227, 190 g.
 7¹⁴ 0,00015 Cobragift + 4 ccm NaCl. Bleibt gesund.
- Meerschweinchen K 228, 190 g.
 7³⁰ 0,000075 Cobragift + 4 ccm Komplement. Bleibt gesund.
- Meerschweinchen K 229 A, 210 g.
 7³⁵ 0,000075 Cobragift + 4 ccm NaCl. Bleibt gesund.

Uebersichtstabelle.

Tier No.	Gewicht in g	Cobragift in g	Komplement	NaCl	Ausgang
K 222	190	0,0003	4 ccm	0	n. 35' †
K 223	210	0	0	4 ccm	n. 1 ^h 15' †
K 224	210	0,0002	4 ccm	0	n. 2 ^h 30' †
K 225	190	0	0	4 ccm	folg. Tag †
K 226	190	0,00015	4 ccm	0	dgl.
K 227	190	0	0	4 ccm	gesund
K 228	190	0,000075	4 ccm	0	„
K 229 A	190	„	0	4 ccm	„

Wie die Uebersichtstabelle ergibt, gelingt es bei dem in Anwendung gebrachten Mengenverhältnis unter den von uns eingehaltenen Versuchsbedingungen, die Cobragiftwirkung durch die Behandlung mit Komplement bedeutend zu be-

1) NaCl = physiologische Kochsalzlösung.

schleunigen und schließlich bei Dosen noch einen Tod herbeizuführen, welche ohne Komplement bereits indifferent sind. Der folgende Versuch entspricht in der Anordnung dem vorausgehenden; nur wurde die Behandlung des Cobragiftes mit Komplement bei 37° 2 Stunden lang durchgeführt und dann die Röhrrchen noch 20 Stunden bei Zimmertemperatur vor der intravenösen Einspritzung stehen gelassen.

III. **Bereitung des Anaphylatoxins aus Cobragift (13. III. 1912).**

Meerschweinchen K 229 B, 190 g.

11¹⁰ 0,0008 Cobragift + 4 ccm Kompl. Sofort Krämpfe, Seitenlage.

11¹² Reflexlos, tot.

Sektion: Lunge aufgebläht, hämorrhagisch. Herz schlägt.

Meerschweinchen 230, 190 g.

11¹⁵ 0,0008 Gift + 4 ccm NaCl.

11¹⁶ Krämpfe.

11²² Seitenlage.

11²⁶ Tot.

Sektion: Lunge leicht gebläht, rot, Herzblut flüssig.

Meerschweinchen K 231, 190 g.

11²⁰ 0,0006 Gift + 4 ccm Komplement.

11²¹ Krämpfe, Seitenlage.

11²² Tot.

Sektion: starke Lungenblähung, ödematös, Herz schlägt.

Meerschweinchen K 232, 190 g.

11²⁶ 0,0006 Gift + 4 ccm NaCl.

11²⁶ Krämpfe, schwer krank.

11²⁷ Sträubt Haare.

11³⁷ Sprünge.

11³⁸ Tot.

Sektion: Lunge gebläht, Herz schlägt.

Meerschweinchen K 233, 190 g.

11³⁷ 0,0005 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Seitenlage.

11³⁸ Tot.

Sektion: stark geblähte Lungen, Herz schlägt, Blut flüssig.

Meerschweinchen K 234, 190 g.

12⁴⁰ 0,0005 Gift + 4 ccm NaCl.

12⁴¹ Hüpfen.

12⁴² Seitenlage, Schaum aus dem Mund.

12⁵⁸ Tot.

Sektion: Lunge mäßig gebläht, hämorrhagisch, ödematös, Herz schlägt.

Meerschweinchen K 235, 180 g.

11⁴⁵ 0,0004 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Krämpfe.

11⁴⁵ 1/2, Sprünge, Seitenlage.

11⁴⁶ Tot.

Sektion: Lunge stark gebläht, Herzblut flüssig.

- Meerschweinchen K 236, 180 g.
 11⁵⁰ 0,0004 Gift + 4 ccm NaCl.
 12¹⁶ Seitenlage.
 12²⁰ Tot.
 Sektion: Lunge gebläht, Herz schlägt.
- Meerschweinchen K 237, 190 g.
 11⁵⁵ 0,0003 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Hüpfen, Sprünge.
 11⁵⁵ 1/2, Seitenlage.
 11⁵⁶ Tot.
 Sektion: Lunge stark gebläht, Herz schlägt.
- Meerschweinchen K 238, 190 g.
 11⁵⁹ 0,00003 Gift + 4 ccm NaCl.
 12⁰⁰ Krank.
 12¹² Seitenlage.
 12¹⁸ Tot.
 Sektion: Lunge stark gebläht, hämorrhagisch, Herz schlägt.
- Meerschweinchen K 239, 180 g.
 12⁰⁹ 0,0002 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Sprünge, Hüpfen,
 Seitenlage.
 12¹⁰ Tot.
 Sektion: starke Lungenblähung, Blut flüssig.
- Meerschweinchen K 240, 180 g.
 12¹⁴ 0,0002 Gift + 4 ccm NaCl. Etwas krank, lebt.
- Meerschweinchen K 241, 180 g.
 12²⁴ 0,0001 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Krämpfe.
 12²⁵ Seitenlage.
 12²⁶ Tot.
 Sektion: starke Lungenblähung, Herz schlägt, Blut flüssig.
- Meerschweinchen K 242, 180 g.
 12⁴² 0,0001 Gift + 4 ccm NaCl. Gesund.

Uebersichtstabelle.

Tier No.	Gewicht in g	Cobragift in g	Komplement	NaCl	Ausgang
K 229 B	190	0,0008	4 ccm	0	tot in 2'
K 230	190	"	0	4 ccm	tot in 10'
K 231	190	0,0006	4 ccm	0	tot in 2'
K 232	190	"	0	4 ccm	tot in 13'
K 233	190	0,0005	4 ccm	0	tot in 1'
K 234	190	"	0	4 ccm	tot in 13'
K 235	180	0,0004	4 ccm	0	tot in 1'
K 236	180	"	0	4 ccm	tot in 30'
K 237	190	0,0003	4 ccm	0	tot in 1'
K 238	190	"	0	4 ccm	tot in 14'
K 239	180	0,0002	4 ccm	0	tot in 1'
K 240	180	"	0	4 ccm	lebt
K 241	180	0,0001	4 ccm	0	tot in 1'
K 242 A	180	"	0	4 ccm	lebt

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XVII.

36

Wir sehen aus diesen Versuchen mit einem etwas wirksameren Cobragift bei größeren Mengen wiederum die ausgesprochene Beschleunigung der Giftwirkung im Sinne von de Waele. Aber bei kleineren Mengen, welche an sich Meerschweinchen nicht mehr zu töten vermögen, tritt deutlich unter dem Einfluß des Komplementes die Bildung des akut wirkenden Giftes zutage.

Noch deutlicher tritt diese Wirkung im folgenden Versuch hervor, in dem entsprechend kleinere Dosen von Cobragift zur Verwendung kamen. Die Versuchsanordnung entsprach im übrigen vollkommen der im vorigen Versuche, d. h. es wurden die Mischungen von Cobragift mit Komplement bzw. physiologischer Kochsalzlösung 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei Zimmertemperatur vor der intravenösen Einspritzung stehen gelassen.

IV. Bereitung des Anaphylatoxins aus Cobragift (14. III. 1912).

Meerschweinchen K 242 B, 210 g.

6¹⁵ 0,0002 Gift + 4 ccm Komplement iv.

6¹⁵ 1/3, Krämpfe, Sprünge, Seitenlage.

6¹⁶ Reflexlos, tot.

Sektion: Lunge stark gebläht, rötlich, Herz schlägt.

Meerschweinchen K 243, 200 g.

6¹³ 0,0002 Gift + 4 ccm NaCl iv.

6³⁰ Krämpfe, schwer krank, lebt.

Meerschweinchen K 244, 190 g.

6³⁵ 0,0001 Gift + 4 ccm Komplement iv.

6³⁸ Krämpfe.

6³⁹ Tot.

Sektion: starke Lungenblähung, Herz schlägt.

Meerschweinchen K 245, 200 g.

6⁴⁵ 0,0001 Gift + 4 ccm NaCl. Gesund.

Meerschweinchen K 246, 210 g.

6⁴⁸ 0,00008 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Krämpfe, Sprünge

6⁴⁹ Seitenlage.

6⁵⁰ Tot.

Sektion: starke Lungenblähung, Herz schlägt.

Meerschweinchen K 247, 200 g.

6⁵² 0,00008 Gift + 4 ccm NaCl. Gesund.

Meerschweinchen K 248, 200 g.

6⁵⁵ 0,00006 Gift + 4 ccm Komplement. Sofort Krämpfe.

6⁵⁵ 1/3, Seitenlage.

6⁵⁶ Richtet sich auf, am folgenden Tage tot.

Sektion: Lunge kollabiert.

- Meerschweinchen K 249, 200 g.
 7⁰¹ 0,00006 Gift + 4 ccm NaCl. Ohne Symptome, lebt.
- Meerschweinchen K 250, 190 g.
 7⁰³ 0,00004 Gift + 4 ccm Komplement. Ohne Symptome, lebt.
- Meerschweinchen K 251, 200 g.
 7⁰⁸ 0,00004 Gift + 4 ccm NaCl. Ohne Symptome, lebt.

Uebersichtstabelle.

Tier No.	Gewicht in g	Cobragift in g	Komplement	NaCl	Ausgang
K 242 B	210	0,0002	4 ccm	0	tot in 1'
K 243	200		0	4 ccm	lebt, krank
K 244	190	0,0001	4 ccm	0	tot in 4'
K 245	200		0	4 ccm	gesund
K 246	210	0,00008	4 ccm	0	tot in 2'
K 247	200		0	4 ccm	gesund
K 248	200	0,00006	4 ccm	0	am folg. Tag tot
K 249	200		0	4 ccm	gesund
K 250	190	0,00004	4 ccm	0	lebt
K 251	200	„	0	4 ccm	„

Aus dieser Tabelle ergibt sich besonders eklatant die Tatsache, daß Dosen des Cobragiftes, die an sich für das Meerschweinchen indifferent sind, d. h. Dosen von $\frac{2}{10}$ — $\frac{6}{100}$ mg noch ein akut tödliches Gift liefern, während unter $\frac{4}{100}$ mg auch nach der Komplementdigestion keine Giftwirkung mehr erkennen ließen.

Zusammenfassung.

Es gelingt aus trockenem Tetanustoxin, Diphtherie- und Cobragift durch Digerierung mit normalem Meerschweinchen-serum ein akut tödliches Anaphylatoxin zu erhalten. Speziell für das Tetanusgift konnte gezeigt werden, daß nur innerhalb gewisser Mengenverhältnisse ein Anaphylatoxin sich bildet. Ein Ueberschuß des Tetanustoxins hemmt die Anaphylatoxinbildung.

Beim Cobragift tritt durch Digerierung mit Komplement die bereits von de Waele beobachtete Beschleunigung der spezifischen Giftwirkung zutage. Daneben aber finden wir, daß, wie beim Tetanusgift, an sich unerschwellige Dosen durch Digerierung mit Komplementserum zu akut toxischen werden.

Es wird speziell für das Tetanustoxin gezeigt, daß als Muttersubstanz für das Anaphylatoxin nicht sekundäre Bakterienverunreinigungen in Frage kommen.

Auch das Pepton des Nährbodens kann mit Rücksicht auf die Mengenverhältnisse nicht die Matrix des Giftes sein.

In Anbetracht dessen, daß man durch Digerierung mit dem Komplement alle Uebergänge von einer beschleunigten spezifischen Giftwirkung bis zu der typischen akuten Anaphylatoxinwirkung erhält, möchten wir annehmen, daß es die spezifischen Giftkomponenten sind, aus denen sich das Anaphylatoxin bildet. Eine endgültige Entscheidung ist aber natürlich nicht möglich, solange wir keines der untersuchten Toxine chemisch rein darzustellen vermögen.

Aus Toxin- und Antitoxingemischen entsteht unter gewissen Mengenverhältnissen bei intravenöser Injektion gleichfalls Anaphylatoxin, sowohl bei vorheriger Digerierung mit Komplement als auch unter gewissen Verhältnissen ohne diese. Es dürfte das darauf beruhen, daß aus den kleinen Toxin-Antitoxinkomplexen auch im Organismus schnell und leicht sich eine akut tödliche Giftdosis bilden kann, während das bei Präzipitaten aus atoischem Eiweiß und Antieiß in der Regel nicht der Fall ist.

Nachtrag bei der Korrektur. Mit Aalserum ist in neueren Versuchen (Friedberger und Ichikawa) die Bildung einer akut tödlichen Anaphylatoxindosis aus untötlichen Giftmengen im Gegensatz zu Tetanus- und Cobragift bisher nicht gelungen.

Dagegen können an sich neutralisierte Aalserum-Antiaalserumgemische durch Digerierung mit Komplement akut toxisch werden.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber die Wirkung verschiedener Serumarten auf das durch Cobragift inaktivierte Komplement.

Von Dr. Willy Jonas,

Assistent an der Universitätsfrauenklinik in Greifswald.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. März 1913.)

Durch die Untersuchungen von Omorokow¹⁾, Sachs und Omorokow²⁾, Ritz³⁾ über die Wirkung des Cobragiftes auf die Komplemente ist gezeigt worden, daß das durch Cobragiftwirkung inaktivierte Meerschweinchenserum durch jede der beiden als „Mittelstück“ und „Endstück“ bezeichneten Serumfraktionen die komplettierende Kraft wiedererlangt. Nachdem bereits Sachs und Omorokow vermutet hatten, daß dieser Vorgang durch die Annahme eines dritten Faktors bei der Komplementwirkung eine Erklärung finden könnte, ergaben sich aus der von Ritz fortgesetzten Analyse des eigenartigen Phänomens gewichtige Anhaltspunkte für diese Annahme. Es konnten nämlich einerseits aus dem durch Cobragift inaktivierten Serum mittels Kohlensäurefällung Globulin- resp. Albuminfraktionen gewonnen werden, welche sich wie Mittelstück und Endstück verhielten, ohne aber zusammen komplettierend zu wirken. Andererseits gelang es nicht nur durch Zusatz von Mittelstück und Endstück des normalen Meerschweinchensersums eine Restitution des durch Cobragift inaktivierten Serums zu erzielen, vielmehr auch durch das $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 54° inaktivierte (thermoinaktivierte) Serum. Auf Grund dieser Tatsachen, die inzwischen durch die interessanten Untersuchungen von Browning und

1) L. Omorokow, diese Zeitschr., Bd. 10, 1911, p. 285.

2) H. Sachs und L. Omorokow, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, p. 710.

3) H. Ritz, diese Zeitschr., Bd. 13, 1912, p. 62.

Mackie¹⁾, sowie E. Weil²⁾ eine vollständige Bestätigung erfahren haben, ergab sich die Anschauung, daß für die Komplementfunktion das Zusammenwirken von 3 Komponenten maßgebend ist, und zwar der beiden thermolabilen als Mittelstück und Endstück bezeichneten Agentien, sowie einer dritten durch relative Thermostabilität charakterisierten Komponente. Obwohl auch dem Mittelstück im nativen Serum eine gewisse Thermostabilität zukommt (Friedemann, Mutermilch, Marks, Husler), haben die Untersuchungen Huslers³⁾ insbesondere gezeigt, daß die dritte Komponente durch die erheblich höhere Thermostabilität von dem Mittelstück des Meerschweinchenserums markant zu differenzieren ist. Für die isolierte Funktion der dritten Komponente erwies sich dabei einviertelstündiges Erhitzen des Meerschweinchenserums auf 55° an erster Stelle geeignet.

Zweck der Untersuchungen, über welche ich mir im folgenden zu berichten erlaube, war es, die Sera verschiedener Tierarten in bezug auf ihren Vorrat an der dritten Komponente zu vergleichen. Methodisch bin ich dabei wesentlich den Angaben von Ritz und Husler gefolgt.

Als Reagens auf die dritte Komponente diente sensibilisiertes Hammelblut im Verein mit Meerschweinchenserum, das mit Cobragift vorbehandelt, demnach also nur noch Mittelstück und Endstück enthielt. Zur derartigen Inaktivierung des Meerschweinchenserums wurden nach dem Vorgang von Omorokow, Sachs und Omorokow 1 Teil Meerschweinchenserum mit 0,4 Teilen $\frac{1}{8}$ -proz. Cobragiftes $1\frac{1}{4}$ Stunden im Brutschrank (bei 37°) digeriert. Sodann wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 Teile aufgefüllt, so daß das derart erhaltene „Cobra-Meerschweinchenserum“ $\frac{1}{2}$ -verdünntem nativen Meerschweinchenserum entsprach. Zur Prüfung der Sera auf dritte Komponente wurden absteigende Mengen der einzelnen Serumsorten mit je 1 ccm sensibilisierter Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von 0,2 und auch 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserum (entsprechend 0,1 und 0,05 ccm Original-Meerschweinchenserum) digeriert (Gesamtvolumen 2,2 ccm). Die Beurteilung der Ergebnisse erfolgte nach zweistündigem Verweilen bei 37° oder am nächsten Morgen nach Aufenthalt im Eisschrank. Natürlich wurden stets die erforderlichen Kontrollen ausgeführt, insbesondere die Prüfung der verschiedenen Wärmeeinflüssen

1) C. H. Browning und T. I. Mackie, diese Zeitschr., Bd. 17, 1913, p. 1, cf. auch Bioch. Zeitschr., Bd. 43, 1912 p. 229 und Journ. Path. and Bact., Vol. 17, 1912, p. 120.

2) E. Weil, Bioch. Zeitschr., Bd. 48, 1913, p. 347.

3) J. Husler, diese Zeitschr., Bd. 15, 1912, p. 157.

unterworfen gewesenen Serumproben auf Komplementwirkung ohne weiteren Zusatz, auf etwaige Cobragift aktivierende Funktion, sowie, wenn zweckmäßig erscheinend, auch auf Mittelstück- oder Endstückfunktion.

Zur Untersuchung auf das Zusammenwirken mit dem durch Cobragift inaktivierten Meerschweinchenserum („Cobra-Meerschweinchenserum“) gelangten Kaninchen-, Pferde-Ziegen-, Rinder-, Hammel-, Schweine- und Menschenserum. Eine störende Interferenz von Komplementwirkungen kam bei diesen Serumarten nicht in Betracht, da unter den benutzten Bedingungen jedenfalls die 5 Minuten lang auf 55° erhitzten Sera in der Menge von 0,1 ccm (größere Dosen gelangten nicht zur Verwendung) an und für sich nicht komplettierend wirkten.

Was das Pferdeserum anlangt, so erwies es sich bereits nach nur 5 Minuten langem Erwärmen auf 55° nicht befähigt, die Komplementfunktion des Cobra-Meerschweinchenserums zu restituieren oder verursachte im Verein mit letzterem nur eine minimale hämolytische Wirkung, welche zudem auf Grund der Kontrollversuche auf eine geringgradige Cobragiftaktivierung bezogen werden konnte. Im Pferdeserum ist also, wenigstens in 4 untersuchten Blutproben, die dritte Komponente nicht oder nur in sehr geringer Menge nachgewiesen worden, was im übrigen bei dem ja nur geringen Grade der dem Pferdeserum zukommenden komplettierenden Funktionen nicht überraschen konnte. Dagegen übt das Pferdeserum, wie durch Bordet und Gay (vgl. hierzu auch die Arbeiten von Sachs und Bauer, Bordet und Streng, Streng, Gengou) bekannt ist, im Verein mit inaktivierten Seris, und zwar an erster Stelle mit inaktiviertem Rinderserum wesentliche Komplementwirkungen aus, und Ritz hat bereits darauf hingewiesen, daß möglicherweise das native Pferdeserum in gewisser Hinsicht dem mit Cobragift behandelten Meerschweinchenserum entspricht. Allerdings ist die bereits durch Gengou bekannte Aktivierung des Pferdeserums durch thermoinaktiviertes Meerschweinchenserum mit derjenigen des Cobra-Meerschweinchenserums insofern nicht ohne weiteres zu vergleichen, als erheblich stärkere Sensibilisierungsgrade für den Eintritt der Hämolyse erforderlich sind. Jedoch dürften zur Erklärung

dieser Differenz Unterschiede im Verhalten, resp. in der Quantität an Mittelstück und Endstück hinreichend erscheinen (cf. Ritz). Jedenfalls lassen die von mir erhobenen Befunde über das Fehlen der einer dritten Komponente zugeschriebenen Funktion im Pferdeserum es wahrscheinlich erscheinen, daß die schlechte Eignung des Pferdeserums als Komplement wenigstens zu einem wesentlichen Teil durch den Mangel dieser für die Komplementwirkung erforderlichen Qualität verursacht ist.

Im Gegensatz zu dem Verhalten des Pferdeserums habe ich in den übrigen untersuchten Serumarten die Fähigkeit, im thermoinaktivierten Zustande zusammen mit Cobra-Meerschweinchenserum komplettierend zu wirken, mehr oder weniger stark ausgesprochen gefunden. Bei allen herangezogenen Serumsorten erwies sich die Thermostabilität der dritten Komponente, wie das auch für das Meerschweinchenserum gilt, als eine relative, und dementsprechend nahm die Stärke der das Cobra-Meerschweinchenserum restituierenden Wirkung mit der Dauer des Erwärmens auf 55° sukzessive ab. Das Hammelserum übte nur eine relativ geringgradige Wirkung aus. In einem Versuche war eine komplette Hämolyse im Verein mit Cobra-Meerschweinchenserum überhaupt nicht zu erzielen, in einem anderen bewirkten 0,01 ccm des 5 Minuten lang und 0,05 ccm des 15 Minuten lang auf 55° erhitzten Hammelserums vollständige Hämolyse. In stärkerem Maße erwiesen sich Ziegen- und Rinderserum geeignet, die Funktionen der dritten Komponente zu übernehmen. Die beiden Serumarten besaßen in dieser Hinsicht eine ziemlich bedeutende Thermostabilität, indem die Unterschiede bei sukzessivem Erwärmen nur geringe waren. So betrug die komplett lösenden Dosen für Ziegenserum nach 5 Minuten langem Inaktivieren in 3 Versuchen 0,015—0,015—0,025 ccm, nach 30 Minuten langem Inaktivieren 0,025—0,025—0,05 ccm, und für Rinderserum (2 Versuche) nach 5 Minuten langem Erwärmen auf 55° 0,005 und 0,015 ccm, nach 30 Minuten langem Erwärmen 0,01 und 0,025 ccm. Beim Rinderserum ist dabei die Interferenz einer geringgradigen Cobragift aktivierenden Wirkung zu berücksichtigen¹⁾.

1) Ziegenserum besaß dagegen in den vorliegenden Kombinationen keine Cobragift aktivierende Funktion und übte auch im Verein mit Cobra-Meerschweinchenserum ohne Zusatz von Immunambozeptor nicht

Auch im inaktivierten Kaninchenserum wurden ziemlich reichliche Mengen des als dritte Komponente bezeichneten Faktors nachgewiesen. In 3 Versuchen bewirkten nach 15 Minuten langem Erhitzen noch 0,01—0,005 ccm im Verein mit dem inaktiven Cobra-Meerschweinchenserum komplette Hämolyse, bei der Untersuchung einer vierten Kaninchenserumprobe waren 0,05 ccm erforderlich. Bei länger dauerndem Inaktivieren nahm die Wirkung allerdings nicht unbeträchtlich ab, und der Vergleich mit Meerschweinchenserum dürfte dafür sprechen, daß das thermoinaktivierte Kaninchenserum in seiner Eignung, als dritte Komponente bei der Komplementwirkung zu dienen, etwa dem Meerschweinchenserum gleichkommt oder das letztere auch übertrifft. Dieses Ergebnis entspricht den jüngst von Browning und Mackie mitgeteilten Befunden, nach denen auch die thermoinaktivierte Albuminfraktion des Kaninchensersums imstande ist, die Wirkung von Cobra-Meerschweinchenserum zu restituieren, also im Sinne der dritten Komponente zu fungieren.

Die Versuche mit Menschenserum, zu denen 15 Serumproben herangezogen wurden, ergaben nicht unerhebliche Variationen, ohne daß, zumal bei der Geringfügigkeit des Materials, eine diagnostisch verwertbare Scheidung möglich war. Erwähnt sei aber, daß bei der Prüfung der durch 15 Minuten langes Erhitzen auf 55° inaktivierten Menschensera 4 Proben, welche von 2 Nephritis- und 2 Urämiefällen herrührten, die einzigen waren, welche im Verein mit Cobra-Meerschweinchenserum komplette Hämolyse herbeiführten; die komplett lösenden Dosen betragen dabei 0,01—0,05—0,05—0,025 ccm. In den übrigen Fällen (1 Urämie, 1 Thrombophlebitis, 1 Dilatatio cordis, 3 Lues, 1 multiple Sklerose, 1 Myocarditis, 3 ohne Diagnose) wurde auch mit 0,1 ccm nur eine

die geringste aktivierende Wirkung aus. Es verdient das vielleicht insofern hervorgehoben zu werden, als in Parallelversuchen das thermoinaktivierte Meerschweinchenserum zusammen mit dem Cobra-Meerschweinchenserum auch ohne Ambozeptor eine hämolytische Wirkung verursachte, obwohl es auf sensibilisiertes Blut im Verein mit Cobra-Meerschweinchenserum weniger stark wirkte, als entsprechend inaktiviertes Ziegen Serum. Man darf hieraus wohl auf eine Differenz im Zusammenwirken des Meerschweinchensersums mit Cobragift einerseits, mit Immunambozeptoren andererseits bei der Hämolyse schließen (vgl. hierzu auch Browning und Mackie, l. c.).

mehr oder weniger unvollständige Hämolyse erzielt. Nach 30 Minuten langem Erhitzen war die Funktion, als dritte Komponente zu wirken, in allen untersuchten Fällen erheblich reduziert, während nach nur 5 Minuten langer Dauer des Erwärmens stets komplette Hämolyse in den Dosen von 0,05 bis 0,01 ccm bewirkt werden konnte. Im letzteren Falle wird man aber wohl eine Interferenz von Mittelstückwirkungen zu berücksichtigen haben.

Durch überraschend starke Eignung, als dritte Komponente zu wirken, ausgezeichnet erwies sich das Schweineserum. Für die außerordentliche aktivierende Funktion, welche das Schweineserum gegenüber dem durch Cobragift inaktivierten Meerschweinchenserum auszuüben imstande ist, darf vielleicht im folgenden ein Versuchsbeispiel angeführt werden.

Je 1 ccm sensibilisierten Hammelblutes wurden mit je 0,2 ccm Cobra-Meerschweinchenserums und absteigenden Mengen aktiven resp. durch 15 und 30 Minuten langes Erhitzen auf 55°, durch 30 Minuten langes Erhitzen auf 60° inaktivierten Schweineserums digeriert. Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle.

Mengen des Schweineserums ccm	Hämolyse von 1 ccm sensibilisierten Hammelblutes durch 0,2 (0,1) ccm Cobra-Meerschweinchenserum und absteigende Mengen Schweineserums; letzteres:			
	a aktiv	b 15' 55°	c 30' 55°	d 30' 60°
0,001	komplett	komplett	komplett	komplett
0,0005	"	"	"	fast komplett
0,00025	"	"	"	stark
0,00015	"	"	"	"
0,0001	"	"	"	mäßig
0,00005	"	"	fast komplett	"
0,000025	fast komplett	stark	stark	wenig
0,000015	stark	"	"	Spur
0,00001	"	"	mäßig	0
0	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, erweisen sich nach 15 Minuten langem Erhitzen auf 55° noch $\frac{1}{20\,000}$ ccm Schweineserum, nach 30 Minuten langem Erwärmen noch $\frac{1}{10\,000}$ ccm als ausreichend, um die Komplementwirkung des durch Cobragift inaktivierten Meerschweinchenserums vollständig zu restituieren. Erst nach 30 Minuten langem Erwärmen

auf 60° ist eine 10-fache Abnahme der Wirkung zu konstatieren, wobei noch immer $\frac{1}{1000}$ ccm zur Restitution hinreicht. Wenn auch die Zahlen quantitativ variierten, so war doch in allen untersuchten Schweineserumproben die Wirkung eine außerordentlich starke (mindestens $\frac{1}{1000}$ ccm nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erwärmen auf 55°). Bemerkte sei, daß mit Cobragift allein das Schweineserum bis zur Menge von 0,1 ccm in der benutzten Anordnung keine aktivierende Funktion besaß. Ebenso war jede hämolytische Wirkung zu vermissen, wenn Schweineserum mit inaktivem Meerschweinchenserum, das zuvor mit Cobragift behandelt worden war, digeriert wurde.

Bei der ungewöhnlich starken Fähigkeit des Schweineserums, als dritte Komponente zu wirken, mußte es von Interesse erscheinen, auch die übrigen dem Schweineserum zukommenden Komplementfunktionen (Mittelstück und Endstück) etwas näher zu analysieren. Dabei erwies sich zunächst die Eignung des Schweineserums zum Komplement (ohne weiteren Zusatz) im aktiven Zustande als relativ geringgradig, und bereits nach 5 Minuten langem Erhitzen auf 55° war eine Komplettierung durch Schweineserum allein nicht mehr zu erzielen. Ebenso konnte schon in dem durch 5 Minuten langen Erwärmen (55°) inaktivierten Schweineserum Endstück (bei Zusatz von Meerschweinchenmittelstück) nicht nachgewiesen werden. Dagegen waren im Schweineserum beträchtliche Mengen der Mittelstückkomponente von nicht unerheblicher Thermostabilität festzustellen.

Zur Prüfung auf Mittelstückfunktion wurden absteigende Mengen Schweineserums mit einer nach Vorversuchen geeignet erscheinenden Endstückdosis digeriert und mit sensibilisiertem Hammelblut gemischt. Die Endstückfraktion wurde (ebenso wie das Mittelstück bei der Prüfung auf Endstück) aus Meerschweinchenserum mittels des Liefmannschen CO₂-Verfahrens in üblicher Weise gewonnen. Das derart erhaltene Endstück entsprach demnach 5-fach verdünntem Meerschweinchenserum.

Jedoch zeigte es sich, daß nicht etwa die starke Eignung des Schweineserums zur Restitution des Cobra-Meerschweinchenserums durch den hohen Gehalt an Mittelstück erklärt werden kann. Denn es gelang ohne weiteres, zwischen den Funktionen des Schweineserums im Sinne des Mittelstückes und der dritten Komponente zu differenzieren. Einerseits übertraf nach relativ geringgradiger Thermoinaktivierung des

Schweineserums die Wirkung auf Cobra-Meerschweinchenserum sehr erheblich diejenige auf Endstück, andererseits konnte bei genügenden Wärmeeingriffen ein Erlöschen der Mittelstückfunktion bei Erhaltenbleiben eines wesentlichen Teils der dritten Komponente beobachtet werden. Immerhin schien aber ein gewisser Parallelismus in der Stärke der beiden Funktionen zu bestehen. So war eine besonders stark wirksame Schweineserumprobe nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 55° noch imstande, in der Menge von $\frac{1}{40000}$ ccm Cobra-Meerschweinchenserum zu aktivieren und in der Menge von $\frac{1}{100}$ ccm komplette Hämolyse im Verein mit Meerschweinchenendstück hervorzurufen, während im aktiven Zustande bei gleichem Titer der dritten Komponente $\frac{1}{2000}$ ccm für die Mittelstückwirkung ausreichte. Ein weiteres Versuchsbeispiel, das ein weniger wirksames Schweineserum betrifft, zeigt die folgende Tabelle.

Absteigende Mengen

- 1) aktiven,
- 2) 15 Minuten auf 55° ,
- 3) 30 „ „ 55° ,
- 4) 30 „ „ 60°

erhitzten Schweineserums wurden unter Zusatz von

a) 0,1 ccm Cobra-Meerschweinchenserums (entsprechend 0,05 ccm Meerschweinchenserums);

b) 0,4 ccm Meerschweinchen-Endstücks (entsprechend 0,08 ccm Meerschweinchenserums) mit je 1 ccm sensibilisierten Hammelblutes digeriert.

Menge d. Schweine- serums ccm	Hämolyse von 1 ccm sensibilisierten Hammelblutes durch Cobra- serum (a) resp. Endstück (b) und absteigende Mengen Schweineserums							
	aktiv		15' 55°		30' 55°		30' 60°	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0,1	komplett	komplett	komplett	mäßig	komplett	mäßig	komplett	0
0,05	„	„	„	„	„	„	„	0
0,025	„	„	„	„	„	wenig	„	0
0,015	„	„	„	„	„	„	„	0
0,01	„	„	„	„	„	„	„	0
0,005	„	„	„	wenig	„	Spur	f. kompl.	0
0,0025	„	„	„	Spur	„	Spürch.	stark	0
0,0015	„	„	„	„	„	„	mäßig	0
0,001	„	„	„	Spürch.	„	0	„	0
0,0005	„	stark	„	0	„	0	„	0
0,00025	„	mäßig	„	0	„	0	wenig	0
0,00015	„	wenig	„	0	f. kompl.	0	„	0
0,0001	„	„	f. kompl.	0	stark	0	„	0
0,00005	f. kompl.	Spur	stark	0	mäßig	0	Spur	0
0,000025	stark	„	mäßig	0	„	0	„	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Die Tabelle zeigt einerseits die starke Mittelstückfunktion, welche das Schweineserum im aktiven Zustande auszuüben imstande ist, andererseits aber die erhebliche Disproportionalität, welche zwischen der Wirkung des Schweineserums als Mittelstück und als dritte Komponente beim Inaktivieren wahrzunehmen ist. Es ergibt sich mithin, daß auch für das Schweineserum zwischen dritter Komponente und Mittelstück scharf zu unterscheiden ist. Beachtenswert ist immerhin der auffällige Parallelismus, welcher in quantitativer Hinsicht zwischen beiden Funktionen besteht. So ist in anderen Serumarten, welche, wie das für Meerschweinchenserum gilt, nur über einen relativ geringen Mittelstückgehalt verfügen, auch die Eignung zur dritten Komponente in erheblich niedrigerem Maße ausgesprochen, als im Schweineserum. Vielleicht darf man dabei aber in Betracht ziehen, daß die restituierende Wirkung des Mittelstücks durch den Gehalt an dritter Komponente wesentlich beeinflußt wird, zumal wenn man berücksichtigt, daß die dritte Komponente bei der Zerlegung des Serums in die Albumin- und Globulinfraktion zum überwiegenden Teil in letzterer enthalten ist (Ritz).

Daß die aus Schweineserum gewonnene Mittelstückfraktion im Verein mit Meerschweinchenendstück besonders starke Komplementwirkung auszuüben imstande ist (0,01 ccm komplett), hatte sich bereits aus Versuchen von E. Fränkel ergeben (cf. hierzu auch Marks und Braun). Die von Fränkel¹⁾ vorgenommene nähere Analyse ergab aber, daß die dem Schweineserum zukommende, die Komplementwirkung fördernde Funktion kaum allein dem Mittelstück zugeschrieben werden dürfte, und Fränkel läßt daher die Frage, ob es sich allein um Mittelstückwirkung handelt oder nicht, offen. Nach den von mir erhobenen Befunden wird man wohl nicht fehlgehen in der Annahme, daß in den Versuchen Fränkels eine erhebliche Verstärkung der hämolytischen Kraft durch die dritte Komponente interferiert hat, welche eben im Schweineserum in ganz besonderer Stärke enthalten ist.

1) E. Fränkel, diese Zeitschr., Bd. 10, 1911, p. 388.

Zusammenfassung.

1) Bei der Untersuchung verschiedener Serumarten erwies sich Pferdeserum nicht oder nur in geringem Maße geeignet, Cobra-Meerschweinchenserum zu aktivieren (Funktion der dritten Komponente), während die anderen geprüften Serumarten (Kaninchen, Ziege, Rind, Hammel, Mensch, Schwein) in mehr oder weniger hohem Grade die Funktion der dritten Komponente ausübten.

2) Die dritte Komponente besaß in allen Serumarten eine relative Thermostabilität, indem ihre Wirkung mit der Dauer des Erwärmens sukzessive abnahm.

3) Von 15 untersuchten Proben menschlichen Blutserums waren nach 15 Minuten langem Erhitzen auf 55° nur 4 (2 Nephritis- und 2 Urämiefälle) im Verein mit Cobra-Meerschweinchenserum komplette Hämolyse hervorzurufen.

4) Als am stärksten wirksam erwies sich das Schweineserum, das nach 15 Minuten langem Erhitzen auf 55° gelegentlich noch in der Menge von $\frac{1}{20\,000}$ — $\frac{1}{40\,000}$ ccm zur kompletten Hämolyse ausreichte. Auch die Mittelstückfunktion ist im Schweineserum besonders stark ausgeprägt.

Nachdruck verboten.

[Aus der zweiten medizinischen Klinik der Charité zu Berlin
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Kraus).]

Sind die Leukocyten die Quelle der Komplemente?

Von Dr. Lippmann und Dr. Plesch,
Privatdozenten.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. März 1913.)

Bis in die allerjüngste Zeit vertritt Metchnikoff¹⁾ den Standpunkt, daß „die in den Makrophagen der Lymphdrüsen, des Epiploon und der Milz befindliche Makrocytase sich auch in den mononukleären Leukocyten des Blutes, der Lymphe und der Exsudate vorfindet und mit der hämolytischen Cytase des Blutserums identisch ist“. Und zwar ist Metchnikoff

1) Metchnikoff, Die Lehre von den Phagocyten und deren experimentelle Grundlage. In Kolle u. v. Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2, p. 652, Januar 1913.

weiter der Ansicht, daß diese in den Leukocyten befindlichen Cytasen der Komplemente erst bei der Zerstörung der Leukocyten, oder „Phagolyse“ frei werden, daß „die hämolytische Substanz der Exsudatflüssigkeit aus Leukocyten der Bauchhöhle stammt, die durch Phagolyse stark beschädigt wurden“.

Gegen diese Anschauung sind eine Anzahl Arbeiten¹⁾ erschienen, die im wesentlichen darauf beruhen, die Inkongruenz von Leukocytenextrakten und Blutserum nachzuweisen, und weiter darauf hinweisen, daß Blutserum und Blutplasma (also ohne Phagolyse entstandene Blutflüssigkeit) in gleicher Weise Cytase enthalten. Metchnikoff hat diese Einwände nicht als überzeugend anerkannt. Er rechnet mit der Möglichkeit, daß diese Inkongruenzen zwischen Serum und Leukocytenextrakt auf der Verschiedenheit der Medien beruhen, aus denen sie erhalten werden²⁾, ferner damit, daß die Extraktion aus den Leukocyten nicht nur fördernde, sondern auch hemmende Substanzen extrahiert. Auch auf die schädigende Wirkung des mehrmaligen Waschens der Leukocyten hat er als Fehlerquelle hingewiesen.

Gegen die Annahmen, nach welchen Serum und Plasma in gleicher Weise Komplemente enthalten, wendet Metchnikoff ein, daß auch die besten künstlich erhaltenen Blutplasmen nicht mit der Blutflüssigkeit des lebenden Körpers übereinstimmen.

Unter diesen Umständen studierten wir die Frage nach der Herkunft des Komplements aus den Leukocyten von neuem.

Wir bedienten uns dazu der Eigenschaft des Thorium X in großen Dosen, alle Leukocyten aus dem Organismus zu extingieren. Diese Wirkung des Thoriums hatten Pappenheim und Plesch³⁾ bei ihren Studien über die Einwirkung des Thoriums X auf den hämolytischen Apparat neben der totalen Zerstörung des Knochenmarks festgestellt.

Wir versuchten zuerst Meerschweinchen möglichst lange mit einer möglichst geringen Leukocytenzahl am Leben zu erhalten und prüften, ob das hämolytische Komplement vor der Thoriuminjektion und, als die Thiere einen moribunden Eindruck machten, eine Verminderung des Titors zeigte.

1) Genaue Literaturangaben bei E. Friedberger, Die bakteriziden Sera, und Hans Sachs, Hämolysine des Blutserum, im selben Bande.

2) Wir sehen ja auch in der Tat erhebliche Unterschiede, ob wir den „hämolytischen Vorversuch“ mit 3 oder 5 ccm Gesamtvolumen anstellen.

3) Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther., Bd. 12, H. 1.

Versuchstechnik.

5. XII. 1912. Meerschweinchen 1, 2, 3, 4. Je 2 ccm Blut durch Herzpunktion entnommen, sofort nach Gerinnung zentrifugiert, Serum im Frigo eingefroren. Meerschweinchen 1 und 2 erhalten intracordial je 185 000 Macheeinheiten in 2 ccm Flüssigkeit. Meerschweinchen 3 und 4 erhalten intracordial 2 ccm Kochsalzlösung.

Leukocytenbestimmung.

Tabelle I. Leukocytenzählung.

Datum	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4
Thoriumdosis 5. XII. 1912	185 000 ME.	185 000 ME.	0	0
5. XII. 1912	13 500	10 800	11 500	9 800
6. XII. 1912	4 200	4 600	10 700	9 260
7. XII. 1912	3 800	3 900		
8. XII. 1912	3 600	4 000		
9. XII. 1912	2 800	2 400		
10. XII. 1912	1 200	1 400	9 900	10 200
11. XII. 1912	400	480		
12. XII. 1912	0	0		
13. XII. 1912	0	0	8 750	9 900

13. XII. 1912. Meerschweinchen 1 und 2 extrem abgemagert, machen einen moribunden Eindruck und werden entblutet, ebenso werden Meerschweinchen 3 und 4 entblutet.

Zur Feststellung des Einflusses, den das Einfrieren und die Aufbewahrung des Serums und die Blutverdünnung durch Blutentnahme und Ersatz durch gleiche Mengen Kochsalzlösung gehabt hatte, wurde von den unbehandelten Meerschweinchen 3 und 4 das Serum vom 5. XII. und 13. XII. auf seinen Gehalt an hämolytischem Komplement untersucht.

Tabelle II.

Serummenge	Meerschweinchen 3		Meerschweinchen 4	
	Serum vom		Serum vom	
	5. XII.	13. XII.	5. XII.	13. XII.
0,1	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,08	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,05	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,04	k. L.	f. k. L.	k. L.	f. k. L.
0,025	k. L.	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe
0,02	Schleier	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe
0,0125	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe	gr. Kuppe
0,01	f. k. H.	f. k. H.	gr. Kuppe	gr. Kuppe

0,1 Komplement allein bewirkt keine Spur Hämolyse.

Konstant waren Hämolysinverdünnung 1:100 eines Serums, das gewöhnlich in 2 Stunden in der Verdünnung 1:2000 noch komplett löste; 5-proz. Hammelblutaufschwemmung; Auffüllen auf 5 ccm mit Kochsalzlösung, Ablesen nach 2 Stunden bzw. am nächsten Morgen.

Somit war festgestellt, daß etwaige große Lösungsdifferenzen nicht Folgen der Blutabnahme oder der Flüssigkeitsinjektion als solcher sein konnten. Wir machten also denselben Versuch mit den beiden mit Thorium X behandelten Tieren 1 und 2 bei gleicher Technik.

Tabelle III.

Serummenge	Meerschweinchen 1		Meerschweinchen 2	
0,1	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,08	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,05	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,04	k. L.	k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe
0,025	k. L.	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe
0,02	Schleier	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe
0,0125	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe	gr. Kuppe
0,01	gr. Kuppe	f. k. H.	kl. Kuppe	gr. Kuppe

0,1 Komplement allein bewirkt keine Spur von Hämolyse.

Somit war nachgewiesen, daß Tiere, die 1 Tag lang mit sehr wenigen und 2 Tage lang ganz ohne Leukocyten gelebt hatten, dieselben Komplementverhältnisse aufwiesen wie Tiere mit intaktem hämatopoëtischen und Leukocytenapparat.

Diese Versuche waren aber nicht beweisend. Wir wissen, daß die Tiere eine große Neigung zur Konstanz ihres Komplementgehaltes haben. Zeigten doch Tiere, denen man das Komplement absorbiert hatte, bereits nach 2—4 Stunden in den Versuchen von Scheller und Schütze¹⁾ eine Regeneration des Komplementes.

Wir änderten infolgedessen die Versuchstechnik dahin, daß wir durch sehr große Thoriumdosen eine gewaltige Phago-lyse binnen ganz kurzer Zeit bewirkten. Wenn wirklich die Leukocyten die Ursprungsstätte des Komplements waren, so

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36.

mußte jetzt eine Steigerung des Komplementes auftreten, da aus den Versuchen von Fassin²⁾ hervorgeht, daß die Vermehrung des Komplements erst nach 2—3 Tagen verschwindet. Diese Steigerung blieb aus, wie das folgende Protokoll zeigt:

Meerschweinchen 5 (410 g).

12. XII. 1912, 2 Uhr, W = 13000. Herzpunktion. Entnahme von 2 ccm Blut, Injektion von 2 ccm Thorium X mit 6400000 Macheeinheiten.
 12. XII. 1912, 5 Uhr, W = 2900. Im gefärbten Präparate erweist sich, daß auch die Zahl der großen mononukleären Zellen entsprechend reduziert ist. Entnahme von 2 ccm Blut durch Herzpunktion.
 13. XII. 1912, 12 Uhr, W = 2500. Entnahme von 2 ccm Blut durch Herzpunktion.

Meerschweinchen 6 (430 g).

12. XII. 1912, 2 $\frac{1}{2}$ Uhr, W = 10200, Blutentnahme. Injektion von 5720000 Macheeinheiten.
 12. XII. 1912, 5 $\frac{1}{4}$ Uhr, W = 3400, Blutentnahme, qualitativ unverändertes Leukocytenbild.
 13. XII. 1912, 12 $\frac{1}{4}$ Uhr, W = 3000, Blutentnahme.

Um den Einfluß der verschiedenen Blutentnahmen und der Aufbewahrung im Frigo auf den Komplementgehalt zu kontrollieren, wurde wieder den gleich schweren normalen Meerschweinchen 7 (425 g) und 8 (440 g) zu gleichen Zeiten Blut entnommen und an Stelle der Thoriuminjektion die gleiche Menge (2 ccm) Kochsalzlösung injiziert.

Tabelle IV.

Serummenge	Meerschweinchen 5			Meerschweinchen 6		
	vor der Thor.-Inj.	3 Std. danach	22 Std. danach	vor der Thor.-Inj.	3 Std. danach	22 Std. danach
0,1	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,08	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,05	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,04	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,025	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,02	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	k. L.	f. k. L.	Schleier
0,0125	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	k. L.	f. k. L.	f. k. L.
0,01	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.

2) Comptes-rendus de la Société de Biologie, 1907.

Serummenge	Meerschweinchen 7 (normal)			Meerschweinchen 8 (normal)		
	Blutentnahme			Blutentnahme		
	sofort	3 Std.	22 Std.	sofort	3 Std.	22 ^b später
0,1	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,08	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,05	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,04	k. L.	f. k. L.	k. L.	k. L.	Schleier	k. L.
0,025	Schleier	f. k. L.	k. L.	f. k. L.	f. k. L.	k. L.
0,02	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.
0,0125	f. k. L.	f. k. L.	f. k. L.	kl. Kuppe	kl. Kuppe	kl. Kuppe
0,01	gr. Kuppe	f. k. L.	f. k. L.	gr. Kuppe	gr. Kuppe	gr. Kuppe

0,1 Komplement bewirkte nirgends allein Hämolyse.

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß die Phagolyse jedenfalls keine Steigerung des Komplementgehaltes bewirkt hat und daß die Faktoren der Blutentziehung ohne wesentlichen Einfluß auf die Komplementverhältnisse sind.

Wir führten diesen Versuch auch in der Weise aus, daß wir bei konstanter Komplementdosis mit fallenden Hämolysismengen arbeiteten. Wir suchten zu diesem Zweck 4 Tiere aus, bei denen die Komplementtitration mit fallenden Komplementmengen untereinander identische Hämolysin-kompletierende Fähigkeit aufwies.

Meerschweinchen 9 wurde unbehandelt sofort entblutet.

Meerschweinchen 10 wurde mit 7 000 000 Macheeinheiten gespritzt und nach 24 Stunden entblutet.

Meerschweinchen 11 wurde mit 7 000 000 Macheeinheiten gespritzt und nach 24 Stunden entblutet.

Meerschweinchen 12 wurde zur Kontrolle 24 Stunden nach Injektion von 2 ccm Kochsalz entblutet.

Tabelle V.

Hämolysin- verdünnung	Tier 9	Tier 10	Tier 11	Tier 12
	Normaltier	6 Std. nach Injektion von 7 000 000 ME.	24 Std. nach Injektion von 7 000 000 ME.	24 Std. nach Injektion von 2 ccm NaCl
1 : 200	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
1 : 400	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
1 : 800	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
1 : 1600	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
1 : 3200	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
1 : 6400	f. k. H.	k. H.	f. k. H.	gr. Kuppe
1 : 12800	k. H.	k. H.	k. H.	f. k. H.
Kochsalzkontrolle	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.
Komplementkontr.	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.

37*

Der Versuch zeigte also auch keine Differenz zwischen den normalen und akut phagolysierten Tieren.

Um aber alle Fehlerquellen zu umgehen, schlossen wir noch folgende Versuche an. Wir prüften die Regeneration des Komplements bei Tieren, denen wir durch hohe Thoriumdosen Knochenmark und Leukocyten zerstört hatten und verglichen diese mit Normaltieren.

Meerschweinchen 13 und 14 erhielten am 10. II. 13 eine Injektion von 3200000 Macheeinheiten. Am 13. II. 13 war bei beiden, wie durch zwei Untersuchungen im Abstand von 3 Stunden festgestellt wurde, ein völliges Verschwinden der Leukocyten aus dem Blute aufgetreten. Beide Tiere erhielten nun gleichzeitig mit zwei Kontrolltieren 2 ccm sensibilisiertes Hammelblut (unverdünnten Hammelerythrocytenbrei und Hammelbluthämolysinverdünnung 1:10 zu gleichen Teilen, nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Sensibilisieren im Brutschrank bei 37°) ins Herz gespritzt. Nach 2 Stunden und nach 24 Stunden wurde Blut zur Komplementbestimmung entnommen. Der Versuch verlief folgendermaßen:

Tabelle VI. Tiere ohne Knochenmark und Leukocyten.

Serummenge	Tier 13			Tier 14		
	vor	2 ^h nach	24 ^h nach	vor	2 ^h nach	24 ^h nach
	der Einspritzung von sensibilisiertem Hammelblut					
0,1	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,08	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	gr. Kuppe	k. L.
0,05	k. L.	f. k. L.	k. L.	k. L.	f. k. H.	k. L.
0,04	k. L.	gr. Kuppe	k. L.	k. L.	f. k. H.	k. L.
0,025	k. L.	gr. Kuppe	k. L.	gr. Kuppe	k. H.	gr. Kuppe
0,02	k. L.	f. k. H.	k. L.	gr. Kuppe	k. H.	gr. Kuppe
0,0125	f. k. L.	k. H.	f. k. L.	f. k. H.	k. H.	k. H.
0,01	f. k. L.	k. H.	gr. Kuppe	k. H.	k. H.	k. H.
	Normaltiere.					
Serummenge	Tier 15			Tier 16		
	vor	2 ^h nach	24 ^h nach	vor	2 ^h nach	24 ^h nach
	der Einspritzung von sensibilisiertem Hammelblut					
0,1	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.
0,08	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	gr. Kuppe	k. L.
0,05	k. L.	Schleier	k. L.	k. L.	k. H.	k. L.
0,04	k. L.	kl. Kuppe	k. L.	k. L.	k. H.	k. L.
0,025	k. L.	f. k. H.	k. L.	gr. Kuppe	k. H.	f. k. H.
0,02	k. L.	k. H.	Schleier	f. k. H.	k. H.	f. k. H.
0,0125	f. k. L.	k. H.	f. k. L.	k. H.	k. H.	k. H.
0,01	f. k. L.	k. H.	Kuppe	k. H.	k. H.	k. H.

Bei Tier 13 und 15 Hämolysinverdünnung 1:100.
Bei Tier 14 und 16 Hämolysinverdünnung 1:1000.

Somit war erwiesen, daß die Tiere, die keinen Leukocyten und kein Knochenmark mehr hatten, in gleicher Weise Komplement zu regenerieren vermochten wie die Normaltiere.

Zusammenfassung.

1) Durch Thorium X aleukocytär gemachte Meerschweinchen besitzen in gleicher Weise hämolytisches Komplement wie Normaltiere.

2) Akute im Tierkörper bewirkte Phagolyse macht keine Steigerung des Gehaltes an hämolytischem Komplement.

3) Der Leukocyten und des Knochenmarks beraubte Tiere vermögen in gleicher Weise das ihnen durch Einspritzung von sensibilisiertem Blut absorbierte hämolytische Komplement zu regenerieren wie Normaltiere.

Danach können also weder Leukocyten noch Knochenmark als Ursprungsstätte des hämolytischen Komplementes angesprochen werden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. O. Bail).]

Ueber die Spezifität der von sensibilisierten Bakterien abgesprengten bakteriolytischen Immunkörper¹⁾.

Von **Karl Rotky.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. März 1913.)

Im Anschluß an die Untersuchungen über die Absprengung der bakteriolytischen Immunkörper²⁾ von Cholera-vibrionen, die in normalem Rinderserum sensibilisiert waren, wurden eingehende Versuche über die Art des so gewonnenen Immunkörpers angestellt, da es von Anfang an sich ergeben hatte, daß diese abgesprengten nun ein vom normalen Immunkörper abweichendes Verhalten zeigen. Wie die zahlreichen diesbzüglichen Versuche nunmehr mit vollständiger Eindeutigkeit ergaben, handelt es sich dabei um eine Veränderung im Sinne der Spezifität.

Schon Bail und Tsuda³⁾ haben eine gewisse Spezifität der Wirkung in Extrakten aus sensibilisierten Cholera-vibrionen gefunden, aber erst die

1) Ausgeführt mit Unterstützung der „Gesellschaft zur Förderung Deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen“.

2) Bail und Rotky, Versuche über die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17.

3) Bail und Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1. No. 3.

bedeutenden technischen und methodischen Verbesserungen, die sich im Verlauf der in der obenerwähnten Arbeit gemachten Versuche ergaben und die neben der Heranziehung des bakteriziden Plattenversuches namentlich darin bestandern, daß es gelang, Flüssigkeiten von vielfach stärkerer Wirkung zu erhalten, als das zur Herstellung verwendete Normalserum, ermöglichten auch jetzt den Nachweis der Spezifität.

Gegen den denkbaren Einwand, man habe es in allen derartigen Versuchen nicht mit einer wirklichen Veränderung der normalen Immunkörper, sondern nur mit einer Isolierung bzw. Konzentration spezifischer, von Anfang an im Normalserum nebeneinander vorhandener zu tun, wurden schon von Bail und Tsuda, sowie von Bail und Rotky Gegengründe geltend gemacht und ich verweise deshalb nur noch besonders auf die in einigen der nachstehenden Versuche sehr deutlich zutage tretende Erscheinung, daß die als „künstliche Immunsera“ bezeichneten, durch Absprengung in aktivem Serum hergestellten bakteriziden Flüssigkeiten, gegen heterologe Bakterien deutlich „erschöpft“ sind: sie wirken viel schwächer als das normale Serum. Zunächst wurden Extrakte untersucht, die in der Weise hergestellt waren, daß die Vibrionen in Rinderserum, das teils aktiv, teils inaktiv verwendet wurde, sensibilisiert, gewaschen und in NaCl-Lösung oder verdünntem Meerschweinchenserum abgesprengt wurden.

Versuch I.

2 Kulturen Cholera 74 werden über Nacht mit 15 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, einmal gewaschen und mit 1 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° extrahiert. Vor dem Versuch wurde der Extrakt und das als Kontrolle verwendete Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt.

Die Menge des Extraktes war 0,075, 0,025, 0,01 ccm, die Komplementmenge 0,05 ccm Meerschweinchenserum.

	Einsaat	0,075 Extr.	0,025 Extr.	0,01 Extr.
Cholera 74	17 000	224	88	23
Vibrio c	17 000	unzählbar	unzählbar	unzählbar
Vibrio 134	50 000	50 000	30 000	50 000

Die Kontrolle mit Komplement allein ergab bei Cholera 74 und bei Vibrio c unbeschränkte Vermehrung, bei Vibrio 134 16 000 Kolonien.

Das Rinderserum ergab in den gleichen Verdünnungen folgende Zahlen:

Cholera 74	96	0	800
Vibrio c	16 000	50 000	100 000
Vibrio 134	54	4000	13 000

Versuch II.

2 Kulturen Cholera Konstantinopel werden über Nacht mit 20 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisiert, zweimal gewaschen und mit 1-fach

verdünntem Meerschweinchenserum (2 ccm) 1 Stunde bei 42° extrahiert. Vor dem Versuche werden Extrakt und das zur Kontrolle verwendete, mit der gleichen Menge Meerschweinchenserum verdünnte Rinderserum 1/2 Stunde auf 56° erwärmt. Die Komplementmenge betrug auch in diesem Versuche sowie in allen folgenden, wo nicht ausdrücklich anderes erwähnt ist, 0,05 ccm Meerschweinchenserum in 0,4 NaCl-Lösung.

	Einsaat	0,1 Extr.	0,05 Extr.	0,01 Extr.
Cholera	21 000	144	280	290
Vibrio b	20 000	50 000	80 000	22 000
Vibrio g	8000	unzählbar	unzählbar	unzählbar
	0,1 Rinders.	0,05 Rinders.	0,01 Rinders.	
Cholera	5	768	20 000	
Vibrio b	160	726	4000	
Vibrio g	11	144	8000	

Komplementkontrolle, Cholera Konstantinopel und Vibrio g ∞, Vibrio b 30 000.

Versuch III.

1 Kultur Vibrio 134 über Nacht mit 20 ccm inaktivem Rinderserum, dann mit frischem inaktivem Rinderserum durch 25 Minuten bei 37° behandelt, in 1 ccm 1-fach verdünntem aktiven Meerschweinchenserum 1 Stunde bei 37° abgesprengt.

Als Kontrolle Rinderserum 56° mit der gleichen Menge Meerschweinchenserum verdünnt. Alle Proben wurden 1/2 Stunde auf 56° erwärmt.

		Vibrio 134	Chol. Konstpl.
0,1 Extrakt + 0,05 Kompl.		3	16 000
0,05 " + " "		1	17 000
0,01 " + " "		0	38 000
0,1 Rinders. + " "		72	31
0,05 " + " "		96	40
0,01 " + " "		48	3000
Komplementkontrolle		656	21 000

Obwohl dieser Versuch durch die Eigenwirkung des Komplements auf den Vibrio 134 etwas beeinträchtigt wird, ist er doch durch die fast vollständige Unwirksamkeit desselben Extraktes auf die Cholera bemerkenswert.

Versuch IV.

2 Kulturen Cholera Kraus werden mit 25 ccm inaktivem Rinderserum 3/4 Stunden bei 42° sensibilisiert, einmal gewaschen und mit 2 ccm NaCl-Lösung + 0,5 ccm aktivem Meerschweinchenserum 1 Stunde bei 42° extrahiert. In der gleichen Weise mit Meerschweinchenserum verdünntes inaktives Rinderserum dient als Kontrolle; beide Flüssigkeiten 1/2 Stunde bei 56°.

	Einsaat	Chol. Kraus	Chol. Konstpl.	Vibr. 11	El Tor
0,075 Extrakt + 0,05 Kompl.		1712	768	unzählb.	72
0,01 " + " "		2224	3116	"	12 000
0,075 Rinders. + " "		528	84	100 000	48
0,01 " + " "		612	96	250 000	1416
Komplementkontrolle		200 000	überall	unzählbar	

Die Einsaat betrug beim Vibrio 11 250 000, bei allen anderen 200 000.

Versuch V.

1 Kultur Vibrio 134 wurde über Nacht bei Zimmertemperatur mit 25 ccm inaktivem + 15 ccm aktivem Rinderserum sensibilisiert, einmal gewaschen und in 1 ccm 1-fach verdünntem aktivem Meerschweinchenserum 1 Stunde lang bei 42° abgesprengt. Ebenso wie das als Kontrolle verwendete, mit der gleichen Menge Meerschweinchenserum gemischte Rinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°. Dieser Versuch wurde mit einer Komplementmenge von 0,06 ccm angesetzt.

	Eins. Vibr. 134 = 7000	Eins. Chol. Konstpl. = 200 000	Eins. Vibr. m = 832
0,1 Extrakt	432	100 000	4000
0,035 "	304	30 000	9000
0,005 "	1962	unzählbar	17 000
0,1 Rinders.	5	1172	208
0,035 "	3000	80 000	736
0,05 "	2100	11 000	624
Kompl.-Kontr.	23 000	unzählbar	25 000

Im folgenden seien einige Versuche angeführt, in denen die Spezifität auf dem Wege der Extrakterschöpfung gezeigt wird; es handelt sich nämlich darum, zu zeigen, daß die Immunkörper des Extraktes nur durch die entsprechenden Bakterien gebunden werden, während fremde Bakterien den Extrakt unverändert lassen.

Versuch VI.

4 Kulturen Cholera 74 werden mit 30 ccm inaktivem + 10 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 37° sensibilisiert, 1 mal gewaschen und in 3 ccm 1-fach verdünntem Meerschweinchenserum 1 Stunde lang bei 42° abgesprengt, Extrakt A; zu 0,3 ccm Extrakt A werden 0,7 ccm NaCl-Lösung zugesetzt.

Der Extrakt wird durch $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° mit den Bakterien behandelt, die hierauf durch Zentrifugieren entfernt werden.

1 ccm verd. Extr. A + 1 Kult. Chol. 74	gibt den Extr.	I
1 " " " A + 1 " " Konst.	" " "	II
1 " " " A + 1 " Vibr. 134	" " "	III

Der unbehandelte Extrakt ist als Extrakt A bezeichnet. Als Kontrolle 0,3 (Rinderser. + Meerschweinchenser. $\bar{a}\bar{a}$) + 0,7 NaCl. Alle Flüssigkeiten wurden $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erwärmt. Das Komplement ist hier nur in einer Menge von 0,025 ccm verwendet und hat allein gar keine bakterizide Wirkung. Die Extrakte erwiesen sich als steril. Einsaat Chol. 74 = 50 000.

	0,15 ccm	0,075 ccm	0,01 ccm
Extr. A	112	112	240
" I	100 000	150 000	200 000
" II	150 000	150 000	200 000
" III	5 000	168	2 000
Rinderser.	19	96	8 000

Versuch VII.

Herstellung des Extraktes wie im vorigen Versuch.

0,3 Extr. A + 0,7 NaCl + 1 Kult. Chol. 74 = Extr. I
 „ „ A + „ „ + 1 „ Vibrio 134 = „ II
 „ „ A + „ „ + 1 „ „ g = „ III

$\frac{3}{4}$ Stunden bei 42° behandelt, hierauf zentrifugiert. Alle Flüssigkeiten
 $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt, wodurch sie, wie Ausstriche auf Agar ergeben,
 vollkommen steril werden.

	Extrakt I	II	III
0,1 Extr. + 0,035 Kompl.	4 000	80	112
0,075 „ + „ „	15 000	0	2
0,01 „ + „ „	200 000	992	1056

Der unbehandelte Extr. A ergab mit der gleichen Komplementmenge
 und Einsaat folgende Zahlen:

	Extrakt A	Rinderserum 56°
0,05	0	3
0,01	240	5
0,005	736	9
0,0025	752	17
0,001	376	144
0,0005	3000	13 000
0,0001	3000	16 000
0,00001	1008	40 000

Die Komplementkontrolle ergab 150 000 Kolonien, die Einsaat betrug
 5000 Keime.

Daß die Spezifität auch dann zutage tritt, wenn die Ab-
 sprengung derartig sensibilisierter Vibrionen im Körper des
 lebenden Meerschweinchens erfolgt, zeigt der folgende Ver-
 such (ähnliche Versuche sind auch in der bereits mehrfach
 zitierten Arbeit von Bail und Rotky angeführt).

Versuch VIII.

Einem Meerschweinchen wird aus der Carotis Blut entnommen, welches
 das Serum A liefert; sodann wird dem Tier eine 2 mal hintereinander mit
 je 10 ccm inaktivem Rinderserum sensibilisierte und gewaschene Kultur von
 Cholera 74 intravenös injiziert. Das Tier starb 1 Stunde nach der In-
 jektion. Sein Blut gab das sterile Serum B; beide Seren wurden $\frac{1}{2}$ Stunde
 bei 56° inaktiviert. Die Komplementmenge betrug 0,05 ccm.

	Eins. Chol. 74 = 20 000	Eins. Vibr. 134 = 30 000	Eins. Typhus = 100 000
0,1 Ser. A	unzählbar	150 000	50 000
0,05 „ A	„	200 000	100 000
0,01 „ A	„	unzählbar	109 000
0,1 Ser. B	4 000	unzählbar	unzählbar
0,05 „ B	21 000	„	„
0,01 „ B	23 000	„	150 000
Komplementkontr.	unzählbar	„	150 000

Versuch IX.

In ähnlicher Weise wie im vorhergehenden Versuch wird einem Meer-schweinchen eine mit 10 ccm inaktivem Rinderserum über Nacht sensibilisierte Kultur von Cholera Konstantinopel in die Jugularvene injiziert und das Tier, das keine besonderen Krankheitssymptome zeigt, nach 2 Stunden verblutet: Ser. B.

Eine Blutentnahme vor der Injektion gab das Ser. A. Je 0,3 ccm Ser. B wurden durch 1 Stunde mit einer Oese Chol. Konstantinopel (Ser. I), Vibrio b (Ser. II) und Typhus (Ser. III) bei 38° behandelt. Alle Sera 1/2 Stunde auf 56° erhitzt. Die Komplementmenge betrug 0,05 ccm.

	Eins. Chol. = 150 000	Eins. Vibr. b = 60 000	Eins. Typhus = 100 000
0,1 Ser. A	unzählbar	60 000	100 000
0,05 „ A	„	60 000	100 000
0,1 „ B	2 500	100 000	100 000
0,05 „ B	3 000	80 000	100 000
0,1 Rinderser. (56°)	5	50 000	45 000
0,05 dgl.	124	1 568	32 000

Komplementkontrolle überall unzählbar.

Die Sera I—III ergaben mit derselben Komplementmenge und derselben Einsaat Chol. Konstantinopel folgende Werte:

	Ser. I	Ser. II	Ser. III
0,1	unzählbar	7000	4000
0,05	„	9000	4000

Bemerkenswert ist bei diesem Versuch die Erscheinung, daß der choleraähnliche Vibrio immerhin eine gewisse Menge der Immunkörper aus dem Serum herausnimmt, während der Typhus es nahezu unverändert läßt.

In einer weiteren Versuchsreihe soll nun noch gezeigt werden, daß die gleiche Spezifität der Wirkung auch dann hervortritt, wenn als Abspengungsmittel dasselbe Serum verwendet wird, das zur Sensibilisierung diente. Wie Bail und Rotky gezeigt haben, ist eine solche Abspengung nur bei Verwendung aktiver Flüssigkeiten möglich, sei es, daß die sensibilisierten Bakterien mit aktivem Serum extrahiert werden, oder daß schon zur Sensibilisierung aktives Serum genommen wird. In den folgenden Versuchen wurde der technische Fortschritt der „momentanen“ Sensibilisierung in Anwendung gebracht, die darin besteht, daß die Vibrionen in aktivem Rinderserum aufgeschwemmt und sofort, meist ehe eine sichtbare Agglutination eintrat, in eine Zentrifuge von hoher Tourenzahl gebracht wurden; das Zentrifugieren ging rasch vor sich, und es trat dabei in der Regel keine oder nur sehr geringe Bakteriolyse ein. Bemerkenswert ist die Erscheinung, daß

auf diesem Wege von choleraähnlichen Vibrionen wirksame Extrakte überhaupt schwer und nur dann erhalten wurden, wenn die Sensibilisierung etwas verlängert, am besten bis zu den ersten auftretenden Spuren von Agglutination (2—10 Minuten) vorgenommen wurde. Es hängt diese Erscheinung jedenfalls mit der geringeren Empfindlichkeit dieser Vibrionen, die eine Verlängerung der Reaktionszeiten zur Folge hat, zusammen.

Versuch X.

Eine Kultur Cholera Konstantinopel wird mit 10 ccm aktivem Rinderserum bei 37° bis zu starker Agglutination (5 Minuten behandelt, zentrifugiert und mit 1 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 40° extrahiert. Als Kontrolle dient aktives Rinderserum. Vor dem Versuch, der mit einer Komplementmenge von 0,05 ccm angesetzt wird, werden Extrakt und Kontrollserum 1/2 Stunde auf 56° erwärmt.

Die Einsaat betrug für Cholera Konstantinopel 50 000, für Vibrio 134 100 000; die Zahlen in der Klammer gelten für den Vibrio 134.

	Extrakt	Rinderserum
0,1	40 (100 000)	32 (0)
0,05	1500 (20 000)	25 (12)
0,01	2000 (100 000)	100 000 (96)

Komplementkontrolle Cholera: 50 000, für Vibrio: 100 000

Sehr auffallend ist hier die vollständige Unwirksamkeit des Extraktes auf den Vibrio 134 zu erkennen, während das zur Extraktbereitung verwendete Serum selbst sehr stark auf ihn wirkt. In der niedrigsten Dosis tritt außerdem die erhöhte Wirksamkeit des Extraktes gegenüber dem Rinderserum auf Cholera deutlich hervor.

Versuch XI.

2 Kulturen Cholera 74 mit 20 ccm aktivem Rinderserum kurz sensibilisiert, in 2 Teilen zentrifugiert; der eine Teil mit 1 ccm aktivem, der andere mit 1 ccm des überstehenden („erschöpften“) Serums 1 Stunde bei 37° abgesprengt. Als Ser. I und II bezeichnet. Als Kontrollen aktives und erschöpftes Serum.

Alles 1/2 Stunde auf 56°. Komplementmenge = 0,05 ccm.

	Eins. Chol. 74 = 500 000	Eins. Chol. Konst. = 75 000	Eins. Vibrio 134 = 100 000
0,025 Ser. I	19 000	208	50 000
0,005 „ I	5 000	4 000	48 000
0,025 „ II	5 000	380	13 000
0,005 „ II	23 000	6 000	28 000
0,025 akt. Rinderser.	7 000	17 000	304
0,005 dgl.	12 000	18 000	6 000
0,025 ersch. Ser.	50 000	75 000	10 000
0,005 dgl.	unzählbar	75 000	21 000
Komplementkontr.	„	unzählbar	9 000

Das aktive Serum, welches in den gewählten Dosen auf die Cholera-
stämme nur schwach wirkt, wird durch die kurze Behandlung mit Cholera
für Cholera wie für den Vibrio 134 unwirksam, das erschöpfte Serum wird
nur für beide Cholera ergänzt, das Serum I wirkt nur auf die beiden
Cholera stämme.

Versuch XII.

Wiederholung des vorigen Versuches mit Vibrio 134. Gleiche Be-
zeichnungen. Der Versuch wird mit einer Komplementmenge von 0,05 ccm,
einer Einsaat Vibrio 134 = 60 000, Cholera 74 = 150 000 angesetzt. Die
Zahlen in der Klammer beziehen sich auf die Cholera.

	Serum I	Serum II	akt. Serum	ersch. Serum
0,05	3000 (13 000)	6000 (12 000)	224 (24)	60 000 (17 000)
0,01	2100 (15 000)	3000 (14 000)	240 (1408)	31 000 (28 000)
0,005	2000 (18 000)	2000 (15 000)	784 (7000)	21 000 (45 000)

Die Komplementkontrolle ergab für Vibrio 134: 14 000, für Cholera
74: unzählbar.

Auch hier fällt vor allem neben der Spezifität der Sera I und II
die nichtspezifische Erschöpfung des aktiven Rinderserums auf.

In noch viel schönerer Weise trat aber die Erscheinung
der spezifischen Wirkungsweise bei den als „künstliche Immun-
sera“ bezeichneten Extrakten hervor. Diese wurden in der
Weise hergestellt, daß die Vibrionen in großen Mengen
aktiven Serums (meist 50—80 ccm pro Kultur) „momentan
sensibilisiert und in wenig aktivem Serum (ca. 1—2 ccm pro
Kultur) extrahiert wurden.

Versuch XIII.

1 Kultur Cholera 74 in 72 ccm aktivem Rinderserum „momentan“
sensibilisiert, in 1 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde lang bei 42°
digeriert. Mit dem als Kontrolle verwendeten aktiven Rinderserum
1/2 Stunde auf 56° erwärmt. Die Einsaat von Cholera 74 betrug 16 000,
die des Vibrio b. auf den sich die Zahlen in Klammern beziehen, 5000
Keime. Komplementmenge = 0,05 ccm.

	Extrakt	akt. Rinderserum
0,01	12 (7000)	514 (864)
0,005	0 (4000)	5 (896)
0,001	0 (4000)	15 000 (1002)
0,0005	112 (40000)	12 000 (30 000)

Die Komplementkontrolle ergab für die Cholera 300 000, für den
Vibrio unzählbar viele Keime.

Versuch XIV.

1 Kultur Vibrio 134 wurde mit 50 ccm aktivem Rinderserum bis
zur Agglutination (ca. 3 Minuten) behandelt und in 1 ccm aktivem Rinder-
serum 1 Stunde lang bei 38° digeriert; vor dem mit 0,05 ccm Komple-

ment angesetzten Versuch wurde Extrakt und aktives Kontrollrinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert.

Zur Einsaat wurde Vibrio 134 und Cholera 74 verwendet. Die Zahlen in der Klammer beziehen sich auf Cholera.

	Extrakt	akt. Rinderserum
0,2	0 (104)	248 (15)
0,1	0 (96)	144 (9)
0,01	48 (6000)	3000 (5000)
0,001	560 (150 000)	9000 (14 000)
0,0001	8000 (unzählbar)	8000 (150 000)

Die Einsaat Vibrio 134 betrug 45 000 Keime, die Einsaat Cholera 74 16 000, die Komplementkontrolle ergab die Zahlen 9000 und unzählbar.

Das Rinderserumextrakt ist somit gegen Vibrio 134 unter Berücksichtigung der Komplementwirkung in seiner Wirkung erhöht, gegen die Cholera deutlich abgeschwächt.

Da bei diesen Versuchen dem Nachweis der Spezifität insofern Schwierigkeiten erwachsen, als es nicht recht gelang, einen Vibrio zu finden, der vom normalen Rinderserum in gleicher Weise beeinflusst wurde, wie die Cholera, und andere Bakterien dessen Einfluß meist nur in sehr hohen Dosen unterlagen, war auch hier die Methode der Extrakterschöpfung der günstigste Weg, um zum Ziele zu gelangen. Im folgenden seien daher noch einige derartige Versuche mitgeteilt.

Versuch XV.

Eine Kultur Cholera 74 wird mit 10 ccm aktivem Rinderserum, das auf 37° vorgewärmt war, momentan sensibilisiert und zentrifugiert; der Bodensatz wird in 2,5 ccm des überstehenden, erschöpften Serums durch $\frac{3}{4}$ Stunden bei 40° abgesprengt, dieser Extrakt I mit verschiedenen Bakterien, die vorher bei 60° abgetötet wurden, behandelt.

0,5 ccm Extrakt I behandelt mit $\frac{1}{2}$ Kultur Cholera 74 ergibt den Extrakt II, dieselbe Extraktmenge behandelt mit Typhus den Extrakt III, mit Vibrio 134 den Extrakt IV. Die Komplementmenge betrug 0,05 ccm und ließ für sich allein unzählbare Vermehrung zu, die Einsaat der Cholera 74 war 75 000 Keime. Alle Extrakte, sowie das aktive und das erschöpfte Rinderserum die als Kontrolle dienten, wurden $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert.

	akt. Rinderserum	ersch. Rinderserum	Extrakt I
0,075 ccm	96	21 000	7 000
0,025 „	1008	60 000	15 000
	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV
0,075 „	200 000	7 000	18 000
0,025 „	unzählbar	16 000	19 000

Der Extrakt ist, wohl infolge der geringen zur Sensibilisierung benötigten Serummenge, schwach und zeigt ebenfalls die bereits erwähnte Erscheinung, daß der choleraähnliche Vibrio 134 immerhin eine gewisse

Abschwächung des Extraktes zur Folge hat, während der Typhus den Extrakt vollkommen unbeeinflusst läßt.

Versuch XVI.

1 Kultur Cholera 74 in 54 ccm kaltem aktiven Rinderserum momentan sensibilisiert und in 1,6 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde lang bei 40° digeriert, ergibt den Extrakt I; je 0,5 ccm davon mit 3 Oesen a) Cholera 74, b) Vibrio g $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° behandelt, seien als Extrakt II und III bezeichnet. Alle Extrakte sowohl, wie auch das als Kontrolle verwendete aktive Rinderserum werden $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert und sterilisiert. (Letzteres wurde durch Agarplatten kontrolliert.)

Zum Versuch wurde eine Komplementmenge von 0,05 ccm bei einer Einsaat Cholera 74 = 11 000 verwendet.

	Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	akt. Rinderserum
0,1	—	unzählbar	56	5
0,05	—	„	98	496
0,01	—	„	120	336
0,005	1500	„	576	815
0,001	1800	„	2300	11 000
0,0005	5000	„	7000	15 000

Derselbe Extrakt ergab bei einer Einsaat von 10 000 Vibrio g mit der gleichen Komplementmenge in den Dosen 0,15 und 0,1 folgende Werte; die Zahlen in Klammern gelten für die entsprechenden Mengen Rinderserum: 496 (72) und 1056 (64). Die Komplementkontrolle war unzählbar.

Versuch XVII.

1 Kultur Cholera 74 mit 60 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert und in 2 ccm aktivem Rinderserum $\frac{3}{4}$ Stunde lang bei 40° abgesprengt: Extrakt I. Je 0,5 ccm dieses Extraktes mit $\frac{1}{2}$ Kultur Cholera 74 (Extrakt II), Cholera Konstantinopel (Extrakt III) und Vibrio b (Extrakt IV) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 40° behandelt; Extrakte und Kontrollrinderserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert und sterilisiert. Komplementmenge = 0,05 ccm. Einsaat Cholera 74 = 10 000 Keime.

	Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV	akt. Rinderserum
0,1	5	unzählbar	unzählbar	10 000	2
0,01	7	„	„	6 000	14 000
0,001	12	„	„	1 200	9 000
0,0001	52	„	„	5 000	80 000

Das Komplement allein ließ unendliche Vermehrung zu.

In diesem Versuche ist besonders die ungleich höhere Wirkung des Extraktes gegenüber dem zu seiner Herstellung verwendeten Rinderserum eklatant, der choleraähnliche Vibrio b nimmt nur einen Teil des Immunkörpergehalts aus dem Extrakt, durch beide Cholerastämme wird derselbe aber total erschöpft.

Versuch XVIII.

1 Kultur Cholera 74 mit 80 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, in 3 ccm aktivem Rinderserum $\frac{3}{4}$ Stunde bei 38° digeriert, gibt den Extrakt I.

0,5 Extrakt I behandelt mit $\frac{1}{2}$ Kultur	Cholera 74	Extrakt II
dgl. " " " "	Vibrio 134	" III
" " " " "	Typhus murium	" IV

Die Behandlung wird bei 40° eine halbe Stunde lang vorgenommen; alle Extrakte und die Rinder Serumkontrolle $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert. Einsaat Cholera 74 = 80000, Komplement in einer Menge von 0,05 ccm.

	Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV	akt. Rinder Serum
0,1	0	200 000	28	5	7 000
0,01	0	300 000	20	72	7 000
0,001	3	unzählbar	1 200	12	80 000
0,0001	80000	"	80 000	unzählbar	200 000

0,1 Extrakt I enthielt 0 Keime, 0,1 Extrakt II: 0, 0,1 Extrakt III: 136 Keime und 0,1 Extrakt IV: 120 Keime. Das erklärt die anscheinend geringe Abschwächung der Extraktwirkung im dritten und vierten Extrakt vollkommen. Auch hier ist die Wirkung des Rinder Serums unvergleichlich schwächer als die des Extraktes¹⁾.

Zusammenfassung.

Von Cholera und choleraähnlichen Vibrionen, die in normalem Rinder Serum sensibilisiert wurden, lassen sich durch Abspregung in physiologischer Kochsalzlösung und verdünntem Meerschweinchenserum Extrakte herstellen, die unter Zusatz von Komplement bakteriolytisch wirksam sind. Die Wirkungsweise derartiger Extrakte ist eine spezifische; die Spezifität ist zwar nicht absolut, aber der von Immuns Serum vollkommen analog.

Die von Bail und Rotky als „künstliche Immuns era“ bezeichneten Extrakte mit aktivem Rinder Serum zeigen nicht nur eine um das Vielfache erhöhte Wirksamkeit für die Bakterienart, mit der sie hergestellt wurden, sie sind vielmehr auch so spezifisch, das sie auf heterologe Bakterien im wesentlichen viel schwächer als das Rinder Serum selbst wirken.

1) Die Cholera Konstantinopel verdanken wir Herrn Prof. Kraus, die Cholera 74, Cholera 70 und Vibrio 134 Herrn Prof. Neufeld, die mit Buchstaben bezeichneten Vibrionen wurden dem Institut von den Herren Proff. Dunbar und Trautmann überlassen; es sind Elbvibrionen, deren Hamburger Sammlungsbezeichnung folgende ist:

Vibrio a = 10875/11, Vibrio b = 9042/11, Vibrio c = 11 184 11, Vibrio g = 11 608/11, Vibrio m = 7747/11.

Die Vibrionen a, b und m waren Leucht vibrionen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institute der Universität Prag.]
**Gewinnung hämolytischer Flüssigkeiten außerhalb des
Tierkörpers.**

Von Prof. Dr. **Oskar Bail** und Priv.-Doz. Dr. **Hans Rotky**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. März 1912.)

Die nachfolgend kurz mitzuteilenden Versuche stellen eine Erweiterung der kürzlich in dieser Zeitschrift veröffentlichten Experimente dar, außerhalb des Tierkörpers Flüssigkeiten aus Normalserum zu gewinnen, welche als Analoga der im Tierkörper durch spezifische Vorbehandlung gewonnenen Immunkörper zu betrachten sind.

Indem bezüglich der Literaturangaben und aller Details der eingehaltenen Methodik auf die daselbst¹⁾ gegebene Darstellung verwiesen sei, möge hier nur eine kurze Darlegung der gezogenen Schlußfolgerungen gegeben werden. Es war in Verfolgung älterer Arbeiten von Bail und Tsuda, die sich wieder hauptsächlich an Ermittlungen von Pfeiffer und Friedberger anlehnten, gelungen, aus Normalserum, welches zur Sensibilisierung von Choleravibrionen gedient hatte, Flüssigkeiten zu erhalten, welche stärker als das Ausgangsserum und dabei spezifisch bakteriolytisch waren. Daraus wurde der Schluß gezogen, daß eine künstliche Darstellung bakteriolytischer Sera außerhalb des Tierkörpers möglich sei und die genaue Verfolgung von deren Entstehungsweise führte zu einer Theorie der Antikörperbildung überhaupt, welche in wesentlichen Punkten von der zurzeit meist herrschenden Ehrlich'schen Anschauungsweise abwich. Der für die künstliche Immunserumgewinnung eingeschlagene Weg bestand darin, daß Choleravibrionen mit aktivem Normalrinderserum ganz kurz, so daß noch keine sichtbare Bakteriolyse eintrat, behandelt wurden. Wurden solche dann in frischem aktiven Rinderserum einige Zeit lang, meist unter Granulabildung gehalten, so gaben sie, wie der bakterizide Plattenversuch lehrte, an dieses die vorher aufgenommenen Immunkörper, und zwar offenkundig in veränderter Form ab, denn jetzt war eine Spezifität ihrer Wirkung unverkennbar.

Unter der Voraussetzung, daß im Tiere sich bei z. B. intravenöser Vorbehandlung analoge Verhältnisse ergeben, wurde daraus gefolgert, daß auch dort sich erst eine Immunkörperbindung, dann eine Ablösung derselben erigne. Als Folge des zeitweiligen Aufeinanderwirkens von Antigen und Normalimmunkörper ergibt sich das Spezifischwerden der neuen Immunkörper, die also tatsächlich bis zu einem gewissen Grade Abkömmlinge des injizierten Antigens sind. So klar die Punkte, in denen eine auf solche Auffassungen gestützte Theorie der Antikörperbildung sich von der Ehr-

1) Diese Zeitschr., Bd. 17.

lichschon unterscheiden muß, auch sein mögen, so dürfte es doch nicht ohne Zweck sein, etwas genauer darauf einzugehen. Die Seitenkettentheorie erklärt durch Annahme einer Ueberregeneration von Zellrezeptoren als Grundlage der später ins Blut übertretenden Immunkörper das quantitative Verhältnis zwischen injiziertem Antigen und gebildetem Antikörper sehr befriedigend, gibt aber für die überaus wichtige Frage der Antikörperspezifität genauer genommen überhaupt keine Erklärung. Sie weicht einer solchen vielmehr aus, indem sie eine große, fast unerschöpfliche Menge von Zellrezeptoren als von vornherein gegeben postuliert. Dadurch kommt sie konsequent zu der von Anfang an sehr schwer zu akzeptierenden Vorstellung, daß schon im normalen Blute soviel verschiedene Immunkörper vorhanden sein müßten als es Antigene gibt, mit denen das Versuchstier zu reagieren vermag.

Im Gegensatz dazu nimmt die vorgelegte Theorie an, daß zwar sehr viele Immunkörper schon im Normalblute vorhanden seien; aber diese sind noch durchaus undeterminiert, können ebenso gut gegen das Antigen a wie gegen b und c in Tätigkeit treten. In welchem Maße das geschieht, hängt einzig von der Reaktionsfähigkeit des verwendeten Antigens ab. Sind aber einmal Normalimmunkörper mit dem Antigen in Reaktion getreten, welche vorläufig zunächst im Ehrlichschem Sinne als gegenseitige Bindung angenommen wird, so ist die Reaktion jederzeit unter den Bedingungen, wie sie im aktiven Serum, wo das Komplement intervenieren kann, herrschen, wieder auflösbar, wenn auch nicht im eigentlichen Sinne umkehrbar. Denn der wieder frei gewordene Immunkörper ist spezifisch geworden, jetzt auf ein ganz bestimmtes Antigen determiniert. Vermutlich geht auch das Antigen aus einer solchen Reaktion nicht unverändert hervor, wahrscheinlich beruht die Veränderung auf einer Verminderung der Reaktionsfähigkeit mit dem Immunkörper. Um ein Bild zu haben, könnte man sich vorstellen, daß während der Bildung ein Austausch zwischen Bestandteilen des Antigens und der stofflichen Grundlage des Immunkörpers stattfindet.

Die Umwandlung des normalen zum spezifischen Immunkörper empfindet aber der Tierorganismus als einen Ausfall, da angenommen werden kann, daß die im Blute so reichlich vorhandenen Immunkörper für den Organismus eine Leistung zu erfüllen haben, welche von den veränderten nicht mehr ausgeführt werden kann. Der Ausfall wird dann durch Regeneration, vielleicht auch Ueberregeneration gedeckt, wobei aber immer normale, nicht determinierte Immunkörper gebildet werden. Diese können dann sekundär, sobald noch reaktionsfähiges Antigen vorhanden ist oder neu zugefügt wird, wieder Spezifität erlangen. Ein Blut, in dem sich ein solcher Vorgang abgespielt hat, wird also außer den normal wiederersatzten noch spezifisch determinierte Immunkörper erhalten, d. h. es wird mit dem gleichen Antigen stärker reagieren als das Normalblut und dabei spezifisch sein. Die Antikörperbildung ist somit ein rein humoraler Vorgang, bei dem Zellen nur insofern in Betracht kommen, als sie bei der Neubildung von Normalimmunkörpern vielleicht beteiligt sind; das spezifische Moment der Antikörperbildung ist nicht im Organismus von

vorneherein gegeben, sondern es entsteht erst durch Wechselwirkung des Normalimmunkörpers mit dem gewaltsam eingeführten Antigen, die unter Umständen zu einer gewaltigen Anhäufung determinierter Immunkörper durch sekundäre Umwandlung regenerierter normaler führt. Die letzten Versuche von Bail und K. Rotky über Bakteriolyse haben erkennen lassen, wie diese Theorie der Antikörperbildung der experimentellen Bearbeitung zugänglich ist. Daß es noch zahlreicher neuer, vielleicht schwieriger, jedenfalls aber durchführbarer Versuche bedarf, um die Theorie vollständig zu stützen, steht außer Frage. Zunächst handelte es sich aber darum, an verschiedenen Antigenen die Richtigkeit der Theorie zu untersuchen und da gerade die hämolytischen Reaktionen für die Ausbildung der Vorstellungen über Antikörperwirkung und Bildung von besonderer Bedeutung waren, mußte die Heranziehung von Blutkörperchen als Antigen für die Wirkung von Normalserum von besonderem Interesse sein.

Bereits im Jahre 1909 hatte K. Tsuda¹⁾ Versuche über die Ablösung von an Blutzellen gebundenen normalen und immunisatorisch erzeugten Immunkörpern angestellt. Seine Methodik bestand darin, daß er Blutkörperchen mit inaktivem Normalserum oder verdünntem Immunsrum behandelte und dann in Kochsalz digerierte. Der erhaltene „Extrakt“ wirkte mit geeignetem Komplement zusammen hämolytisch, ohne daß Tsuda mit Bestimmtheit eine Spezifität dieser Wirkung klarstellen konnte.

Die Erfahrungen, welche Bail und K. Rotky bei ihren Versuchen über Vibriolyse durch Normalserum gewonnen hatten, konnten nun mit Vorteil auch für die Untersuchung der Normalhämolyse angewendet werden. Besonders galt es das Ergebnis zu benutzen, daß die Behandlung des Antigens mit großen Mengen aktiven Serums während einer so kurzen Zeit, daß dabei keine vollendete Reaktion (Granulabildung bei Vibrionen, Lösung bei Blutkörperchen) entsteht, eine Sensibilisierungsmethode darstellt, die für die Ablösung der vorher gebundenen Immunkörper die besten Bedingungen darbietet.

Naturngemäß bildet bei solchen Versuchen mit Normalserum die Auffindung eines geeigneten hämolytischen Systems gewisse Schwierigkeiten, da bekanntlich für gewisse Blutkörperchen nicht jedes inaktive Serum als Immunkörper und jedes aktive dabei als Komplement verwendet werden kann. Gleichwohl wurden im Verlauf der Experimente eine ganze Reihe der verschiedensten Kombinationen durchgeprüft und bei allen gelang es ohne Ausnahme, Blutkörperchen mit einem geeigneten Normalserum in der unten angegebenen Weise zu sensibilisieren und dann den aufgenommenen Immunkörper in wirksamer Form zur Ablösung zu bringen. Um nicht allzuviel Material anzuführen, sei für die folgenden Mitteilungen vorwiegend nur eine Kombination benutzt, bei welcher Menschenserum den Immunkörper, Kaninchenserum das Komplement lieferte. Diese Kombination

1) Diese Zeitschr., 1909, Bd. 2, p. 244.

empfahl sich besonders deshalb, weil sie in gleicher Weise für zweierlei Blutkörperchen, die des Pferdes und des Meerschweinchens, verwendet werden kann, wodurch Spezifitätsuntersuchungen sehr erleichtert wurden.

Die großen Mengen des dazu erforderlichen Menschenserums hätten natürlich nicht leicht beschafft werden können, wenn es sich nicht gezeigt hätte, daß man ohne jeden Nachteil das sogenannte retroplacentare Serum verwenden kann, das von Gebäranstalten jederzeit ohne Schwierigkeit zu erhalten ist und für dessen Ueberlassung wir dem Vorstande der geburtshilflichen Klinik, Herrn Prof. Kleinhans, zum größten Danke verpflichtet sind. Daß solches Serum nicht ganz steril ist, war bei der Kürze der jedesmaligen Versuchsdauer ohne Nachteil; übermäßig groß wurde übrigens der Keimgehalt bei gelegentlicher Untersuchung nicht gefunden.

Bei Anführung von Versuchstabellen ist meist auch der zeitliche Verlauf der Hämolyse ungefähr notiert, was besonders im Anfang der Versuche, wo es noch nicht gelungen war, die öfters vorhandene, wenn auch nur schwache Eigenlösung des Komplements auszuschließen, sehr klare Ergebnisse bezüglich der Stärke der hämolytischen Wirkung lieferte.

Tabelle I.

Blutkörperchen von 2 ccm Pferdeblut werden nach sorgfältiger Waschung mit 8 ccm aktivem Menschenserum aufgeschwemmt, sofort ohne Erwärmung zentrifugiert; die obenstehende Flüssigkeit wird abgossen, durch neues aktives Menschenserum in gleichen Mengen ersetzt und nach Verteilung der Blutzellen wieder abzentrifugiert. Die gleiche Prozedur wird noch ein drittes Mal wiederholt. Hämolyse trat dabei nicht auf. Daß aber gleichwohl eine Reaktion zwischen Serum und Blut stattgefunden hatte, bewies die sehr leichte Zentrifugierbarkeit der Blutkörperchen und das Aussehen des von ihnen gebildeten Bodensatzes, der eine festhaftende etwas schleimige Masse bildete. Nach einmaliger Waschung mit 10 ccm NaCl-Lösung wurde der Bodensatz in 1,5 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 40° gehalten und sodann abzentrifugiert. Der so erhaltene Extrakt war rot und wurde ebenso wie das zur Kontrolle dienende unveränderte Menschenserum $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt. Absteigenden Mengen davon wurde je 0,25 ccm aktives Kaninchenserum und je 1 ccm 5-proz. Pferdeblut zugesetzt.

	Extrakt 56°		Menschenserum	
	1 Stunde	2 Stunden	1 Stunde	2 Stunden
0,5 ccm	f. k.	k.	st.	s. st.
0,25 „	f. k.	k.	dtl.	dtl.
0,1 „	f. k.	k.	0	dtl.
0,05 „	s. st.	f. k.	0	Sp.

Komplementkontrolle nach 1 und 2 Stunden ungelöst¹⁾.

1) Es bedeutet in allen Versuchen k. und f. k. vollständige oder fast vollständige (Schleier) Hämolyse, s. st., st., dtl. sehr starke, starke, deutliche Lösung, Beg. beginnende, Sp. spurweise Hämolyse.

Der Versuch beweist die Möglichkeit der Ablösung der vom Antigen aufgenommenen Immunkörper in einer indifferenten Flüssigkeit aufs klarste und zeigt gleichzeitig, daß die gewonnenen „Extrakte“ an Wirksamkeit das Serum übertreffen können, aus dem sie hergestellt worden sind.

Der folgende Versuch soll zeigen, daß nicht nur auch andere Blutkörperchen in ähnlicher Weise benutzt werden können, sondern daß auch in dem gleichen Serum, das zur aktiven Sensibilisierung der Blutzellen gedient hatte, die Wiederablösung der Immunkörper möglich ist.

Tabelle II.

Die Blutkörperchen von je 2 ccm Schafblut werden dreimal nacheinander mit je 6 ccm aktivem Menschenserum momentan sensibilisiert und sodann (es war keine Lösung eingetreten) einmal mit je 10 ccm NaCl-Lösung gewaschen. Die sensibilisierten Blutzellen wurden sodann mit 1) 1 ccm NaCl-Lösung, 2) 1 ccm bei 56° inaktiv. Menschenserum, 3) 1 ccm des bei der ersten Sensibilisierung abgegossenen und dann 1/2 Stunde bei 56° inaktivierten Serums 1 Stunde bei 40° extrahiert. Die erhaltenen Extrakte sind mäßig rot. Angewendet werden die Dosen von 0,3, 0,15, 0,075 und 0,025 ccm der Extrakte und der Kontrollseren, mit je 0,1 ccm Meer-schweinchenserum als Komplement.

Extrakt a		Extrakt b		Serum 56°		Extrakt c		Ser. erschöpft 56°	
1/2 Std.	2 Std.	1/2 Std.	2 Std.	1/2 Std.	2 Std.	1/2 Std.	2 Std.	1/2 Std.	2 Std.
k.	k.	dtl.	k.	Beg.	f. k.	k.	k.	0	0
k.	k.	dtl.	k.	0	st.	k.	k.	0	0
f. k.	k.	Sp.	k.	0	mäßig	f. k.	k.	0	0
dtl.	k.	?	f. k.	0	Sp.	f. k.	k.	0	0

Die Komplementkontrolle löste erst nach 2 Stunden mäßig.

Tabelle III.

Blutkörperchen von je 2,5 ccm Pferdeblut in 2 Eprovetten wurden zuerst mit je 5 ccm aktivem Menschenserum momentan sensibilisiert, das überstehende Serum abgegossen und 1/2 Stunde auf 56° erhitzt; es diente später zur Herstellung der Extrakte. Der Blutkörperchenzusatz wurde hierauf noch zweimal mit je 7 ccm aktiv. Serum momentan sensibilisiert; bei der letzten Behandlung trat geringe Lösung auf. Nach einmaligem Waschen der Blutkörperchen wurden dieselben a) mit 1,25 ccm NaCl-Lösung, b) 1,25 ccm des erschöpften und inaktivierten Serums 1 Stunde bei 40° extrahiert. Die erhaltenen Extrakte waren rot. Angewendet wurden die Dosen von 0,3, 0,15, 0,075 und 0,025 ccm der Extrakte bzw. der Kontrollen. Als Komplement dienten 0,2 ccm aktiv. Kaninchenserums; da diese Menge aber nach 1 1/4 Stunden selbst zu lösen begann, wurde der Versuch um diese Zeit beendet.

Extrakt a		Serum 56°		Extrakt b		Serum erschöpft 56°	
1/2 Std.	1 1/4 Std.	1/2 Std.	1 1/4 Std.	1/2 Std.	1 1/4 Std.	1/2 Std.	1 1/4 Std.
Sp.	st.	dtl.	k.	st.	f. k.	0	0
dtl.	s. st.	0	st.	f. k.	k.	0	0
s. st.	k.	0	Sp.	f. k.	k.	0	0
s. st.	k.	0	0	f. k.	k.	0	0

Man sieht die Ergänzungsmöglichkeit eines vorher durch kurze Behandlung mit dem Antigen erschöpften, an sich schon nicht starken Serums aufs deutlichste. Die im Versuche der Tabelle III hervortretende Erscheinung, daß höhere Extrakt Dosen deutlich schwächer, mindestens langsamer lösen als niedrige, wurde gelegentlich auch sonst beobachtet. — Gerade bei Verwendung des Systems: Blutkörperchen vom Pferde, Menschenserum, Kaninchenserum als Komplement trat fast regelmäßig die interessante Erscheinung auf, daß der aus dem Menschenserum gewonnene hämolytische Extrakt wesentlich stärker wirkte als das Serum selbst, aus dem er gewonnen war. Ja es kam sogar oft der Fall vor, daß das Serum so gut wie gar nicht löste bei sehr guter Wirkung der Extrakte. Dies trat insbesondere hervor, als nicht mehr unverändertes aktives Kaninchenserum als Komplement benutzt wurde, sondern solches, welches vorher ganz kurze Zeit mit Pferdeblut behandelt war. Dadurch wird der geringe, aber sehr oft vorhandene Gehalt des Kaninchenserums an normalen Pferdebluthämolysinen ausgeschaltet, während die Komplementwirkung in genügender Weise hervortritt. Es war dadurch möglich, mit großen Dosen solchen Komplements zu arbeiten.

Die Spezifität der hämolytischen Extrakte wurde zunächst auf dem Wege der Absorption geprüft.

Tabelle IV.

Die Sensibilisierung mit aktivem Menschenserum wurde in der Weise vorgenommen, daß die Blutkörperchen von je 0,5 ccm Pferdeblut mit je 10 ccm Serum in 8 Eproutetten einmal momentan behandelt wurden. Die dadurch erhaltenen Sätze wurden bei der einmaligen Waschung mit NaCl-Lösung in 4 Röhren vereint und sodann mit je 1,25 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 40° extrahiert. Die so erhaltenen, mäßig roten Extrakte wurden sodann vereint und wie folgt verteilt:

- a) Extrakt unverändert,
- b) „ 1 ccm + Satz von 3 ccm Pferdeblut,
- c) „ 1 „ + „ „ 3 „ Schafblut,
- d) „ 1 „ + „ „ 3 „ Menschenblut.

In gleicher Weise wird zur Kontrolle auch inaktives Menschenserum behandelt. Nach 1/2-stündiger Behandlung bei 37° werden die Blutkörperchen wieder abzentrifugiert. Der Versuch wird mit den Dosen 0,2, 0,1, 0,05 und 0,5 ccm frischem Kaninchenserum als Komplement angesetzt, welches auf 14 ccm mit den Blutkörperchen von 4 ccm Pferdeblut momentan behandelt war. Je 1 ccm 5-proz. Pferdeblut.

Extrakt a			Extrakt b			Extrakt c			Extrakt d		
1/2 Std.	1 1/2 Std.	3 Std.	1/2 Std.	1 1/2 Std.	3 Std.	1/2 Std.	1 1/2 Std.	3 Std.	1/2 Std.	1 1/2 Std.	3 Std.
k.	k.	k.	0	dtl.	dtl.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
k.	k.	k.	0	0	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
k.	k.	k.	0	0	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Das unverändert belassene Menschenserum löste nur in der höchsten Dosis schwach, die behandelten Sera und das Komplement überhaupt nicht.

Was den Versuch so besonders interessant machte, war die fast fehlende Wirkung des Menschenserums auf Pferdeblutkörperchen, wodurch die eklatante Lösungskraft des aus dem gleichen Menschenserum gewonnenen Extraktes klar hervortritt: aus dem erst mit 0,2 ccm ganz unvollständig lösenden Menschenserum war die Gewinnung einer Flüssigkeit gelungen, welche mit 0,05 ccm noch nicht die untere Grenze ihrer Lösungskraft erreicht hatte. Einen analogen Versuch bringt

Tabelle V.

Anordnung und Extraktgewinnung wie im Versuche der Tabelle IV. Der erhaltene Extrakt bleibt a) unverändert und wird mit je 1 ccm Blutkörperchen b) vom Pferde, c) vom Schafe, d) vom Kaninchen behandelt. Dosen von 0,3, 0,15 und 0,075 ccm mit je 1 ccm 5-proz. Pferdeblut und 0,5 ccm Kaninchen Serum, das auf 15 ccm mit dem Satze von 2 ccm Pferdeblut momentan behandelt worden war.

Extrakt a		Extrakt b		Extrakt c		Extrakt d		Menschens. 56°	
1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.
k.	k.	f. k.	f. k.	k.	k.	k.	k.	0	schw.
k.	k.	Sp.	dtl.	k.	k.	k.	k.	0	0
k.	k.	0	Sp.	f. k.	f. k.	k.	k.	0	0

Die als Kontrolle ebenfalls mit den obenerwähnten Blutkörperchen behandelten inaktiven Menschensera sowie das Komplement allein lösten nicht.

In beiden Versuchen wurden die Extrakte nur durch jene Blutkörperchen mehr oder minder unwirksam gemacht, mit denen der Extrakt selbst gewonnen war, nicht aber durch Blut anderer Tiere, von denen noch die Blutkörperchen von Rind und Meerschweinchen verwendet wurden. Dabei ist die Menge Blut, die zur Erschöpfung erforderlich ist, ziemlich hoch; im Versuche der Tabelle V war 1 ccm nicht vollständig hin-

reichend, nach der Anwendung von 3 ccm Blut bleiben nur noch Reste der früheren Hämolyse zurück.

In analoger Weise zeigt sich die Spezifität der „Extrakte“, wenn man versucht, mit fremden Blutkörperchen solche herzustellen.

Tabelle VI.

Aus je 4 ccm Pferde- und Schafblut, welche mit je 40 ccm aktivem Menschenserum momentan sensibilisiert sind, werden je 2,5 ccm Extrakte mit NaCl-Lösung in der gewöhnlichen Weise gewonnen:

- 1) Extrakt aus Pferdeblut unverändert
 - 2) „ „ „ 1 ccm mit 3 ccm Pferdeblut
 - 3) „ „ „ 1 „ „ 3 „ Schafblut
- } $\frac{1}{2}$ Std.
40°

4—6 sind die ganz entsprechend behandelten Extrakte aus Schafblut, welche während des mit je 1 ccm 5-proz. Pferdeblut in den Dosen 0,25, 0,1 und 0,05 ccm angesetzten Versuches keinerlei Lösung herbeiführten. Als Komplement diente je 0,5 ccm Kaninchenserum, das auf 14 ccm mit dem Satze von 1,5 ccm Pferdeblut momentan behandelt war.

Extrakt 1		Extrakt 2		Extrakt 3		Menschenser. 56°	
1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.
k.	k.	st.	st.	k.	k.	Sp.	st.
k.	k.	Sp.	dtl.	k.	k.	0	0
k.	k.	0	0	st.	f. k.	0	0

Der folgende Versuch zeigt als Beispiel von 4 anderen, gleichartig verlaufenen zugleich die Erschöpfungs- wie Lösungsspezifität der Extrakte unter Anwendung von Meerschweinchen- und Pferdeblut, welche sich beide für inaktives Menschenserum durch Kaninchenserum als Komplement ergänzen lassen.

Tabelle VII.

Je 0,5 ccm Pferde- und Meerschweinchenblut werden in je 8 Eproutetten gewaschen und der Satz mit je 7 ccm aktivem Menschenserum momentan sensibilisiert. Beim Waschen mit NaCl-Lösung wurden die Pferde- und Meerschweinchenblutkörperchen in je 4 Röhrchen vereint und zu jedem 1 ccm einer Mischung von 8 ccm NaCl-Lösung mit 2 ccm inaktivem Menschenserum zugesetzt. So erfolgt während 1 Stunde bei 40° die Extraktion. Die von jeder Blutart gewonnenen, mäßig roten Extrakte werden vereint und daraus hergestellt:

- Extrakt 1) Pferdeblutextrakt unverändert,
- „ 2) „ 1 ccm + Blutkörp. von 2,5 ccm Pferdeblut,
- „ 3) „ 1 „ + „ „ 2,5 „ Meerschw.-Bl.

Extrakte 4—6 sind die ganz entsprechend behandelten Meerschweinchenblutextrakte.

A. Dosen von 0,2, 0,1 und 0,05 ccm auf je 1 ccm 5-proz. Pferdeblut mit je 0,5 ccm Kaninchenserum als Komplement, das auf 14 ccm mit den Blutkörperchen von 2 ccm Pferdeblut momentan behandelt war.

Extrakt 1		Extrakt 2		Extrakt 3		Extrakt 4		Extrakt 5		Extrakt 6		Msch.-S. 56°	
1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.
k.	k.	Sp.	dtl.	k.	k.	0	0	0	0	0	0	0	dtl.
k.	k.	0	0	f. k.	f. k.	0	0	0	0	0	0	0	0
dtl.	f. k.	0	0	dtl.	f. k.	0	0	0	0	0	0	0	0

Die Komplementkontrolle löste nicht.

B. Dosen von 0,2, 0,1, 0,05 und 0,01 ccm auf je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut; als Komplement dient Kaninchenserum, das für 7 ccm mit 1 ccm Meerschweinchenblut momentan behandelt ist, in der Dosis von 0,2 ccm.

Extrakt 1		Extrakt 2		Extrakt 3		Extrakt 4		Extrakt 5		Extrakt 6		Msch.-S. 56°	
1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.	1 Std.	2 Std.
0	0	0	0	0	0	k.	k.	k.	k.	Sp.	dtl.	Sp.	dtl.
0	0	0	0	0	0	f. k.	k.	f. k.	k.	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	Sp.	dtl.	0	dtl.	0	0	0	0

In diesem Versuche hatte das Menschenserum an sich weder für Pferde- noch für Meerschweinchenblut nennenswerte Lösungskraft, so daß die Extrakthämolyse rein und scharf hervortritt; in anderen Versuchen vermochte das Menschenserum Meerschweinchenblut stärker zu beeinflussen, doch war es in seiner Wirkung stets schwächer als die daraus auf die beschriebene Art hergestellten Extrakte.

Wie die früheren Versuche die Spezifität der Extraktwirkung durch spezifische Erschöpfung gezeigt haben, so beweisen diese die determinierte Extraktwirkung sowohl durch Erschöpfung als dadurch, daß ein mit Blutkörperchen des Tieres a hergestellter Extrakt nur diese, nicht aber die Blutkörperchen des Tieres b löst. Bis auf weitere Versuche muß also die spezifische Wirkung der hämolytischen Extrakte festgestellt werden, was in Widerspruch mit den älteren Angaben von Tsuda steht. Diese unterscheiden sich von den angeführten in der Technik, da Tsuda nur mit inaktivem Serum sensibilisierte und in der Wahl der Blutkörperchen, da Tsuda seine abweichenden Resultate an Meerschweinchen- und Kaninchenblutkörperchen bei Verwendung von Rinder Serum erhielt. Es dürfte interessant sein, die Versuche wieder auf-

zunehmen, da unter anderem die Wirkung des Rinderserums auf Meerschweinchenblut mit zu den stärksten gehört, die man an normalen Seren beobachten kann.

Zusammenfassung.

Aus Pferde- und Meerschweinchenblutkörperchen, welche mit normalem aktiven Menschenserum sensibilisiert sind, lassen sich durch Digestion in Kochsalzlösungen hämolytisch wirkende Flüssigkeiten gewinnen; die durch sie unter Zusatz von Komplement veranlaßte Hämolyse erwies sich als spezifisch.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Statens SerumInstitut, Kopenhagen (Direktor:
Dr. Th. Madsen).]

Versuche über Antivibriolysinbildung neugeborener Ziegen.
(Anhang zur Abhandlung „Ueber Antikörperbildung neugeborener Ziegen“ im Bd. 12 dieser Zeitschrift.)

Von **G. C. Reymann,**
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1913.)

In der oben erwähnten Abhandlung in dieser Zeitschrift habe ich einen einzelnen Versuch mit Vibriolysin veröffentlicht, in dem ich gefunden habe daß eine neugeborene Ziege kein Antivibriolysin nach einer Injektion am Geburtsdatum bildete, wohl aber nach einer ebenso großen Injektion 22 Tage später. Da es von Interesse war, den Versuch zu wiederholen, weil er den anderen damals erzielten Resultaten zum Teil widersprach, habe ich es im Frühjahr 1912 mit einem größeren Versuchsmaterial getan.

Zu meiner Verfügung standen 8 neugeborene Ziegen, von denen 5 unmittelbar nach der Geburt mit bzw. 1, 2, 3, 4 und 5 ccm Vibriolysin (von *Vibrio Nasik*) und ferner am 22.—23. Lebenstage mit denselben Dosen injiziert wurden; die 3 übrigen wurden dagegen erst am 20.—25. Lebenstage zum erstenmal mit bzw. 1, 3 und 5 ccm Vibriolysin injiziert, um zu untersuchen, ob das Reaktionsvermögen bei den ersteren möglicherweise wegen der Injektion am ersten Lebenstage bedeutend gesteigert worden war.

Die Antikörperkurven hatten bei schwacher Antilysinbildung eine flache Form, in der der Zeitpunkt der Akme nicht mit Sicherheit bestimmt werden konnte, bei stärkerer Antilysinbildung stellte die Akme sich in den meisten Fällen am 10.—11. Tage ein, in wenigen Fällen jedoch erst am 18. Tage, welches Verhalten im großen ganzen nicht von dem bei Erwachsenen abweicht. Der Kürze wegen wird das Kurvenmaterial übrigens in tabellarischer Form angeführt.

Bei sämtlichen Versuchstieren, mit Ausnahme von No. 31, wurde eine negative Phase im unmittelbaren Anschluß an die erste Injektion konstatiert, und bei No. 25 war die Antilysinmenge während der ganze Beobachtungszeit niedriger als vor der Injektion, bei der zweiten Injektion stellte sich die negative Phase weniger ausgesprochen und konstant ein. Die Körpertemperaturen waren während des Versuches normal.

Tabelle.
Injektion gleich nach der Geburt.

Tier No.	Geburtsdatum	Gewicht in kg gleich nach der Geburt	Vibriolysininjektion		Antilysin-einheiten pr. ccm Serum gleich nach der Geburt	Antilysin-einheiten in der Akme
			Datum	ccm		
25	7. III. 12	3,1	7. III.	1	7	9. III. bis 3. IV. < 5 ¹⁾
26	8. III. 12	2,75	8. III.	2	ca. 10	25
27	13. III. 12 abends	5,2	14. III.	3	ca. 10	65
28	13. III. 12 „	5,0	14. III.	4	< 5	50
29	14. III. 12 „	5,5	15. III.	5	< 5	< 5

Spätere Injektion.

Tier No.	Vibriolysininjektion			Gewicht in kg am Injektions-tage	Antilysin-einheiten pr. ccm Serum am Injektionstage	Antilysin-einheiten in der Akme
	Datum	ccm	Tage nach der Geburt			
25	30. III.	1	23	4,75	< 5	150
26	30. III.	2	22	4,75	35	300
27	6. IV.	3	23	6,5	< 5	40
28	6. IV.	4	23	5,3	< 5	50
29	6. IV.	5	22	8,0	< 5	333
30	20. IV.	5	20—25	—	< 5	15
31	20. IV.	3	20—25	—	< 5	< 5
32	20. IV.	1	20—25	—	< 5	30

1) Das Tier zeigt somit während der ganzen Immunisierung einen geringeren Antikörpergehalt als vor derselben.

Aus der Tabelle geht hervor, daß von den zweimal behandelten Tieren 2 (No. 25 und 29) auf die erste Injektion überhaupt nicht reagiert haben und 3 (No. 26, 27 und 28) nur mit einer sehr schwachen Antilyysinbildung; auf die wiederholte Injektion von denselben Vibriolysinmengen reagierten sie alle, obwohl mit verschiedener Intensität. Es stellte sich ferner heraus, daß 2 von den Tieren, die nur eine Injektion, und zwar am 20.—25. Lebenstage erhielten, schwach reagierten und das dritte überhaupt nicht.

Es zeigt sich somit, daß die Reaktion unmittelbar nach der Geburt eine schwache war, und daß sie etwas stärker nach 22—23 Tagen war, und ferner, daß die Tiere, welche die erste Injektion 20—25 Tage nach der Geburt erhielten, schwächer reagierten. Die stärkere Wirkung der wiederholten Injektion rührt vielleicht von einer auf Grund der ersten Injektion veränderten Reaktionsweise her.

Zusammenfassung.

Neugeborene Ziegen sind imstande Antivibriolysin zu bilden, die Antilyysinbildung war aber in den untersuchten Fällen eine geringe.

Nachdruck verboten.

[Aus dem hygien. Institut der Königl. Tierärztl. Hochschule zu Hannover (Leiter: Prof. Dr. Miessner).]

Ueber Anaphylaxie und Antianaphylaxie bei weißen Mäusen.

Von Dr. v. Sarnowski.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. März 1913.)

Bei Mäusen läßt sich nach Braun die Anaphylaxie nur durch mehrmalige Vorbehandlung sicher hervorrufen. Ritz dagegen hat festgestellt, daß auch bei weißen Mäusen in der Regel nach einmaliger Vorbehandlung mit geringen Mengen Antigen hochgradige Krankheitserscheinungen ausgelöst werden, vorausgesetzt, daß die Reinjektion intravenös erfolgt. Nach zweimaliger Vorbehandlung mit geeigneten Dosen und intravenöser Reinjektion ist es fast konstant gelungen, typische Anaphylaxiesymptome auszulösen.

Durch seine Vorversuche im Reagenzglase gelang es Ritz zu ermitteln, daß das Serum des Mäuseblutes Komplementfunktionen in nachweisbarer Form nicht besitzt, während diese im Meerschweinchenserum doch in so großer Menge vorhanden sind. In einer Reihe von Versuchen erfolgten daher die Reinjektionen unter Zufuhr von frischem Meerschweinchenserum; jedoch erwies sich die Notwendigkeit gleichzeitiger Komplementzufuhr nicht als gesetzmäßig.

Durch diese Versuche zeigen sich einige Abweichungen in dem Auftreten und dem Verlaufe der Anaphylaxie der Mäuse von der anderer Tiere. Schon daß die Reinjektion nur auf intravenösem Wege erfolgte, war ein Abweichen von der gewohnten Ausführung. Ferner konnten die Erscheinungen verhältnismäßig früh (schon nach 14 Tagen) sicher ausgelöst werden. Schließlich war ein Unterschied auch durch die Symptome selbst gegeben: Sie traten langsamer auf und nahmen einen weniger stürmischen Verlauf, während von einem ausgesprochenen Unruhestadium, wie es bei Meerschweinchen regelmäßig ist, nicht die Rede war. Von der Antianaphylaxie wurde nur festgestellt, daß sie nachzuweisen war.

Die folgenden Untersuchungen sollten nun in diesen Fragen genauere Feststellungen machen.

1. Anaphylaxie.

Bei Meerschweinchen gelingt die Sensibilisierung nach den bisherigen Untersuchungen in der Regel bei Anwendung sehr kleiner Serummengen, während größere Dosen den Eintritt der Anaphylaxie verzögern. Dagegen haben die Versuche von Ritz, der ausschließlich mit größeren Mengen vorbehandelte, bewiesen, daß eine derartige Verzögerung in dem Auftreten der Anaphylaxie bei weißen Mäusen nicht eintritt. Um den Einfluß der Vorbehandlungsdosis auf das Zustandekommen der Anaphylaxie zu prüfen, sind zur Sensibilisierung von 0,01 ccm bis 0,5 ccm Serum verwendet worden. Die Reinjektion erfolgte durchweg mit größeren Dosen.

Um zu ermitteln, ob die Applikationsmethode des Antigens auf den Eintritt der Anaphylaxie von wesentlichem Einfluß ist, wurden die Antigene einmal subkutan, dann intraperitoneal und schließlich intravenös zur Vorbehandlung injiziert.

Zunächst wurde eine Reihe von Mäusen einmalig mit verschiedenen Mengen Pferde- und Rinderserum subkutan vorbehandelt und nach 8 und 19 Tagen mit 1 und 0,5 ccm Serum reinjiziert. In dem Befinden der Versuchstiere war hiernach keine Veränderung festzustellen. Ebenso ergebnislos verlief eine zweite Reihe von Versuchen mit intraperitoneal vorbehandelten Mäusen, bei denen die Reinjektion nach 14 bis 16 Tagen mit 1 und 0,5 ccm auf intraperitonealem und sub-

kutanem Wege erfolgte. Schließlich wurden einmalig subkutan vorbehandelte Tiere intravenös reinjiziert.

Eine Anzahl von Mäusen erhalten verschiedene Mengen von Pferdeserum subkutan injiziert. Die Probe findet 15 bis 31 Tage danach mit 0,2—0,5 ccm Serum intravenös statt.

Tabelle I.

Maus No.	Dosis der 1. Injektion subk.	Intervall (Tage)	Dosis der Reinjektion iv.	Erscheinungen
1	0,01	21	0,5	Leichte Lähmung
2	0,01	21	0,5	Leicht krank
3	0,025	15	0,2	† in mehreren Stunden
4	0,025	21	0,3	Lähmung
5	0,05	15	0,2	Leicht krank
6	0,05	21	0,5	† nach 35'
7	0,1	15	0,5	† nach 35'
8	0,1	15	0,3	Krank
9	0,2	21	0,5	† nach 7'
10	0,5	15	0,4	† nach 15'

Die Tabelle läßt zweifellos erkennen, daß alle Tiere mit deutlichen Ueberempfindlichkeitserscheinungen reagiert haben. Die Reihenfolge der eintretenden Symptome gestaltet sich etwa folgendermaßen:

Gewisse Zeit nach der Reinjektion beginnt die Maus angestrengt zu atmen und bleibt ruhig auf einem Fleck sitzen. Bewegt man das Tier zum Gehen, so sieht man es die Hinterbeine nach sich schleppen; der Gang ist steif, froschartig. Schließlich tritt eine vollständige Lähmung der Hinterschenkel ein, die in schweren Fällen allmählich sich nach vorn ausbreitet. Der Lähmungszustand wird zeitweise durch mehr oder weniger heftige Krampfanfälle unterbrochen, die auch selbständig auftreten können und oft bei Berührungen ausgelöst werden. Allmählich tritt der Tod ein; die Atmung sistiert, das Herz hört langsam auf zu schlagen.

Man ersieht weiter aus der Tabelle, daß die Heftigkeit der ausgelösten Symptome mit der Menge der Sensibilisierungsdosis steigt. Die mit 0,01 ccm vorbehandelten Tiere zeigen nur leichtere Erscheinungen, während die mit größeren Dosen injizierten Mäuse schwere Erscheinungen aufweisen und daran zugrunde gehen.

In einem ähnlichen Versuche wurde nun intraperitoneale Vorbehandlung mit intravenöser Probe kombiniert. Es ergab sich, daß auch diese Methode sich dazu eignet, Anaphylaxie bei weißen Mäusen zu erzeugen. Auch hier stiegen die

Symptome unverkennbar mit der Größe der Vorbehandlungsdosis. Ferner konnte in Uebereinstimmung mit dem vorhergehenden Versuche festgestellt werden, daß es für die Reinjektion einen optimalen Zeitpunkt geben muß. So zeigten in obiger Tabelle die nach 21 Tagen reinjizierten Mäuse No. 6 und 9 hochgradigere Krankheitserscheinungen als No. 7 und 10 bei einem Intervall von 15 Tagen. Diese Beobachtung wird auch durch spätere Versuche bestätigt.

Die zum Zwecke der Vorbehandlung injizierte Serummengung bewirkt im Organismus Veränderungen, die Ritz kurz mit dem Ausdruck „die veränderte Reaktionsfähigkeit des Mäuseblutes“ kennzeichnet. Der Grad dieser Veränderungen hängt nun ab von der Menge des zur Vorbehandlung injizierten Serums und der Länge der Zeit, in welcher das Serum in dem Mäusekörper wirkt. Beides übt einen sichtbaren Einfluß auf das Zustandekommen der Anaphylaxie aus. Nach den Versuchen von Ritz wirken schon kleine Reinjektionsdosen von 0,025 ccm meist tödlich, während 0,01 und 0,02 ccm noch deutliche Erscheinungen hervorrufen. Frühere Mißerfolge auf dem Gebiete der Anaphylaxie der Mäuse sind daher meines Erachtens nicht darauf zurückzuführen, daß eine optimale Reinjektionsdosis nicht getroffen wurde, sondern hauptsächlich ist dafür die veränderte Reaktionsfähigkeit des Blutes verantwortlich zu machen. Ein Fehlgehen jener Versuche ist leicht erklärlich aus der Tatsache heraus, daß man von der Anaphylaxie der Meerschweinchen ausging. Diese Tiere können mit ganz minimalen Mengen (nach Rosenau und Anderson $\frac{1}{1000000}$ ccm) Serum überempfindlich gemacht werden, während große Dosen den Eintritt der Anaphylaxie direkt stören. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, zeitigen dagegen bei Mäusen 0,01 ccm kaum Erscheinungen. Letztere werden vielmehr erst bei höheren Vorbehandlungsdosen regelmäßig und deutlich erkennbar. Zudem mußte hier die Reinjektion intravenös erfolgen, während sie bei den Versuchen mit Meerschweinchen fast ausschließlich subkutan und intraperitoneal geschah.

Die folgenden Versuche hatten die intravenöse Vorbehandlung zur Grundlage. Neben der intravenösen Reinjektion wurde auch die intraperitoneale angewendet.

Eine Reihe von 7 Mäusen werden mit 0,01—0,2 ccm Rinderserum, eine zweite von 8 Mäusen mit den gleichen Mengen Schafserum intravenös vorbehandelt. Die Reinjektionen erfolgten nach 10—13 Tagen teils intravenös, teil intraperitoneal.

Tabelle II.

Maus No.	Dosis der 1. Injektion iv.	Intervall (Tage)	Dosis der Reinjektion		Erscheinungen
			iv.	ip.	
1	0,01	10	.	0,3	0
2	0,01	11	.	1,0	0
3	0,025	13	0,1	.	† nach 30'
4	0,025	12	.	1,0	† nach 67'
5	0,05	10	0,2	.	† nach 10'
6	0,1	8	.	0,2	Leichte Symptome
7	0,2	10	0,2	.	† nach 17'
8	0,01	13	0,3	.	0
9	0,01	13	0,3	.	0
10	0,01	13	.	1,0	0
11	0,025	11	0,05	.	† nach 30'
12	0,025	13	0,05	.	† nach 42'
13	0,05	11	0,1	.	† nach 10'
14	0,05	13	.	0,3	† in mehreren Stunden
15	0,05	13	0,05	.	Schwere Lähmung

Durch den Versuch ergibt sich, daß durch intravenöse Vorbehandlung mit verschiedenen Mengen von Serum und nachfolgende intravenöse Reinjektion nach 10—13 Tagen sicher Anaphylaxie hervorgerufen wird. Dagegen löst die intraperitoneale Reinjektion nur sehr unsicher und meist leichte Symptome aus.

Bei der Verwendung der verschiedenartigen Sera in den verschiedenen Versuchsreihen war kein Unterschied zu verzeichnen. Nach dem Beispiele von Ritz wurde, da derselbe die Frage noch nicht für geklärt hält, mehrmals zu einzelnen Versuchen das für die Reinjektion bestimmte Serum mit Meerschweinchenserum vermischt. Es wurde dadurch jedoch kein erkennbarer Einfluß auf den Ausgang des Versuchs im Vergleich zu den Tieren, die ohne Meerschweinchenserum reinjiziert wurden, ausgeübt.

Das Hauptmerkmal der Ueberempfindlichkeit bei weißen Mäusen ist also die intravenöse Reinjektion. Dabei kommt es auf die Art der Vorbehandlung gar nicht an. Die Vermutung von Ritz, welcher meint, daß intraperitoneal vorbehandelte Tiere die Erscheinungen vielleicht besser zeigen, als intravenös

vorbehandelte, trifft also nicht zu. In allen Versuchen steigen die Symptome unverkennbar mit der Vorbehandlungsdosis. Diese Steigerung geschieht allmählich und bleibt dann auf ihrer Höhe, die den Tod der Tiere bedeutet. Auffallend ist das frühe Eintreten des anaphylaktischen Zustandes. Die teilweise schon 10 Tage nach der Sensibilisierung erfolgenden Reinjektionen lösen prompt anaphylaktische Erscheinungen aus.

Die vorliegenden Versuche haben, wie auch Ritz gefunden hat, gezeigt, daß die Ansicht, weiße Mäuse seien der Anaphylaxie gegenüber refraktär, unrichtig ist. Die Gründe hierfür sind in der Größe der Vorbehandlungsdosis und in den verschiedenen Arten der Applikation des die Symptome auslösenden Serums zu suchen. Man war von den Versuchen am Meerschweinchen her gewöhnt, nach Sensibilisierung mit geringen Mengen durch subkutane und intraperitoneale Injektion den anaphylaktischen Shock auszulösen. Man wußte auch, daß sich die Ueberempfindlichkeit bei subkutaner Reinjektion nicht nur in der akuten Allgemeinaffektion, sondern hauptsächlich in der mehr oder weniger schwer verlaufenden lokalen Form äußerte. Diese beiden am meisten in die Augen springenden Tatsachen haben für die Anaphylaxie der weißen Mäuse eben keine Gültigkeit.

2. Antianaphylaxie.

Auf Grund der theoretischen Erwägungen war von vornherein anzunehmen, daß bei den anaphylaktischen Mäusen auch Antianaphylaxie erzeugt werden konnte. So ist es Ritz ja auch gelungen, diesen Zustand hervorzurufen. Ein Unterschied der Anaphylaxie der weißen Mäuse zu der der anderen Tiere könnte höchstens in der Schnelligkeit des Auftretens und dem Andauern ihres Bestehens vorhanden sein. Die folgenden Versuche sollen zeigen, wie lange nach der Auslösung der anaphylaktischen Erscheinungen Antianaphylaxie eintritt und wie lange sie anhält.

Eine Anzahl von Mäusen wurde teils subkutan, teils intravenös vorbehandelt und darauf intravenös reinjiziert. Bei den überlebenden Tieren wurden nun nach $1\frac{1}{2}$ –2 Stunden, nach 24 Stunden, nach 2, 3, 4 usw. Tagen intravenöse Injektionen gemacht, um sie auf ihren Zustand zu prüfen.

Tabelle III.

Maus No.	Dosis der 1. Injekt.		Dosis der Reinjekt. intravenös	Erscheinung	Intravenöse Reinjektion nach										Erscheinungen	
	iv.	sbk.			1 1/2 St.	24 Std.	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	8 Tagen	9 Tagen	10 Tagen		
1	0,01	.	0,2 n. 15 Tg.	leicht krank	0,5	0,3	0,5	† durch Luft
2	0,025	.	0,3 n. 13 Tg.	krank	.	0,3	.	0,3	.	.	0,3	.	0,5	.	† n. 12'	
3	0,025	.	0,3 n. 13 Tg.	krank	0,3	0,3	0,5	0,5	.	.	† n. 5'	
4	0,05	.	0,3 n. 15 Tg.	leicht krank	.	0,3	.	.	0,3	.	0,4	0,5	.	.	† n. 18'	
5	0,1	.	0,2 n. 11 Tg.	leichte Lähmung	.	.	.	0,4	.	0,3	.	.	.	0,5	† durch Luft	
6	0,1	.	0,4 n. 21 Tg.	leicht krank	0,4	.	.	.	† n. 65'	
7	.	0,01	0,5 n. 19 Tg.	leichte Lähmung	.	.	0,4	0,4	.	.	0,4	.	.	.	† n. 20'	
8	.	0,01	0,5 n. 19 Tg.	leichte Lähmung	.	.	0,4	0,5	.	.	0,4	.	.	.	† n. 35'	
9	.	0,025	0,3 n. 19 Tg.	Lähmung	.	.	0,5	.	.	.	0,4	.	.	.	† n. 13'	
10	.	0,05	0,2 n. 13 Tg.	krank	0,2	0,3	0,3	0,5	.	.	0,4	.	.	.	† n. 15'	

Durch die Versuche an Maus No. 1, 3 und 10 sehen wir bestätigt, was auch schon das Experiment an Meerschweinchen gezeigt hat: Die Antianaphylaxie tritt sehr rasch ein. Nach Ablauf von 2 Stunden schon bewirkt selbst eine größere Dosis, die nach 1 1/2 Stunden noch Symptome, wenn auch in abgeschwächtem Maße, hervorgerufen hat, keine Reaktion mehr.

Wie man ersieht, hat die Antianaphylaxie nach 8 bzw. 9 Tagen ihr Ende erreicht; wenigstens zum großen Teil, denn da die Tiere fast alle trotz der großen Reinjektionsdosis erst nach längerer Zeit dem Anfall erliegen, muß man annehmen, daß die Ueberempfindlichkeit noch nicht voll wieder eingetreten ist. Das schnelle Verschwinden unterscheidet die Anaphylaxie der Mäuse wesentlich von der der Meerschweinchen, die erfahrungsgemäß Wochen und selbst Monate lang andauert. Man könnte bei dieser Tatsache vergleichend an einen Unterschied der Anaphylaxie der Mäuse und der anderer Tiere denken, nämlich an das frühe Auftreten der Ueberempfindlichkeit nach der Sensibilisierung. Wenn man der Theorie von Otto folgt, läßt sich ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Eigentümlichkeiten der Mäuse-Anaphylaxie und -Antianaphylaxie finden. Nach der Reinjektion befinden sich die Tiere wieder im Stadium 1, d. h. in dem Zustand, in dem das Blut frei ist von anaphylaktisierenden Körpern und auch die Tiere selbst nicht überempfindlich sind.

Die die Anaphylaxie auslösenden Serummengen wirken nun gleichzeitig als Vorbehandlungsdosen. Während nun bei Mäusen größere Mengen zur Vorbehandlung notwendig sind, schieben diese bekanntlich bei Meerschweinchen den Eintritt der Ueberempfindlichkeit hinaus, weshalb auch die Meerschweinchen-Antianaphylaxie länger anhält.

Bemerkenswert wäre noch an den Versuchen, daß auch die Mäuse, die nach intraperitonealer Reinjektion keine anaphylaktischen Symptome zeigten, antianaphylaktisch wurden, eine Erscheinung, die auch Ritz in seiner Arbeit hervorhebt.

Die Versuche haben bestätigt, daß auch bei weißen Mäusen zum Wesen der Anaphylaxie die Antianaphylaxie gehört. Gleichzeitig hat sich ein Merkmal gefunden, das die Antianaphylaxie der Mäuse wesentlich von der anderer Tiere unterscheidet: die kurze Dauer. Als Gesamtergebnis ergibt sich zugleich mit einer Bestätigung der Ritzschen Versuche, daß die Anaphylaxie und Antianaphylaxie bei weißen Mäusen ebenso gut hervorzurufen ist wie bei anderen Tieren, daß aber eine Anzahl von Unterschieden in Entstehung und Verlauf der beiden bestehen, weil sich die Entwicklung der Reaktionen der Mäuse-Anaphylaxie nicht ganz in denselben Bahnen bewegt, wie z. B. die Ueberempfindlichkeit der Meerschweinchen. Es hat sich aber aus den Versuchen einwandfrei ergeben, daß die weiße Maus als Versuchstier auf diesem Gebiete keinen hervorragenden Platz einnehmen kann, da die technischen Schwierigkeiten groß sind und die feineren Symptome nicht genügend hervortreten.

Zusammenfassung.

1) Die Anaphylaxie der weißen Mäuse kann durch einmalige Vorbehandlung hervorgerufen und durch Reinjektion des gleichen Serums ausgelöst werden. Die Art des Serums spielt keine Rolle.

2) Sensibilisierung. Es hat sich ergeben, daß es gleichgültig ist, welchen Weg man bei der Sensibilisierung einschlägt. Subkutane, intraperitoneale und intravenöse Injektionen führen stets und sicher zum Ziele. Nicht ohne Einfluß ist die Größe der Vorbehandlungsdosis. Mit ihr steigt die Heftigkeit der Symptome. Dosen von 0,01 ccm zeitigen

nur schwer festzustellende oder gar keine Symptome. Die Tiere werden aber trotzdem anaphylaktisch. Der Beweis ist durch das Auftreten der Antianaphylaxie erbracht. Die anaphylaktischen Symptome können am 10. Tage nach der Sensibilisierung stets ausgelöst werden.

3) Reinjektion. Zur Auslösung der anaphylaktischen Symptome ist die intravenöse Reinjektion erforderlich. Die subkutane sowohl als auch die intraperitoneale Probe sind nicht geeignet, regelmäßige und deutliche Erscheinungen auszulösen. Die Größe der Reinjektionsdosis hat innerhalb weiter Grenzen keinen Einfluß auf die Heftigkeit der ausgelösten Symptome.

4) Symptome. Die anaphylaktischen Symptome selbst sind in ihrer leichten Form bei den Mäusen nur unsicher festzustellen. Das geringste deutlich positive Symptom ist das Auftreten der Tränenaugen. Aeußern sich die Erscheinungen heftiger, so bemerkt man beim Gehen eine leichte Lähmung der Hinterbeine, die sich in einem froschartigen Gange äußert. Darauf tritt eine vollständige Lähmung ein, die sich allmählich nach vorn zu ausbreitet. Dieser Zustand wird durch Krämpfe unterbrochen. Schließlich tritt langsam der Tod ein.

5) Die Antianaphylaxie tritt $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden nach der Reinjektion auf, vorausgesetzt, daß die anaphylaktischen Erscheinungen ihr Ende erreicht haben und hält nur 8—9 Tage an. Sie tritt auch ein, wenn die Tiere nach der Reinjektion keinen anaphylaktischen Anfall gezeigt haben.

Literatur.

- 1) Doerr, Die Anaphylaxie. Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsf. von Kraus und Levaditi, Bd. 2, 1909.
- 2) — und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Therapie, Teil I, Bd. 1, 1910.
- 3) Friedemann, Zeitschr. f. Immunitätsf. und experim. Therapie, Teil I, Bd. 2, 1910.
- 4) Otto, Ueber Anaphylaxie und Serumkrankheit, im besonderen über experimentelle Serumüberempfindlichkeit. Handb. der pathog. Mikroorganismen, 2. Ergänzungsband, 1908.
- 5) Pick und Yamanouchi, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Ther., Teil I, Bd. 1, 1909.
- 6) Ritz, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Ther., Teil I, Bd. 9, 1911.

Nachdruck verboten.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Schwankungen in der Giftigkeit artfremden Normal- serums für das Meerschweinchen.

Von Dr. **Sadanori Mita** und Dr. **Tetsuta Ito** aus Tokio.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Februar 1913.)

Daß das artfremde aber auch das arteigene frisch defibrinierte Blut sowie das Plasma besonders bei intravenöser Zufuhr giftig wirkt, ist aus den Untersuchungen von Köhler¹⁾, Boggs²⁾, Morawitz³⁾, Weber⁴⁾, Studzinski⁵⁾, Schenk⁶⁾, Blaizot⁷⁾, Moldovan⁸⁾, Doerr⁹⁾ bekannt.

In jüngster Zeit hat besonders Moldovan dieses Phänomen näher studiert. Die giftige Wirkung des defibrinierten Blutes ist nach Moldovan bereits innerhalb $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunde geschwunden, während nach Doerr das in Hirudinlösung aufgefangene Blut längere Zeit giftig bleibt. Die Giftigkeit des frisch defibrinierten Blutes wird nach den meisten Autoren auf intravasale Gerinnungen bei der Injektion zurückgeführt. Moldovan fand auch, daß abzentrifugiertes Serum im frischen Zustande giftig ist und teilt mit, daß auch hier die Giftwirkung außerordentlich labil ist. *)

- 1) Köhler. Inaug.-Diss., Dorpat 1877.
- 2) Boggs, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 79.
- 3) Morawitz, Münch. med. Wochenschr., 1907.
- 4) Weber, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 46.
- 5) Studzinski, Centralbl. f. Physiol. Bd. 23.
- 6) Schenk, Münch. med. Wochenschr., 1910.
- 7) Blaizot, Compt. rend. Soc. Biol., Bd. 68 ff.
- 8) Moldovan, Deutsch. med. Wochenschr., 1910.
- 9) Doerr, Wien. klin. Wochenschr., 1912.

*) Daß im Serum spontane Veränderungen auftreten, haben auch neuerdings Pick und Handowsky (Arch. f. exp. Pathol., Bd. 71, 1913) mitgeteilt.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Friedberger haben wir es unternommen, zu untersuchen, ob die mit beginnender Gerinnung eintretende Giftigkeit tatsächlich mit ihrer Vollendung beendet ist oder ob auch die Giftigkeit des Serums noch weiterhin eine Aenderung erfährt.

Tatsächlich erfolgt dann auch noch eine weitere Abnahme der Giftigkeit in den meisten Fällen innerhalb der folgenden Stunden. Es ist also keineswegs die Giftigkeit mit vollendeter Gerinnung konstant geworden (das gilt wenigstens für das artfremde Serum).

Die Giftigkeit des frischen Serums tritt nicht nur im Tierversuch hervor, sondern sie macht sich nach den Untersuchungen von Schulz¹⁾ sowie Dale²⁾ auch am isolierten Organ (Uterus, Darm) bemerkbar. Aber auch diese Giftigkeit verschwindet beim einfachen Lagern des Serums.

In den Versuchen von Friedberger und Kumagai³⁾ z. B., in denen das 24 Stunden mit Bakterien in Kontakt gewesene anaphylatoxinhaltige Serum mit einer entsprechenden Quote desselben normalen Meerschweinchenserums von gleichem Alter verglichen wurde, zeigte letzteres keinen Einfluß auf die Darmbewegung*).

Wir untersuchten zunächst einmal die Veränderung in der Giftigkeit des normalen Kaninchenserums für das Meerschweinchen zu verschiedenen Zeiten nach der Entnahme. Wir verfahren dabei so, daß wir bei mittelgroßen gesunden Kaninchen das Blut aus der Carotis auffingen, sofort nach der Entnahme zentrifugierten und das bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrte Serum zu verschiedenen Zeiten auf seine Giftigkeit am Meerschweinchen auswerteten.

Nachstehend folgt eine Reihe derartiger Versuche.

1) Hygien. Laboratory Bulletin No. 80 1912.

2) Journ. of Pharm. and exp. Therap. Bd. 4, 1913 No. 3.

3) Friedberger und Kumagai, Verhandlg. der 6. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin, 30. Mai 1912; Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, Ref., Beiheft, p. 39.

*) Anmerkung: Die Abnahme der Giftigkeit des normalen Serums gegenüber dem isolierten Darm und Uterus ist in der jüngsten Zeit von Friedberger und Nathorff näher studiert worden. Herr Nathorff wird darüber in seiner Dissertation ausführlich berichten.

Versuch I. Kaninchen No. 28.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit 1)	Ausgang
317	180	1,50	22'	in 4' tot
321	190	1,25	20'	dgl.
320	190	1,00	31'	leicht erkrankt
319	200	1,25	60'	in 3' tot
328	200	1,25	90'	stark erkrankt
330	200	1,50	105'	sehr stark erkrankt
331	230	1,75	110'	dgl.
322	200	2,00	120'	in 7' tot
333	200	2,00	150'	stark erkrankt
335	180	2,25	157'	in 3' tot
336	190	2,25	180'	stark erkrankt
337	190	2,50	195'	in 3' tot
338	200	2,50	315'	stark erkrankt
339	190	2,75	330'	sehr stark erkrankt
340	180	3,00	340'	in 2' tot
343	180	3,00	390'	in 4' tot
351	180	3,00	ca. 24 ^b	stark erkrankt
352	180	3,25	ca. 24 ^b	in 6' tot

Versuch II. Kaninchen No. 10.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
274	200	0,5	20'	stark erkrankt
275	190	0,75	25'	sehr stark erkrankt
276	190	1,0	30'	in 6' tot
279	170	1,0	60'	stark erkrankt
280	170	1,25	70'	in 4' tot
281	190	1,25	90'	sehr stark erkrankt
282	200	1,5	105'	in 4' tot
277	220	1,5	120'	in 4' tot
278	210	1,5	150'	in 5' tot
283	160	1,5	260'	sehr stark erkrankt
284	190	1,75	265'	in 2' tot
285	180	1,75	320'	in 2' tot
286	190	1,75	390'	dgl.
287	180	1,5	395'	stark erkrankt

1) Hierunter ist die Zeit verstanden von der Entnahme beim Kaninchen bis zur Injektion beim Meerschweinchen.

Versuch III. Kaninchen No. 30.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
366	170	1,5	20'	in 1/2' tot
367	170	1,25	25'	in 1 1/3' tot
368	170	1,0	30'	in 9' tot
369	180	0,75	45'	stark erkrankt
370	190	1,0	60'	leicht erkrankt
371	190	1,25	70'	in 7' tot
372	180	1,25	100'	stark erkrankt
273	180	1,5	105'	dgl.
274	174	1,7	130'	"
275	160	2,0	130'	in 1 1/2' tot
376	170	2,0	270'	stark erkrankt
377	180	2,25	280'	in 5' tot
378	180	2,25	370'	stark erkrankt
366	170	2,5	380'	in 5' tot

Versuch IV. Kaninchen No. 29.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
344	170	1,5	22'	in 2' tot
345	180	1,0	27'	stark erkrankt
347	190	1,25	30'	in 2' tot
346	190	1,25	60'	stark erkrankt
348	180	1,50	67'	in 2' tot
349	180	1,5	90'	in 4' tot
350	180	1,5	120'	in 10' tot
353	190	1,5	150'	in 2' tot
354	190	1,5	300'	in 4' tot
364	200	1,5	ca. 18 ^a	stark erkrankt
365	200	1,75	ca. 18 ^b	in 4' tot

Versuch V. Kaninchen No. 2, ♂.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
58	170	1,5	30'	in 2' tot
57	160	1,0	35'	leicht erkrankt
59	150	1,5	55'	in 3' tot
60	170	1,5	220'	stark erkrankt
61	150	1,75	235'	sehr stark erkrankt
62	150	2,0	245'	in 3' tot

Versuch VI. Kaninchen No. 3, ♂.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 200 g Tier	Zeit	Ausgang
79	200	1,5	30'	stark erkrankt
80	190	2,0	40'	in 2' tot
81	190	2,0	125'	stark erkrankt
82	190	2,5	135'	sehr stark erkrankt
83	150	3,0	140'	in 2' tot
84	150	3,0	240'	leicht erkrankt
		> 3,0		

Versuch VII. Kaninchen No. 27, ♀.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
161	160	1,5	25'	in 2 1/2' tot
162	170	1,0	30'	leicht erkrankt
165	165	1,5	230'	stark erkrankt
166	160	2,0	237'	dgl.
167	160	2,5	240'	"
168	160	3,0	250'	in 2' tot

Versuch VIII. Kaninchen No. 26.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
129	180	1,5	25'	in 4' tot
130	160	1,0	29'	leicht erkrankt
131	190	1,5	60'	in 5' tot
134	200	1,5	240'	schwer erkrankt
135	200	2,0	243'	in 12' tot

Versuch IX. Kaninchen No. 28.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
163	160	1,5	22'	stark erkrankt
164	160	2,0	30'	in 2' tot
169	140	2,5	230'	in 2' tot
170	150	2,5	235'	stark erkrankt

Versuch X. Kaninchen No. 3, ♂.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
113	160	3,0	25'	in 2' tot
114	160	2,5	30'	leicht erkrankt
117	180	3,0	65'	leicht erkrankt
118	150	3,5	70'	stark erkrankt
119	150	4,0	75'	in 3' tot
120	140	4,0	245'	leicht erkrankt
121	140	4,5	250'	in 2 $\frac{1}{2}$ ' tot

Versuch XI. Kaninchen No. 31.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
453	140	1,0	30'	stark erkrankt
454	140	1,25	35'	in 3 $\frac{1}{2}$ ' tot
458	170	1,25	240'	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot
459	170	1,25	ca. 24 ^a	stark erkrankt
461	160	1,5	ca. 24 ^b	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot

Versuch XII. Kaninchen No. 9.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
396	170	1,5	20'	in 2' tot
397	170	1,0	23'	dgl.
399	160	0,75	45'	stark erkrankt
404	160	1,0	185'	stark erkrankt
405	160	1,25	190'	in 7' tot
407	190	1,25	ca. 19 ^b	in 2' tot

Versuch XIII. Kaninchen No. 24.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
303	180	1,5	23'	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot
310	180	1,0	30'	in 2' tot
306	180	0,5	35'	in 2' tot
307	200	0,25	37'	leicht erkrankt
308	200	0,5	60'	in 4' tot
309	200	0,5	100'	in 6' tot
311	200	0,5	130'	in 2' tot
312	200	0,5	160'	in 8' tot
313	200	0,5	300'	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot

Das Serum inaktiviert und nach 5^b auf Giftigkeit geprüft

314	190	0,5	300'	in 5' tot
-----	-----	-----	------	-----------

Versuch XIV. Kaninchen No. 4.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchenserummeng pro 100g Tier	Zeit	Ausgang
86	170	1,5	30'	leicht erkrankt
85	170	2,0	35'	stark erkrankt
87	170	2,5	40'	sehr stark erkrankt
88	160	3,0	45'	in 3' tot
89	150	3,0	60'	in 7' tot
90	150	3,5	235'	in 2' tot
91	150	3,0	240'	in 2' tot
93	170	3,0	ca. 24 ^b	in 4' tot

Versuch XV. Kaninchen No. I 10.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchenserummeng pro 100g Tier	Zeit	Ausgang
63	190	1,5	30'	in 1' tot
65	170	1,0	40'	in 2' tot
64	180	0,5	45'	leicht erkrankt
66	190	1,0	247'	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot

Versuch XVI. Kaninchen No. 2, ♀.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchenserummeng pro 100g Tier	Zeit	Ausgang
46	180	1,5	40'	stark erkrankt
47	190	2,0	45'	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot
48	200	2,0	250'	in 2' tot

Übersichtstabelle I.

Zeitliche Abnahme der Giftigkeit des Kaninchenserums pro 100 g Meer-
schweinchen.

Kan. No.	ca. $\frac{1}{4}$ Std. ccm	ca. 2 Std. ccm	ca. 3 Std. ccm	ca. 4 Std. ccm	ca. 6 Std. ccm	ca. 18 Std. ccm	ca. 24 Std. ccm
28	1,25	2,0	2,5		3,0		3,25
10	1,0	1,5			1,75		
30	1,0	2,0			2,5		
29	1,25	1,5	1,5			1,75	
2	1,5			2,0			
3	2,0	3,0		> 3,0			
27	1,5			3,0			
26	1,5			2,0			
28	2,0			2,5			
3	3,0			4,5			
31	1,25			1,25			1,5
9	1,0		1,25			1,25	
24	0,5			0,5			
4	3,0			3,0			3,0
I 10	1,0			1,0			
2	2,0			2,0			

Wie sich aus der zusammenfassenden Tabelle I ergibt, erfährt die Giftigkeit des normalen Kaninchenserums auf das Meerschweinchen im Verlaufe weniger Stunden in vielen Fällen eine ganz beträchtliche Abnahme, die schon innerhalb von 4 Stunden 50 Proz. der ursprünglichen Giftigkeit betragen kann.

Im weiteren Verlaufe bis zu 24 Stunden geht die Giftigkeit noch weiterhin beträchtlich zurück.

Dagegen haben wir doch eine Reihe von Fällen beobachtet (4 Versuchstiere in Tabelle I), bei denen diese Abnahme der Giftigkeit ausblieb. Schon diese Unregelmäßigkeit des Phänomens schien uns schwer mit der von Moldovan angenommenen Deutung vereinbar. Dann aber erklärte die Hypothese von Moldovan keineswegs die Tatsache, weshalb nicht nur in der ersten Zeit nach der Blutentnahme, in der man sehr wohl Gerinnungsvorgänge noch *intra vitam* annehmen kann, sondern auch noch zu den späteren Zeiten, von der 6. Stunde ab bis zu 24 Stunden die Giftigkeit des Serums weiterhin abnahm.

Wir haben, um die Ursache der Giftigkeitsabnahme zu erforschen, noch Versuche zu verschiedenen Zeiten angestellt mit aktivem Kaninchenserum wie bisher, und zum Vergleich mit einer inaktiven Quote desselben Serum.

Diese Versuche folgen nachstehend.

Versuch XVII. Kaninchen No. 26, ♂.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchenserummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Aktives Serum.				
129	180	1,5	25'	in 4' tot
130	160	1,0	29'	leicht erkrankt
131	190	1,5	60'	in 5' tot
134	200	1,5	240'	schwer erkrankt
135	200	2,0	243'	in 12' tot
		> 2,0		
II. Inaktiviertes Serum.				
132	160	1,5	64'	stark erkrankt
133	160	2,0	74'	in 3' tot
136	190	2,0	257'	stark erkrankt
138	130	2,0	267'	stark erkrankt

Wir suchten durch Absättigung der gegen das normale Meerschweincheneiweiß gerichteten Antikörper im Kaninchenserum die Giftigkeit zu beeinflussen. Zu diesem Zwecke wurden 10 ccm des auch im vorigen Versuch verwendeten Kaninchenserums No. 26 mit 7 ccm wiederholt in physio-

logischer Kochsalzlösung gewaschener Meerschweinchenblutkörperchen versetzt, 1 Stunde in Kontakt gelassen und dann abzentrifugiert. Es ergab sich jedoch, daß durch diese Prozedur eine nachweisbare Verringerung der Giftigkeit nicht eingetreten ist.

III. 10 ccm aktives Kaninchen Serum mit 7 g wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschenen Meerschweinchenblutkörperchen versetzt, 1 Std. lang bei 38° C digeriert, dann zentrifugiert und auf Giftigkeit geprüft.

134	160	1,5	90'	in 3' tot
137	150	1,5	274'	stark erkrankt
139	150	2,0	280'	in 2' tot

Versuch XVIII. Kaninchen No. 3, ♂.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Aktives Serum.				
113	160	3,0	25'	in 2' tot
114	160	2,5	30'	leicht erkrankt
117	180	3,0	65'	leicht erkrankt
118	150	3,5	70'	stark erkrankt
119	150	4,0	75'	in 3' tot
120	140	4,0	245'	leicht erkrankt
121	140	4,5	250'	in 2½' tot
II. Inaktiviertes Serum.				
115	170	3,0	50'	in 2' tot
116	150	2,5	60'	schwer erkrankt
122	140	3,0	295'	in 4' tot

Uebersichtstabelle II.

Giftigkeitsänderung des normalen aktiven und normalen inaktivierten Serums mit der Zeit

	Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier		Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier		Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier	
	Aktives Serum	Inaktiviertes Serum	Mit Meerschweinchenblutkörperchen digeriertes Serum			
Kaninchen No. 26	ca. ½ ^h	ca. 4 ^h	ca. ½ ^h	ca. 4 ^h	ca. 1½ ^h	ca. 4 ^h
	1,5 ccm	2,0 ccm	2,0 ccm	> 2,0 ccm	1,5 ccm	2,0 ccm
Kaninchen No. 3	ca. ½ ^h	ca. 4 ^h	ca. ½ ^h	ca. 5 ^h		
	3,0 ccm	4,5 ccm	3,0 ccm	3,0 ccm		
Kaninchen No. 24	ca. ½ ^h	ca. 5 ^h		ca. 5 ^h		
	0,5 ccm	0,5 ccm		0,5 ccm		

Es ergibt sich aus diesen Versuchen die Tatsache, daß innerhalb von 4 Stunden das aktive Serum deutlich an Giftigkeit abnimmt, das inaktive sich aber meist konstant erhält.

Wir haben weiterhin die Giftigkeit von aktiven Kaninchenimmuneris, die durch Vorbehandlung der Kaninchen mit Hammelserum gewonnen waren, untersucht.

Wir lassen im nachstehenden die Versuche folgen.

Versuch XIX. Kaninchen No. 9.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummenge pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Normalserum.				
396	170	1,5	20'	in 2' tot
397	170	1,0	23'	in 2' tot
399	160	0,75	45'	stark erkrankt
404	160	1,0	185'	stark erkrankt
405	160	1,25	190'	in 7' tot
407	190	1,25	19 ^b	in 2' tot
II. Eine Woche nach der intraperitonealen Vorbehandlung mit 5 ccm Hammelserum.				
451	140	0,6	20'	in 1' tot
452	140	0,3	25'	stark erkrankt
455	170	0,6	80'	stark erkrankt
456	170	0,6	245'	stark erkrankt
457	170	1,0	240'	in 3' tot
462	160	1,0	24 ^b	leicht erkrankt
463	160	1,25	24 ^b	stark erkrankt
464	150	1,5	24 ^b	in 2' tot

Versuch XX. Kaninchen No. 5.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummenge pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Normalserum.				
92	180	1,5	30'	in 6' tot
94	180	1,5	ca. 24 ^b	stark erkrankt
95	160	2,0	ca. 24 ^b	in 5' tot
II. Das Tier je 2 Tage mit 2 ccm Hammelserum intravenös viermal vorbehandelt. Am 10. Tage nach der letzten Injektion Blut entnommen und auf die Giftigkeit des Serums untersucht.				
A. Aktives Serum.				
140	160	1,0	30'	in 2' tot
141	180	0,5	34'	schwer erkrankt
142	170	1,0	60'	in 2' tot
144	180	1,0	240'	in 1' tot
B. Inaktiviertes Serum.				
142	180	1,0	70'	in 4' tot
145	170	1,0	250'	in 4' tot

Präzipitation: 1:10 000 +.

Versuch XXI. Kaninchen No. 28, ♂.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Normalserum.				
163	160	1,5	22'	stark erkrankt
164	160	2,0	30'	in 2' tot
169	140	2,5	230'	in 2' tot
170	150	2,0	235'	stark erkrankt

II. Dreimal eine um den andern Tag mit 2,0 ccm Hammelserum intravenös vorbehandelt. Am 7. Tage nach der letzten Injektion Blut entnommen.

A. Aktives Immunserum.				
192	150	1,0	30'	stark erkrankt
193	170	1,5	35'	in 6' tot
195	170	1,5	60'	in 2' tot
196	200	1,5	240'	in 2' tot
B. Inaktives Immunserum.				
194	150	1,5	60'	in 3' tot
197	190	1,5	245'	stark erkrankt
198	180	2,0	250'	dgl.
199	160	2,5	265'	in 1½' tot

Versuch XXII. Kaninchen No. 48.

Viermal in Intervallen von 1—4 Tagen mit 1,5 ccm Hammelserum intravenös vorbehandelt. Am 30. Tage nach der letzten Injektion Blut entnommen.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
A. Aktives Immunserum.				
65	190	0,5	25'	stark erkr., in 60' tot
221	170	1,0	30'	in 2' tot
39	190	1,0	240'	in 1' tot
60	170	0,5	245'	stark erkrankt
B. Inaktives Immunserum.				
36	190	0,5	68'	stark erkrankt
35	180	1,0	61'	in 4' tot
40	190	1,0	230'	in 10' tot

Versuch XXIII. Kaninchen No. 41.

Viermal in Intervallen von 1—4 Tagen mit 1,5 ccm Hammelserum intravenös vorbehandelt. Am 30. Tage nach der letzten Injektion Blut entnommen.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
A. Aktives Immunserum.				
61	180	0,5	30'	in 6' tot
62	170	0,25	33'	in 15' tot
63	190	0,1	40'	leicht erkrankt
37	200	0,25	240'	stark erkrankt
82	200	0,15	270'	in 5' tot

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchenserummengemenge pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
B. Inaktives Immuneserum.				
64	180	0,25	60'	in 10' tot
220	180	0,1	70'	leicht erkrankt
38	190	0,1	244'	in 12' tot
59	190	0,25	255'	leicht erkrankt

Uebersichtstabelle III.

Giftigkeitsänderung des aktiven und inaktiven Immuneserums mit der Zeit.

	Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier		Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier			
	normales Serum		Immuneserum			
			aktives		inaktiviertes	
Kan. No. 28	ca. 30'	ca. 4 ^b	ca. 30'	ca. 4 ^b	ca. 1 ^b	ca. 4 ^b
	2,0 ccm	2,5 ccm	1,5 ccm	1,5 ccm	1,5 ccm	2,5 ccm
Kan. No. 5	ca. 1/2 ^b	ca. 24 ^b	ca. 2 ^b	ca. 4 ^b	ca. 1/2 ^b	ca. 4 ^b
	1,5 ccm	2,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm
Kan. No. 9	ca. 1/2 ^b	ca. 3 ^b	ca. 19 ^b	ca. 1/2 ^b	ca. 4 ^b	
	1,0 ccm	1,25 ccm	1,25 ccm	0,6 ccm	0,6 ccm	
Kan. No. 41			ca. 1/2 ^b	ca. 4 ^b	ca. 1 ^b	ca. 4 ^b
			0,25 ccm	0,5 ccm	0,25 ccm	0,25 ccm
Kan. No. 48			1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm

Es ergibt sich zunächst die Tatsache, daß, im Gegensatz zum normalen Serum, das Immuneserum der Kaninchen seine Giftigkeit meist innerhalb 4 Stunden nicht wesentlich verändert. Auch das inaktive Serum verhielt sich entsprechend. In je einem Falle haben wir allerdings eine scheinbare Abnahme der Giftigkeit zu verzeichnen. Doch möchten wir darauf hinweisen, daß auch hier dasjenige Tier, das die vorher tödliche Dosis später erhielt, schwere Krankheitssymptome zeigt. Die Differenz dürfte also kaum allzu hoch angeschlagen sein.

Herr Professor Friedberger vermutete, daß die Giftigkeit der Kaninchensera vielleicht darauf beruhe, daß gewisse toxische intermediäre Spaltprodukte der Verdauung im Blut zirkulieren. Man müßte dann, um die allmähliche Giftigkeitsabnahme zu erklären, annehmen, daß beim längeren Stehen des Serums, namentlich im aktiven Zustand, ein weiterer Ab-

bau dieser Zwischenstufen statthätte. War diese Annahme richtig, so mußte bei einem längeren Hungern der Tiere die Giftigkeit gegen die Fütterungsperiode abnehmen ¹⁾ und andererseits war zu erwarten, daß das Serum aus im Hungerzustand entnommenen Blut seine Toxizität konstant erhalten würde. Zur Entscheidung dieser Frage haben wir eine Reihe von Versuchen an gestellt, über die im nachstehenden berichtet ist.

Wenn wir zunächst die Giftigkeit beim gefütterten und beim fastenden Tier vergleichen, so ergibt sich entgegen unserer ursprünglichen Erwartung keine deutliche Abnahme der Giftigkeit in der Hungerperiode; ja im Gegenteil bei Kaninchen No. 2 und beim Hund eine deutliche Zunahme. Auch in der auf die Fastperiode folgenden neuen Fütterungsperiode ändert sich die Giftigkeit beim Kaninchen No. 2 nicht merklich. Beim Kaninchen No. 1 haben wir eine geringe Zunahme, beim Kaninchen No. 31 eine geringe Abnahme der Giftigkeit (Vergleich des $\frac{1}{2}$ Stunde alten Serums).

Versuch XXIV. Kaninchen No. 2, ♀.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier.	Zeit	Ausgang
I. Mormalserum.				
46	180	1,5	40'	stark erkrankt
47	190	2,0	45'	in $1\frac{1}{2}$ ' tot
48	200	1,0	250'	in 2' tot
II. 3 Tage lang hungern gelassen.				
50	190	2,0	30'	in 2' tot
51	150	1,5	34'	in $1\frac{1}{2}$ ' tot
49	190	1,0	40'	stark erkrankt
52	190	0,5	50'	leicht erkrankt
53	210	1,5	240'	leicht erkrankt
54	180	2,5	235'	in 1' tot
55	190	2,0	245'	stark erkrankt
III. 24 Stunden lang reichlich gefüttert und wieder geprüft.				
56	180	1,5	30'	in 5' tot
57	170	1,0	35'	leicht erkrankt
60	200	1,5	230'	leicht erkrankt
61	180	2,5	235'	stark erkrankt
62	160	3,5	244'	in 2' tot

1) Eine Zunahme der Toxizität während des Hungerns findet nach Versuchen von Doerr an 2 Kaninchen (Centralbl. f. Bakt., Bd. 67, H. 1;2) nicht statt, im einen Fall war sogar eine Abnahme zu konstatieren.

Versuch XXV. Kaninchen (I. 10).

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Normalserum.				
63	190	1,5	30'	in 1' tot
65	170	1,0	40'	in 2' tot
64	180	0,5	45'	leicht erkrankt
66	190	1,0	247'	in 1½' tot
II. 3 Tage lang hungern gelassen.				
67	180	1,0	26'	in 2' tot
68	190	0,5	31'	leicht erkrankt
69	170	1,5	270'	in 3' tot
70	200	1,0	276'	dgl.
71	190	0,5	283'	leicht erkrankt

Versuch XXVI. Kaninchen No. 1.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. 3 Tage lang hungern gelassen				
34	200	1,5	35'	stark erkrankt
35	190	2,0	40'	in 6' tot
36	180	2,0	250'	stark erkrankt
37	210	2,5	255'	dgl.
38	180	3,0	265'	in 3' tot
II. 6 Stunden nachher wieder Blut entnommen, nachdem das Tier gefüttert worden war				
39	170	2,0	25'	in 1½' tot
40	150	1,5	35'	in 3' tot
41	190	1,0	40'	leicht erkrankt
42	200	1,5	150'	stark erkrankt
43	180	2,0	156'	dgl.
44	170	2,5	163'	sehr stark erkrankt
45	170	3,0	173'	dgl.
		> 3,0		
III. Das Tier 7 Tage lang reichlich gefüttert und dann wieder das Serum untersucht				
58	180	1,5	30'	in 2' tot
59	170	1,0	36'	stark erkrankt
62	190	1,5	270'	stark erkrankt
61	180	2,0	275'	in 3' tot

Versuch XXVII. Kaninchen No. 31.

No. des Tieres	Körpergewicht	Kaninchen-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. 2 $\frac{1}{2}$ Tage hungern gelassen				
409	170	1,5	22'	in 2' tot
410	160	1,0	37'	in 2 $\frac{1}{2}$ ' tot
411	160	0,75	30'	stark erkrankt
412	170	1,0	240'	leicht erkrankt
413	180	1,25	245'	stark erkrankt
414	190	1,5	250'	dgl.
415	160	1,75	255'	in 2' tot
II. Nach 5-tägiger Fütterung				
453	140	1,0	30'	stark erkrankt
454	140	1,25	35'	in 3 $\frac{1}{2}$ ' tot
458	170	1,25	240'	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot
459	170	1,25	ca. 24 ^b	stark erkrankt
461	160	1,5	ca. 24 ^b	in 1 $\frac{1}{2}$ ' tot

Versuch XXVIII. Hund.

No. des Tieres	Körpergewicht	Hunde-serummeng pro 100 g Tier	Zeit	Ausgang
I. Im normalen Zustand				
298	200	1,5	40'	in 3' tot
299	190	1,0	35'	in 24' tot
307	190	1,0	390'	stark erkrankt
308	170	1,5	400'	in 3' tot
II. 2 Tage lang hungern gelassen				
325	190	1,5	40'	in 4' tot
326	170	1,0	47'	dgl.
327	170	0,5	52'	leicht erkrankt
328	170	1,0	217'	in 3' tot
III. Noch weitere 16 Tage lang hungern gelassen				
333	230	1,0	30'	in 4' tot
334	220	0,5	35'	in 10' tot
335	240	0,25	45'	leicht erkrankt
336	270	1,0	275'	in 4' tot
337	270	0,5	285'	leicht erkrankt
IV. Nach 13-tägiger Fütterung				
383	200	1,0	20'	leicht erkrankt
384	210	1,5	25'	in 3' tot
386	210	1,5	330'	sehr stark erkrankt
387	190	2,0	340'	in 4' tot

Uebersichtstabelle IV.
Beziehungen zwischen Serumgiftigkeit und Ernährung.

	Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier		Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier		Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier		Minimale tödliche Dosis pro 100 g Tier	
	Norm		Hungern		Hungern		Füttern	
Kan. No. 2			3 Tage				24 ^h	
	ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h	ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h			ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h
	2,0 ccm	2,0 ccm	1,5 ccm	2,5 ccm			1,5 ccm	3,5 ccm
Kan. I. 10								
	ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h	ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h				
	1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm				
Kan. No. 1			3 Tage		6 ^h		7 Tage	
			ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h			ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h
			2,0 ccm	3,0 ccm			1,5 ccm	2,0 ccm
Kan. No. 31			3 Tage				5 Tage	
			ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h			ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h ca. 24 ^h
			1,0 ccm	1,75 ccm			1,25 ccm	1,25 ccm 1,5 ccm
Hund			2 Tage		16 Tage		13 Tage	
	ca. 1/2 ^h	ca. 6 ^h	ca. 1/2 ^h	ca. 3 ^h	ca. 1/2 ^h	ca. 4 ^h	ca. 1/2 ^h	ca. 5 ^h
	1,0 ccm	1,5 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	1,5 ccm	2,0 ccm

Jedenfalls zeigen diese Versuche, daß die geringen und nicht einmal eindeutigen Schwankungen in der Giftigkeit eine Abhängigkeit von der Verdauung nicht erkennen lassen.

Wenn wir nun die zeitliche Abnahme der Giftigkeit bei den einzelnen Tieren vergleichen, so sehen wir, daß auch im Hungerzustand ebenso wie bei der Fütterung eine Abnahme der Giftigkeit mit der Zeit erfolgen kann, die freilich ebensowenig wie bei gefütterten Tieren konstant ist.

Zusammenfassung.

Die Giftigkeit frisch gewonnenen Kaninchenserums für das Meerschweinchen bei intravenöser Zufuhr erfährt nicht nur innerhalb der kurzen Zeit bis zur vollendeten Gerinnung ein Abnahme. Vielmehr schreitet die Abnahme der Giftigkeit in den meisten Fällen mindestens noch von der ersten halben Stunde weiter fort.

Inaktiviertes Serum zeigt innerhalb eines Zeitraumes von 4 Stunden, in denen das aktive Serum meistens beträchtlich an Giftigkeit abnimmt, keine deutliche Verminderung der Toxizität.

Primär giftige Antisera halten sowohl im aktiven wie im inaktiven Zustand ihre Giftigkeit von $\frac{1}{2}$ bis zur 4. Stunde annähernd bei.

Die Verminderung der Toxizität von Kaninchenseris erfolgt in gleicher Weise wie bei gefütterten Tieren auch häufig bei hungernden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Höffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

XXXV. Mitteilung.

Ueber das Verhalten der roten Blutkörperchen bei der Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung.

Von T. Kumagai aus Tokio.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Februar 1913.)

Bereits im Jahre 1909 hat Sleeswijk¹⁾ gelegentlich seiner Anaphylaxieversuche die Beobachtung gemacht, daß das während des anaphylaktischen Shocks beim Meerschweinchen entnommene Blut beim Zentrifugieren geringe Hämolyse zeigt. Friedberger und Hartoch²⁾ konnten diese Beobachtung von Sleeswijk alsbald bestätigen. Sie verglichen das während der gewöhnlichen Erstickung durch Zuschnüren der Trachea entnommene Blut mit dem im anaphylaktischen Erstickungsschock gewonnenen und fanden das Serum des ersteren bei vorsichtigem Zentrifugieren stets farblos, das des letzteren, in Uebereinstimmung mit Sleeswijk, stets mehr oder weniger rötlich gefärbt.

Eine Reihe von Autoren hat nachdem die gleiche Beobachtung gemacht; nur Biedl und Müller³⁾ geben merkwürdigerweise an, daß das im anaphylaktischen Shock des

1) Diese Zeitschr., Bd. 2, 1909, p. 133.

2) Ibid., Bd. 3, 1909, p. 581.

3) Ibid., Bd. 8, 1911, p. 414.

Meerschweinchens entnommene Blut beim Zentrifugieren ein farbloses Serum liefere, während im Gegensatz dazu das bei der primären Antiserumgiftigkeit in der Agone entzogene Blut beim Zentrifugieren ein rotgefärbtes Serum ergebe. Die Autoren glaubten hierin einen weiteren Unterschied zwischen Anaphylaxie und dieser Vergiftung zu erblicken. Da es aber durch die vorausgegangenen Beobachtungen festgestellt war, daß auch bei der aktiven Anaphylaxie während des Zentrifugierens ein Hämoglobinaustritt statt hat, so erübrigt es sich füglich auf diese Einwände weiter einzugehen.

Die Tatsache, daß das im anaphylaktischen Shock entnommene Blut beim einfachen Zentrifugieren Hämoglobin abgibt, ist augenscheinlich auf eine Schädigung der roten Blutkörperchen zurückzuführen. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Friedberger habe ich Versuche über Art und Grad der Schädigung der Erythrocyten beim anaphylaktischen Shock vorgenommen, über die ich im nachstehenden berichten will. Die Versuche wurden an aktiv präparierten Meerschweinchen bei der Reinjektion und bei normalen Tieren, die mit Anaphylatoxin vergiftet waren, angestellt. Zu den Kontrollversuchen wurden Meerschweinchen benutzt, die durch Zuziehen der Trachea erstickt wurden.

Bei den Tieren beider Gruppen wurde zunächst nach der Aufspannung die Carotiden freigelegt, aus der einen etwa 2 ccm Blut entnommen und mit Glasperlen geschüttelt. Danach wurde bei den mit Hammelblutserum präparierten Tieren eine sicher tödliche Dosis in die Vena jugularis reinjiziert, bei den anderen Tieren eine entsprechend große Dosis Anaphylatoxin und bei den Kontrollen wurde die Trachea mittels einer Schnur zugezogen. In der Agone erfolgte die zweite Blutentnahme aus der anderen Carotis. Das Blut wurde wiederum mit Glasperlen defibriniert. Dann wurden jeweils die beiden Blutquoten dreimal mit 0,85-proz. physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in 5-proz. Aufschwemmung auf ihre Resistenz gegenüber Saponin und Wasser untersucht. Die Resistenzbestimmung gegenüber hypotonischen Lösungen geschah in der üblichen Weise derart, daß zu Röhrchen mit fallendem Kochsalzgehalt und gleichem Flüssigkeitsvolumen gleiche Mengen Blutkörperchenaufschwemmung zugesetzt wurden (1 ccm der 5-proz. Blutaufschwemmung). Die Ablesung des Resultates erfolgte nach 2 Stunden beim

Aufenthalt der Röhrrchen in Zimmertemperatur. Als Beispiel einer großen Reihe vollkommen übereinstimmender Versuche sei die nachstehende Tabelle angeführt.

Meerschweinchen K 8 am 1. VII. mit 0,02 Hammelserum präpariert, Reinjektion 0,05 Hammelserum am 18. VII., Normaltier (Kontrolle) durch Erstickung getötet.

3-fach verd. 0,85-proz. NaCl-Lös.	Aq. dest.	5-proz. Blut-aufschwemmung	Prozent der Kochsalzlösung	Hämolyse			
				Anaphylaxie-Tier K 8		Normaltier	
				vor Injektion	nach Injektion	vor Erstickung	nach Erstickung
1,8	0,2	1,0	0,453	fast farblos ¹⁾	rötlich, gr. Kuppe dgl.	fast farblos	fast farblos
1,7	0,3	„	0,443	fast farblos, leicht gelblich	dgl.	leicht gelb	leicht gelb
1,6	0,4	„	0,434	tief gelb	rot, kl. Kuppe	etwas rötlich, gr. Kuppe dgl.	etwas rötlich, gr. Kuppe dgl.
1,5	0,5	„	0,425	etwas rötlich, gr. Kuppe	dgl.	dgl.	dgl.
1,4	0,6	„	0,415	rot, kl. Kuppe	tiefrot, Hauch	rötlich, kl. Kuppe dgl.	rötlich, kl. Kuppe dgl.
1,3	0,7	„	0,406	tiefrot, Hauch	fast komplett	dgl.	dgl.
1,2	0,8	„	0,396	dgl.	dgl.	rot, Hauch dgl.	rot, Hauch dgl.
1,1	0,9	„	0,387	„	„	dgl.	dgl.
1,0	1,0	„	0,378	fast komplett	komplett	fast komplett	fast komplett
0,9	1,1	„	0,368	komplett	dgl.	komplett	komplett

Aus dieser Tabelle ergibt es sich, daß die Resistenz der Blutkörperchen gegenüber hypotonischen Kochsalzlösungen während des anaphylaktischen Shocks eine deutliche Abnahme erfährt. Bei dem durch Unterbinden der Trachea erstickten Tier ist dagegen hiervon nichts zu bemerken.

Wir haben dann des weiteren entsprechende Versuche mit Anaphylatoxin angestellt. Hier hatten schon Friedberger und später alle Mitarbeiter unseres Laboratoriums stets die Beobachtung gemacht, daß beim Zentrifugieren des im Anaphylatoxinshock entnommenen Blutes das Serum ebenso rötlich gefärbt erschien wie bei der aktiven und passiven Anaphylaxie. Das Gift wurde in der üblichen Weise aus *Prodigiosus* bacillen (vier Oesen auf 4 ccm normalen Meerschweinchenserums 1 Stunde Brutschrank, 24 Stunden Zimmertemperatur) gewonnen. Die Technik entsprach im übrigen vollkommen der

1) Die Farbenangaben beziehen sich natürlich auf die obenstehende Flüssigkeit.

bei den voraufgegangenen Versuchen. Auch hier begnügen wir uns, von unseren übereinstimmenden Versuchsreihen eine in der nachstehenden Tabelle mitzuteilen.

29. VII. 1911. Meerschweinchen K 122, 200 g. Anaphylatoxin aus *Prodigiosus* bacillen 4 ccm intravenös injiziert. Vor und nach der Injektion Blutentnahme. K 123 zur Kontrolle erstickt, Blutentnahme vorher und in der Agonie.

3-fach verd. 0,85-proz. NaCl-Lös.	Aq. dest.	5-proz. Blut-aufschwemmung	Prozent der Kochsalzlösung	Hämolyse			
				Anaphylatoxin-Tier		Normaltier	
				vor Injektion	nach Injektion	vor Erstickung	nach Erstickung
1,8	0,2	1,0	0,453	farblos	gelb	farblos	farblos
1,7	0,3	„	0,443	gelb	etwas rötlich	gelb	gelb
1,6	0,4	„	0,434	etwas rötlich	rötlich, gr. Kuppe	vgl.	vgl.
1,5	0,5	„	0,425	rötlich, gr. Kuppe	tiefrot, kl. Kuppe	etwas rötlich	etwas rötlich
1,4	0,6	„	0,415	rot, gr. Kuppe	vgl.	vgl.	vgl.
1,3	0,7	„	0,406	vgl.	„	rot, gr. Kuppe	rot, gr. Kuppe
1,2	0,8	„	0,396	tiefrot, kl. Kuppe	tiefrot, Hauch	vgl.	vgl.
1,1	0,9	„	0,387	vgl.	vgl.	tiefrot, kl. Kuppe	tiefrot, kl. Kuppe
1,0	1,0	„	0,378	„	„	tiefrot, Hauch	tiefrot, Hauch
0,9	1,1	„	0,368	tiefrot, Hauch	komplett	komplett	komplett

Bei der Anaphylatoxinvergiftung ergibt sich also ein Verhalten der roten Blutkörperchen, das völlig mit dem bei der aktiven Anaphylaxie übereinstimmt. Bei dem durch Erstickung getöteten Tier waren wiederum keine Unterschiede in der Resistenz der Blutkörperchen vorher und in der Agone nachzuweisen.

Wir haben dann weiterhin die Blutkörperchen anaphylaktischer und mit Anaphylatoxin vergifteter und mechanisch erstickter Tiere gegenüber Saponin untersucht. Es wurde wiederum das vorher und in der Agone entnommene gewaschene Blut in 5-proz. Aufschwemmung mit fallenden Saponinmengen im gleichen Flüssigkeitsvolum zusammengebracht. Im übrigen war die Versuchsanordnung vollkommen entsprechend der in den voraufgehenden Versuchen. Beispiele

für die wiederum völlig eindeutigen Resultate sind in den folgenden Tabellen gegeben.

28. XII. Meerschweinchen K 12 und K 13 mit Hammelserum präpariert.
Reinjektion mit 0,5 Hammelserum.

Lösung d. Saponins 1 : 20 000	NaCl-Lös.	5 % Blutauf- schwem- mung	Hämolyse			
			K 12		K 13	
			vor Injektion	agonal	vor Injektion	agonal
1.0	0.0	1.0	komplett	komplett	komplett	komplett
0.9	0.1	"	"	"	"	"
0.8	0.2	"	gering	gering	gering	gering
0.7	0.3	"	ø	ø	ø	ø
0.6	0.4	"	ø	ø	ø	ø

Lösung d. Saponins 1 : 20 000	NaCl-Lös.	5 % Blutauf- schwem- mung	Anaphylatoxin-Tier K 122		Ersticktes Tier K 123	
			vor Injektion	agonal	vor Injektion	agonal
			1.0	0.0	1.0	komplett
0.9	0.1	"	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
0.8	0.2	"	"	"	"	"
0.7	0.3	"	"	"	"	"
0.6	0.4	"	"	"	inkomplett	inkomplett
0.5	0.5	"	inkomplett	inkomplett	dgl.	dgl.
0.4	0.6	"	Spur	Spur	Spur	Spur
0.3	0.7	"	ø	ø	ø	ø
0.2	0.8	"	ø	ø	ø	ø

Aus dieser Tabelle ergibt es sich, daß die im anaphylaktischen Shock entnommenen Blutkörperchen gegenüber Saponin keine Resistenzverminderung zeigen. Die Saponinhämolyse beruht bekanntlich nach den Untersuchungen von Meyer und Ransom auf einer Vereinigung des Saponins mit dem Cholestearin der Blutkörperchen. Unsere Versuche zeigen also, daß diese Substanz der roten Blutkörperchen durch das anaphylaktische Gift nicht beeinflußt wird.

Zusammenfassung.

Die Rotfärbung des Serums aus dem im anaphylaktischen Shock und auf der Höhe der Anaphylatoxinvergiftung entnommenen Blut ist durch eine Schädigung der roten Blutkörperchen bedingt. Diese läßt sich gegenüber hypotonischen Kochsalzlösungen, nicht aber gegenüber Saponin nachweisen. Daraus kann man schließen, daß das Cholestearin der Blutkörperchen durch das anaphylaktische Gift nicht beeinflußt wird.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVII, No. 6.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

XXXVI. Mitteilung.

Die Lungenblähung bei der Anaphylatoxinvergiftung und bei einigen ähnlich wirkenden Giften.

Von T. Kumagai aus Tokio.

Mit 1 Tafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Februar 1913.)

Das auffallendste Merkmal bei der Obduktion von Meerschweinchen, die an irgendeiner Form der anaphylaktischen Vergiftung eingegangen sind, ist die Starre der Lunge. Gay und Southard¹⁾ waren die ersten, die diesen charakteristischen Befund beschrieben haben. Näher ist das Phänomen dann von Auer und Lewis²⁾ studiert worden, deren Resultate von Biedl und Kraus bestätigt worden sind. Heute wird die Konstanz des Vorkommens der Lungenblähung beim akuten anaphylaktischen Tod des Meerschweinchens einstimmig anerkannt. Von Biedl und Kraus³⁾ wurde das Symptom als spezifisches pathognomonisches Merkmal angesehen, jedoch zu Unrecht. Man hat nämlich, wie eine Reihe von Autoren gezeigt haben (Doerr, Friedberger, Raubitschek usw.), durch intravenöse Injektion der verschiedensten akut tötenden Substanzen von Ricin, Saponin, Oelsäure, Blausäure, Solanin, Hirudin usw. dieselbe Starre und Blähung der Lunge hervorrufen können.

1) Journ. Med. Research, Vol. 19, p. 17.

2) Journ. of the Amer. Assoc., 1909; the Journ. of exper. Med., Vol. 12, 1900.

3) Verhandl. der Mikrobiol. Vereinigung, 1910. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 47, Beih. p. 93; diese Zeitschr.. Bd. 7.

Nach neueren Versuchen von Gröber im hiesigen Institut kann die Lungenblähung auch durch intravenöse Injektion von Morphinum, Codein, Strophanthin und Cocain erzeugt werden. Es ist aber selbstverständlich, daß diese Vergiftungen mit der Anaphylaxie keinen unmittelbaren Zusammenhang haben. Noch viel weniger gilt das für Versuche in denen durch rein mechanische Momente, Eindrücken des Nasenbeines, Schlag der Tiere auf das Schädeldach, eine Lungenblähung erzielt wurde (Friedberger und Groeber). Ferner hat H. Pfeiffer¹⁾ bereits gegenüber den ersten Arbeiten von Biedl und Kraus darauf hingewiesen, daß bei subakutem Tod an Anaphylaxie die Lungenblähung regelmäßig fehlt. Das Charakteristische ist bei der Anaphylaxie wie bei vielen Krankheiten und Vergiftungen nicht der Symptomkomplex allein, sondern dieser in Verbindung mit seiner Aetiologie. Aber immerhin ist dieser Sektionsbefund bei durch Anaphylaxie akut gestorbenen Meerschweinchen die auffallendste Erscheinung. Die Lungen sind dabei so erweitert, daß sie sich dicht an die innere Brustwand anschmiegen.

Biedl und Kraus²⁾ präzisierten diesen Befund näher und behaupten, die Lunge eines an Anaphylaxie zugrunde gegangenen Meerschweinchens sei von der eines auf sonstige Weise akut gestorbenen Tieres, speziell durch Anaphylatoxin und primär giftiges Antiserum vergifteten, makroskopisch und mikroskopisch leicht zu unterscheiden. Die anaphylaktische Lunge ist nach den Autoren aufgeblasen, kollabiert nicht nach Eröffnung des Thorax, ist dabei blutarm und blaß. Histologisch erweisen sich die Alveolen maximal erweitert, die Lumina der größeren und kleineren Bronchien stark verengt, die Schleimhaut der Bronchien in Falten gelegt, die Kapillaren nicht besonders blutreich. Bei der passiven homologen und heterologen Anaphylaxie zeigen sich die gleichen klinischen und anatomischen Veränderungen am Respirationsapparat der Meerschweinchen wie bei der aktiven. Das Wittepepton soll ebenfalls ganz dieselben klinischen und anatomischen Erscheinungen hervorrufen.

1) Das Problem der Eiweißüberempfindlichkeit, Jena 1910; diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, p. 133.

2) l. c.

Auch die Lungen der durch Rinderserum und Anaphylatoxin Friedbergers zugrunde gegangenen Tiere sind vergrößert. Doch soll der Unterschied der Lunge gegenüber einer anaphylaktischen ein auffälliger sein. Die ungleichmäßig geblähte Lunge soll hier fleckig rot, hyperämisch sein und mehr oder weniger ausgesprochenes Lungenödem zeigen. Bei der mikroskopischen Untersuchung sollen diese Differenzen noch genauer sich feststellen lassen.

Im schroffen Gegensatz zu diesen Angaben stehen die Befunde von Friedberger selbst, die von allen übrigen Autoren, die in dieser Richtung Untersuchungen angestellt haben, mit einer einzigen Ausnahme (Karsner) bestätigt worden sind. Ich erwähne nur Graetz¹⁾, Neufeld und Dold²⁾, Moreschi und Cesa-Bianchi, Sachs und Ritz³⁾ u. a.

Karsner⁴⁾ allein hat die Angaben von Biedl und Kraus insoweit bestätigt, als er bestimmte anatomische Differenzen zwischen Anaphylaxie und Peptonvergiftung einerseits und giftiger Wirkung von Normal- und Antiseris andererseits beobachtete; mit Anaphylatoxin hat er überhaupt keine Versuche angestellt. Eine wesentliche Bedeutung kann diesen Versuchen nicht beigemessen werden, da es aus Protokollen nicht ersichtlich ist, ob die für Vergleichsversuche notwendigen Forderungen bezüglich eines gleichen Volumens und einer gleichen Injektionsflüssigkeit erfüllt waren.

Schon Friedberger⁵⁾ hat auf die völlige Identität der Symptome bei Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung hingewiesen und hervorgehoben, daß unter diesen Umständen auch der gleiche anatomische Befund zu erwarten sei.

Er hat das auch in seinen Versuchen bestätigt gefunden und auf Grund von daraufhin angestellten besonderen Experimenten zur Erklärung der abweichenden Befunde von Biedl und Kraus angenommen, daß diese Autoren nicht-identische Versuchsbedingungen für die einzelnen Formen der

1) Diese Zeitschr., Bd. 8, p. 740.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1911, p. 55.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 23.

4) Diese Zeitschr., Bd. 14, p. 81.

5) Diese Zeitschr., Bd. 7, p. 152; Bd. 8, p. 257; Bd. 9, p. 236.

anaphylaktischen Vergiftung gewählt hätten, eine Ansicht, der sich auch Neufeld, Sachs und Ritz u. a. angeschlossen haben.

Um nun die Frage nicht nur für Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung, sondern auch für eine Reihe von anderen Vergiftungen, bei denen es zu einem Volumen pulmonum auctum kommt, möglichst zu entscheiden, habe ich systematisch eine große Anzahl von Lungen untersucht, die in unserem Institut bei Anaphylaxie, Anaphylatoxinvergiftung, primärem Antiserumtod, Tod durch Injektion größerer Dosen von artfremdem Eiweiß beim Normaltier und durch gewisse akut wirkende chemische Substanzen gewonnen wurden.

Ein großer Teil des Materials wurde mir zu meinen Untersuchungen von meinen Herren Kollegen am Institut freundlichst überlassen; ich möchte ihnen hierfür meinen verbindlichsten Dank auch an dieser Stelle aussprechen.

Technik: Gleich nach dem Tode der Meerschweinchen wird ihnen die Trachea unterbunden. Dann wird die Brusthöhle geöffnet, die Trachea oberhalb der Unterbindungsstelle durchschnitten und mit Lungen und Herz als Ganzes herausgenommen. Die eine Lunge wird am Hilus unterbunden, die andere Hälfte abgetrennt und diese einige Minuten in kochendes Wasser gebracht, um eventuell vorhandenes intraalveoläres Oedem zu fixieren. Darauf wird sie in absoluten Alkohol eingelegt, die nicht gekochte Hälfte kommt in 10-proz. Formalinlösung. Nach vollendeter Härtung wurde in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die 6–10 Mikra dicken Schnitte wurden mit Eisenhämatoxylin allein oder Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

Im folgenden wollen wir alle untersuchten Lungen (es handelt sich um über 100 Fälle) in verschiedene Gruppen einteilen und die Resultate innerhalb der einzelnen Gruppen kurz darstellen.

Aktive Anaphylaxie. Akut tödliche Dosis in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung intravenös gegeben.

Diese Gruppe umfaßt die sämtlichen Fälle der Meerschweinchen, die an der typischen aktiven Serumanaphylaxie zugrunde gegangen sind. Untersucht wurden im ganzen 33 Fälle. Das Volumen der Reinjektionsflüssigkeit war immer konstant gewählt, es betrug 1 ccm. In den meisten Fällen ist die einfach tödliche Dosis bekannt. In einigen Fällen

konnte sie wegen der Versuchsanordnungen nicht ermittelt werden.

Wir bringen auf p. 612—615 zunächst eine Uebersichtstabelle.

Beim Oeffnen des Brustkorbes fällt die starke Ausdehnung der Lungen auf, die fast das ganze Herz mit Ausnahme eines kleinen Teiles der Vorderflächen überlagern. Ihre Farbe ist bald stark rötlich, bald rosa, bald ganz blaß. Schneidet man das meist noch schlagende Herz an, so fließt dunkles ungeronnenes Blut heraus.

Betrachtet man die gefärbten Lungenschnitte unter dem Mikroskop, so sind die Alveolen ad maximum erweitert, die Alveolarscheidewände zum Teil zerrissen und mehrere Alveolen sind zu einer Blase verschmolzen. Bei genauer Betrachtung sieht man ohne Ausnahme Blutungen meist stecknadelkopfgroß oder darunter. Sie gehen meist von Kapillaren aus. Die Bronchien sind in der überwiegenden Mehrzahl sehr eng, die Mucosa ist in Falten gelegt. Im Lumen der Bronchien findet man zuweilen Exsudatmasse, die seröser Natur ist und sehr wenig Formelemente enthält. Diese Faltenbildung fehlte in einigen typischen Fällen, andererseits sah ich sie in der Lunge eines Meerschweinchens, welches zur Kontrolle durch Unterbindung der Trachea erstickt worden war. An dieser Lunge war keine Spur von Emphysem, trotzdem fand sich eine starke Faltung und Kontraktion der Bronchien vor. Die Frage, ob die Kontraktion der Mucosa primär ist oder nachträglich entstanden, lasse ich dahingestellt sein.

Was die Blutgefäße und ihre Füllung betrifft, so sind die Kapillaren in der Regel blutleer — vielleicht durch Kompression der aufgeblähten Alveolen. Die Füllung der mittleren und größeren Blutgefäße ist sehr verschieden. Bald sind sie strotzend gefüllt, bald ganz blutleer. Das Vorkommen von Oedem, welches von Biedl und Kraus¹⁾ bei aktiver Anaphylaxie gelegnet wird, war in 6 Fällen (18,1 Proz.) unter 33 untersuchten Lungen zu konstatieren, in den übrigen 27 Fällen war keine Spur von

1) l. c.

Aktive Anaphylaxie. Akut tödliche Dosis in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Sekt. No.	Tier No.	Art der Vergiftung	Dosis Tödliche	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	M 145	Präp. mit 0,02 H.-S. ¹⁾ am 22. Tage Reinj. 0,036.	2-fach	Sof. Krämpfe, Sprünge, in 4' tot.	(-) (+)	—	Alveolen weit, große Blutgefäße gefüllt, spärliche Hämorrhagien, kein Oedem, Bronchien nicht eng, Mucosa glatt, Kapillaren blutleer.
2	M 159	Präp. mit 0,02 H.-S., am 22. Tage Reinj. 0,05.	—	Sof. Krämpfe, Sprünge, in 2' tot.	(-) (+)	Lunge stark aufgebläht, hyperämisch, rot, überall mit stechnadelkopfgroßen Hämorrhag. besetzt, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen stellenweise sehr erweitert, Gefäße mäßig gefüllt, Bronchien eng, Blutung mäßig vorhanden, Mucosa sehr gefaltet, ganz geringfügiges perivaskulär. Oedem.
3	M 153	Präp. mit 0,02 H.-S., am 22. Tage Reinj. 0,017.	1-fach	Sof. Krämpfe, Sprünge, in 5' tot.	(+)	—	Alveolen stellenweise sehr erweitert, stellenweise sehr starke Hämorrhagien, Gefäße gefüllt, Bronchien eng, Mucosa glatt, kein Oedem.
4	M 149	Präp. mit 0,02 H.-S., Reinj. 0,24 langsam, 1 Stunde in 40' am 23. Tage.	—	Langsam injiziert.	(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, kein Oedem, Hämorrhagien spärlich.	Alveolen erweitert, leichtes Oedem, hie u. da Blutung, Bronch. verengt, Mucosa gefaltet.
5	123	Präp. mit 0,02 R.-S. ²⁾ am 15. Tage Reinj. 0,03.	1,2-fach	3' Krämpfe, Sprünge, Seitenlage, reflexlos, 4' tot.	(+)	Lunge aufgebläht, blaß, punktförmige Blutung, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Mäßig erweiterte Alveolen, ein Teil atelektatisch, Gefäße nicht injiziert, hie u. da kl. Blutmenge, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet, kein Oedem.
6	118	Präp. mit 0,02 R.-S., am 15. Tage Reinj. 0,025.	1,4-fach	2' Krämpfe, Seitenlage, 3' agonale Krämpfe, reflexlos, 4' tot.	(-)	Lunge mäßig aufgebläht, rosarot, geringe Blutung, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Gefäße mäßig gefüllt, Kapillaren leer, Alveolen mäßig weit, stellenw. diffuse Blutung, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, kein Oedem.
7	115	Präp. mit 0,02 R.-S., am 15. Tage Reinj. 0,023 R.-S. mit Trepanation.	1-fach	2 ¹ / ₂ ' Krämpfe, Seitenlage, 3' Harnabgang, 7' tot.	(-)	Lunge stark aufgebläht, rosarot, punktförm. Blutungen, Herz schlägt, kein Oedem.	Alveolen sehr erweitert, Blutung spärlich, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, Blutfüllung mäßig, kein Oedem.

8	M 120	Präp. mit 0,02 H.-S., am 43. Tage Reinj. 0,04.	—	Soi. Krämpfe, Sprunge, in einigen Min. tot.	(—)	—	Alveolen sehr weit, nie u. da spärlich. Blutung, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet, Gefäße blutarm, Kapillar. auch leer, kein Oedem.
9	123	Präp. mit 0,02 R.-S., am 15. Tage Reinj. 0,015.	Grenz-dosis	4' Krämpfe, Taumeln, Seitenl., schwere Dyspnoë, 8' agonale Atmung, reflexlos.	(—)	Lunge stark aufgebläht, hyperämisch, rot, mäßige Hämorrhag., Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Diffuse Blutung, Alveolen mäßig weit, teils nicht weit, Gefäße stark gefüllt, geringes Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
10	128	Präp. mit 0,02 R.-S., am 15. Tage Reinj. mit 0,05 R.-S. mit Trepanation.	1-fach	2' Krämpfe, 4' sehr heftige Krämpfe, Seitenlage, 7' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, blaß, spärliche Blutung, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen mäßig erweitert, Blutgefäße mittelmäßig gefüllt, spärlich. Blutungsherde hier und da, kein Oedem, Bronchien verengt, Mucosa gefaltet.
11	118	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. am 15. Tage 0,026.	1-fach	2' akute Krämpfe, Seitenlage, 3' agonale Krämpfe, reflexlos, 4' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, blaß, spärliche Blutungsherde, kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig.	Gefäße mäßig gef., stellenweise diffus. Blut., Bronchien eng, Alveolen mäßig weit, kein Oedem, Mucosa gefaltet.
12	122	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. mit Trepanation am 15. Tage 0,03.	1-fach	2' akute Krämpfe, Seitenlage, 5' reflexlos, 7' tot.	(—)	Lunge blaß, stark aufgebläht, rot, Herz schlägt, Blut nicht geronnen, spärliche Blut., kein Oedem.	Alveolen stellenweise erweitert, stellenweise nicht, spärlich. Blutung, Gefäße blutarm, kein Oedem, Bronchien eng, Muc. gefalt.
13	126	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. mit Trepanation am 15. Tage 0,03.	1-fach	3' Krämpfe, 5' erneute Krämpfe, schwere Dyspnoë, reflexlos, 8' tot.	(—)	Lunge nur wenig aufgebläht, rot, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen nur an wenigen Stellen erweitert, meist kollabiert, Gefäße nicht gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, spärliche Blutung, kein Oedem.
14	108	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. mit Durchschneidung beider Vagi 0,035.	1,4-fach	3' Dyspnoë, 6' Krämpfe, Seitenlage, bald wieder aufgerichtet, 8' neue Krämpfe, Seitenlage, 28' tot.	(—)	Lunge fast nicht aufgebl., rosarot, spärlich. Blutungsherde, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen meist nicht erw., an vielen Stell. gar nicht lufthaltig, Blutung mäßig, hier u. da zerstreut, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
15	130	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. am 15. Tage 0,03.	1,2-fach	3' Krämpfe, 5' reflexlos, tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, mäßig rot, hier und da Blutung, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alv. mäßig erweitet., Gefäße gefüllt, aber Kapill. wenig gefüllt, kein Oedem, hier u. da Blut., Mucosa gefaltet, Bronchien eng.

1) H.-S. = Hammelserum.

2) R.-S. = Rinderserum.

Sekt. No.	Tier No.	Art der Vergiftung	Tödliche Dosis	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
16	112	Präp. mit 0,02 R.-S. ¹⁾ , Reinj. am 15. Tage 0,015.	Grenzdosis	4' Krämpfe, taumelnd, Seitenlage, schwere Dyspnoë, 8' agonal, reflexlos, tot.	(—)	Lunge nur wenig aufgebläht, rosarot, spärliche Blutungsherde.	Alveolen nur stellenweise mäßig erweitert, stellenweise gar nicht Blutung, hier u. da, Gefäße gefüllt, Bronch. eng, Mucosa gefaltet, kein Oedem.
17	105	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. am 15. Tage 0,03.	1-fach	1' Dyspnoë, Krämpfe, Urinabgang, 3' schwere Dysp., neue Krämpfe, Seitenlage, 5' agonale Atmung, 10' tot.	(—)	Lunge nicht viel aufgebläht, rot.	Alveolen nur am peripher. Teil erweitert, sonst normal, perivaskulär. Oedem, mäßige Blutung, Bronch. eng, Mucosa gefaltet.
18	116	Präp. mit 0,02 R.-S., Reinj. mit Trepantation 0,025.	1-fach	3' Krämpfe, Seitenlage, 4' ruhig, 13' agonal.	(—)	Lunge nicht erweitert, rot, spärliche Blutungsherde, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen nicht erweitert, gering. perivaskuläres Oedem, Blutung hier u. da, Gefäße gefüllt, Bronch. eng, Mucosa gefaltet.
19	K 31	Präp. mit 0,02 H.-S. ²⁾ , Reinj. am 15. Tage 0,03.	—	1' Krämpfe, Sprünge, 3' reflexlos, tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, rot, hyperämisch, mäßige Hämorrhag., Herz schlägt, Blut geronnen	Alveolen erweitert, Blutung stark, Gef. gefüllt, kein Oedem, Bronchien verengt, Mucosa gefaltet.
20	J 155	Präp. mit 0,02 H.-S., Reinj. am 14. Tage 0,06.	—	Typische Symptome d. akuten Anaphylaxie, in 3' tot.	(—)	Lge. aufgebläht, sehr spärliche Blutungsherde, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen weit, Gef. gefüllt, sehr spärlich. Blutungsherde, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
21	J 175	Präp. mit 0,02 H.-S., Reinj. am 14. Tage 0,05.	—	Typische Symptome d. akut. Anaphylaxie, in 3' tot.	(—)	Lunge aufgebläht, blaß, spärliche Petechien, Blut flüssig, Herz schlägt.	Alveolen weit, Gef. mäßig gefüllt, sehr spärliche Blutungsherde, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
22	M 210	Präp. mit 0,02 Tuberkelbacillen, am 15. Tage Reinjekt. 0,004.	—	Typische Symptome d. akuten Anaphylaxie, in 5' tot.	(—)	Lunge mäßig aufgebläht, rot, hyperämisch, starke Hämorrhagien.	Alveolen mäßig weit, geringfügig. Exsudat, ausgedehnte Blutungen, Gefäße gefüllt, Kapillaren wenig gefüllt, Bronch. eng, Muc. gefalt.
23	J 178	Präp. mit 0,02 H.-S., am 14. Tage Reinj. 0,04.	—	Typische Symptome d. akut. Anaphylaxie, in 3' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, spärliche Petechien, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen sehr weit, Blutg. sehr spärlich, Gef. nicht stark gefüllt, Bronch. sehr eng, Muc. gefalt., kein Oedem.

24	J 172	Präp. mit 0,02 H.-S., am 14. Tage Reinj. 0,05.	—	Sof. Krämpfe, Sprünge, 4' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, sehr spärliche Petechien, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveol. sehr weit, Blut, sehr gering, Gef. nicht stark gefüllt, kein Oedem, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet.
25	J 184	Präp. mit 0,02 H.-S., am 14. Tage Reinj. 0,01.	—	1' Krämpfe, Sprünge, 3' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, etwas hämorrhagisch, rot, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen mäßig weit, Gef. gefüllt, spärliche Blutung, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, kein Oedem.
26	K 29	Präp. mit 0,02 H.-S., am 14. Tage Reinj. 0,04.	1-fach	Typische Krämpfe und Sprünge, 2' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, blaß, wenig Petechien, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen mäßig weit, Gefäße gefüllt, Kapill. blutarm, spärlich Blut., stellenw. kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
27	K 110	Präp. mit 0,02 H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,1 Proz.	20-fach	1' Krämpfe, Sprünge, 2' agonal, reflexlos, 2 1/2' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, rot, starke Häorrhagien, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase prall.	Alveolen sehr weit, mäßige Hyperämie und Häorrhagien, kein Oedem, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet.
28	K 113	Präp. mit 0,01 Proz. H.-S., Reinj. am 19. Tage 0,03 Proz.	5-fach	1' Spr., 1 1/2' Krämpfe, Seitenlage, 2' agonal, reflexlos, 3' Urinabgang, 4' tot.	(—)	Lunge blaß, aufgebläht, spärliche Häorrhagien, Herzblut flüssig, Herz schlägt, Gallenblase gef.	Alveolen sehr weit, sehr spärliche Blutung, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
29	K 112	Präp. mit 0,01 Proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,01 Proz.	2-fach	1' unruhig, 1 1/2' Hüpfen, Sprünge, Krämpfe, 2' Seitenlage, 2 1/2' reflexlos, agonal, 4 1/2' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, etwas rot, hyperämisch, hier und da Petechien; r. Oberlappen ausges. Häorrhagien, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen weit, sehr spärlich Blutung, Gefäße wenig gef., kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefalt.
30	K 109	Präp. mit 0,01 Proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,005 Proz.	1-fach	1' Krämpfe, Sprünge, Seitenlage, 2 1/2' reflexlos, 3' tot.	(—)	Lunge aufgebläht, blaß, mäßige Häorrhag., kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen sehr weit, wenig Blutung, Gefäße wenig gefüllt, kein Oedem, Bronchien verengt, Mucosa gefaltet, kein Oedem.
31	K 104	Präp. mit 0,01 Proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,005 Proz.	1-fach	1' sehr unruh., Krämpfe, Sprünge, 2' Seitenlage, 5' sehr schwer krank, 6' Reflexe erloschen, tot.	(—)	Lge. stark aufgebl., etw. rot, besond. r. Oberlapp., stark hämorrhag., überall mäß. starke Häorrhag., kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüss., Gallenblase gefüllt.	Alveolen sehr weit, mäßige Blutung, kein Oedem, Bronchien verengt, Mucosa gefaltet.
32	K 116	Präp. mit 0,01 Proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,01 H.-S.	1-fach	1' etw. krank, unruhig, 2' unruhig, 3' Seitenl., 4' Wiederaufrichten, 6' wied. Seitenl., 20' tot.	(—)	Lunge nur etwas aufgebl., blaß, wenige Petechien, kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen etw. weit, mäßige Häorrhagien, kein Oedem, Bronchien eng, Muc. gefalt., Gef. gefüllt.

1) R.-S. = Rinder Serum.

2) H.-S. = Hammel Serum.

Oedem nachzuweisen. Das Oedem, welches in diesen akut-anaphylaktischen Fällen vorgefunden wurde, war meist perivaskulär beschränkt. Ausgedehnte Exsudation, die mehrere Alveolen gänzlich ausfüllt, war unter den Bedingungen dieser Versuche bezüglich Volum- und Suspensionsflüssigkeit des Reinjektionsgutes niemals beobachtet worden. Außerdem war das Oedem in einigen Fällen nur zirkumskript in einzelne Partien der Lunge vorhanden.

Bei den Meerschweinchen, die etwas langsamer zugrunde gingen, war die Lunge weniger aufgebläht. Was die Zeitdauer betrifft, innerhalb der die Lungen noch deutlich aufgebläht werden, so ist unter den untersuchten Fällen 8 Minuten etwa das Maximum. Von drei Tieren (115, 123 und 126), welche nach 8 Minuten starben, wies eines typische Aufblähung auf, während sie in 2 Fällen vermißt wurde. Bei 116 (nach 13 Minuten tot) und K 116 (nach 20 Minuten tot) fanden wir keine Spur von Lungenblähung. Im allgemeinen findet man mehr Hämorrhagien bei den langsamer gestorbenen Tieren als bei den plötzlich zugrunde gegangenen. Die Hämorrhagie geht nicht immer mit der Exsudation parallel. Zuweilen sieht man starke Blutung ohne Oedem. Unter 33 Fällen dieser Gruppe fanden sich in 7 Fällen (21 Proz.) starke bis mittelmäßige Hämorrhagien.

Vergiftung durch Anaphylatoxin.

Das Anaphylatoxin war entweder von *Prodigiosus* bacillen oder *Vibrio* Metschnikoff durch Digerieren mit frischem Meerschweinchenkomplement, 1 Oese pro 1 ccm, bereitet. Von 5 Fällen waren in 2 die Lungen ganz blaß, von sehr spärlichen Hämorrhagien durchsetzt, in den andern 3 waren sie ziemlich rot und zeigten deutliche Blutungen. Davon hatten 2 Lungen starkes resp. mittelmäßiges Oedem, während eine ganz geringfügiges Oedem aufwies. Bei einer fehlt es durchaus. Somit ersieht man, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen bezüglich Volums und Suspensionsflüssigkeit, die von den Versuchen der vorigen Reihe erheblich abweichen, das Oedem etwas häufiger und stärker auftritt als

Vergiftung durch Anaphylatoxin.

Sekt. No.	Tier No.	Art der Vergiftung	Tödl. Dosis	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	K 65	4 ccm d. akt. Meerschweinchensrum + 4 Oesen d. B. prodigiosus. 1 St. im Brutofen, 24 St. bei Zimmertemper., vom Abguß 2,5 Proz. iv.	1-fach	1' Krämpf., Sprünge, 2' Seitenlage, 3' tot.	(+) (—)	Lunge stark aufgebläht, blaß, spärlich Hämorrhagien, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Am Lungenhilus ziemlich diffuse Blutung, geringes Oedem perivaskulär. Alveolen stark erweitert. Gefäße blutarm. Mucosa gefaltet, Bronchiallumen eng.
2	K 82	Zu 4 ccm d. akt. Meerschweinchenser. 4 Oesen d. B. prodigiosus. 1 St. im Brutofen, 24 St. bei Zimmertemper., vom Abguß 2,5 Proz. iv.	1-fach	2' Krämpf., Sprünge, 3' Seitenlage, 5' agonal, 10' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, mäßige Hämorrhagie, geringes Oedem, Aussehen rot. Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen mäßig erweitert, meist mit Blut u. Oedemfl. gefüllt, Gefäße stark gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, mittelstarkes Oedem, starke Hämorrhagien.
3	K 74	Zu 4 ccm d. akt. Meerschweinchenser. 4 Oesen d. B. prodigiosus. 1 St. im Brutofen, 24 St. bei Zimmertemper., vom Abguß 2,0 Proz. iv.	1-fach	1/2' Krämpfe, Sprünge, 2' Seitenlage, tot.	(+) (—)	Stark aufgebläht, blaß, punktförmig. Blutung, Herz schlagend, Blut nicht geronnen.	Alveolen stark erweitert, hier und da Blutung, kein Oedem, Gefäße leer. Bronchien kontrahiert, Mucosa stark gefaltet.
4	K 75	Zu 4 ccm d. akt. Meerschweinchenser. 4 Oesen d. B. prodigiosus. 1 St. im Brutofen, 24 St. bei Zimmertemper., vom Abguß 2,5 Proz. iv.	1,25-fach	1/2' Krämpfe, Sprünge, 1 1/2' tot.	(+) (—)	Stark aufgebläht, blaß, punktförmig. Blutung, kein makroskop. sichtbares Oedem, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen stark erweitert, stellenweise ziemlich starke Blutung, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa sehr gefaltet, Gefäße gefüllt.
5	K 16	Normaltier 240 g. Meerschweinkompl. 4 ccm + 4 Oesen Vibrio Metschnikoff 1/10 St. im Zimmer, Abguß iv.		Sofort Zuckung, Dyspnoë, Schaum aus Mund, in 7' tot.	(+) (—)	Stark ausgedehnt, linke Lunge stark hämorrhagie, rechte Lunge blaß, ödematös, Herz schlagend, Blut nicht geronnen.	Alveolen nicht aufgebläht, Kapillaren strotzend gefüllt, größere Gefäße auch stark gefüllt, Bronchien nicht eng, Mucosa nicht gefaltet, starkes Oedem.

Aktive Anaphylaxie. Akut tödliche Dosen in größerem Volumen physiologischer Kochsalzlösung.

Skt. No.	Tier- No.	Art der Vergiftung	Tödliche Dosis	Volumen d. Injekt.	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Makroskopisches Bild der Lunge
1	K 97	Präp. mit 0,01-proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,4.	1-fach	5,0 ccm	1' Krämpfe, Urinabgang, 1 1/2' Seitelage, 2' Reflex noch vorhanden, agonal, 3 1/2' reflexlos tot.	(-)(+)	Lunge stark rot, hämorrhagisch, etwas ödematös, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase gefüllt.	Alveolen sehr weit, starke Blutung, Gefäßestrotzend gefüllt, Kapillaren mäßig, ganz geringes perivaskuläres Oedem, große Bronchien nicht verengt, teils mit Exsudatmasse vollgestopft, kleine Bronchien sehr verlegt, Mucosa stark gefaltet.
2	K 105	Präp. mit 0,01-proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,02.	4-fach	3,2 ccm	1' Hüpfen, Sprünge, Krämpfe, 1 1/2' Seitelage, 3' agonales Atmen, Reflex erloschen, 3 1/2' tot.	(-)(+)	Lunge stark aufgebläht, mäßig rot, hyperämisch, spärliche Petechien, kein sichtbares Oedem. Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase nicht gefüllt.	Alveolen weit, mäßige Hyperämie, Blutung mäßig, kein Oedem, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet.
3	K 103	Präp. mit 0,01-proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,5.	1, 2-fach	5,7 ccm	1' Hüpfen, Seitelage, Krämpfe, 3' reflexlos, 4' tot.	(-)(+)	Lunge stark aufgebl., sehr reichliche Hämorrhagien, hyperämisch, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase prall.	Alveolen stark aufgebläht, Hyperämie ziemlich stark, Blutung zerstreut und mäßig, zahlreich, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet, geringes Oedem.
4	K 107	Präp. mit 0,01-proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,03.	6-fach	3,0 ccm	1' Hüpfen, Krämpfe, 1 1/2' Seitelage, wiederholte Krämpfe, 2 1/2' Reflex erloschen, 3' tot.	(-)(+)	Lunge stark aufgebl., blaß, spärliche Petechien, Herz schlägt, Blut flüssig, kein sichtbares Oedem.	Alveolen sehr weit, sehr spärliche Blutung, Gefäße nicht gefüllt, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
5	K 108	Präp. mit 0,01-proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,01.	2-fach	3,6 ccm	1' Hüpfen, läuft unruhig herum, 6' schwer erkrankt, doch aufrecht. 1 Stunde tot.	(-)(+)	Ganz wenig aufgebl. Lunge, reichliche Hämorrhagien, gering. Oedem, Herz schlägt, Herzblut flüssig, Gallenblase prall.	Alveolen nicht weit, starke Hämorrhagien, geringes Oedem, Blutgefäße gefüllt, Alveolen teils kollabiert, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.

6	K 126 Präp. mit 0,02-proz. H.-S., am 19. Tage Reinj. 0,05.	2-fach 4,0 ccm	$1/2$ ' Krämpfe, Sprünge, 2' tot.	(-)(+)	Lunge stark aufgebläht, stark hämorrhag. ödematös, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase gefüllt.	Alveolen stark aufgebläht, Gefäße mäßig gefüllt, starkes Oedem, Alveolen teils gefüllt mit ödemat. Flüssigkeit, besonders stark perivaskulär, große Gefäße nicht stark gefüllt, diffus zerstreute Blutung, kleine Bronchien eng, Mucosa kleiner Bronchien stark gefaltet.
7	66 Präp. mit 0,02-proz. H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,1.	100-fach 4,0 ccm	$1/2$ ' Krämpfe, Sprünge, 2' Seitenlage, $2\frac{1}{2}$ ' reflexlos, 3' tot.	(-)(+)	Lunge stark aufgebläht, blaß, spärliche Blutung, kein sichtbares Oedem, Gallenblase nicht stark gefüllt, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen mäßig erweitert, Gefäße zum Teil leer, spärliche Blutung, geringes perivaskuläres Oedem, Bronchien eng, Mucosa stark gefaltet.
8	56 Präp. mit 0,02-proz. H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,001.	1-fach 4,0 ccm	$1/2$ ' Krämpfe, Sprünge, 5' Seitenlage, $6\frac{1}{2}$ ' reflexlos, 8' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, spärliche Blutung, kein Oedem, Gallenblase nicht gefüllt.	Alveolen sehr weit, alle großen Gefäße gefüllt, spärliche Blutung, stellenweise geringes perivaskuläres Oedem, Bronchien nicht verengt, Mucosa nicht gefaltet.
9	71 Präp. mit 0,02-proz. H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,01.	10-fach 4,0 ccm	1' Krämpfe, $1\frac{1}{2}$ ' Sprünge, 2' Seitenlage, $2\frac{1}{2}$ ' reflexlos, 3' tot.	(+)(-)	Stark aufgeblähte Lunge, blaß, sehr spärliche Blutung, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase leer.	Alveolen sehr weit, Gefäße gefüllt, Kapillaren blutleer, perivaskuläres Oedem mäßigen Grades, spärliche Blutung, Mucosa gefaltet, Bronchien eng.
10	41 Präp. mit 0,02-proz. H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,005.	5-fach 4,0 ccm	1' Krämpfe, $2\frac{1}{2}$ ' Seitenlage, 3' reflexlos.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, punktförmige Peritachien, kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase gefüllt.	Alveolen mäßig weit, spärliche Blutung, Gefäße fast leer, geringes perivaskuläres Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
11	127 Präp. mit 0,02-proz. H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,05.	2-fach 4,0 ccm	1' Krämpfe, 2' tot.	(+)(-)	Lunge blaß, enorm aufgebläht, kein deutliches Oedem, sehr spärliche Peritachien, Herz schlägt, Gallenblase gefüllt.	Alveolen stark aufgebläht, Gefäße gefüllt, wenige Hämorrhagien, geringes perivaskuläres Oedem, Mucosa gefaltet.

1) H.-S. = Hammelserum.

bei der akuten Serumanaphylaxie¹⁾. Ebenso ist es mit den Hämorrhagien, aber die Hämorrhagien und die Exsudation waren in keinem Fall so ausgedehnt, daß damit die Aufblähung der Lungen erklärt werden konnte. Das volumen auctum war auch in diesen Fällen dem vermehrten Luftgehalt der Lungen zuzuschreiben: Oedem und Blutungen kommen als Begleiterscheinung hinzu.

Aktive Anaphylaxie. Akut tödliche Dosis in größerem Volumen physiologischer Kochsalzlösung.

Um den Einfluß des Volumens der Injektionsflüssigkeit auf den anatomischen Befund der Lungen zu eruieren, nahmen wir nun die Reinjektion der tödlichen Eiweißmenge oder geringer Multipla nicht wie sonst in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, sondern in größerem Volumen vor. Wir wählten, um die Versuche mit denen der Anaphylatoxinvergiftung vergleichen zu können, die Menge von ca. 4 ccm, das entspricht dem Volum, das von Anaphylatoxin meist injiziert wurde. Die sonstige Versuchsanordnung war ganz dieselbe wie bei den früheren Versuchen. Schon früher hat unter diesen Bedingungen Friedberger ein häufigeres Auftreten des Oedems beobachtet. Meine eigenen Versuche führten zu einer vollkommenen Bestätigung. Ich lasse zunächst zur Uebersicht die Tabelle folgen (siehe p. 618/19).

Von 11 Fällen, bei denen die Reinjektion in größerem Volumen der physiologischen Kochsalzlösung vorgenommen wurde, waren die Lungen in 5 Fällen mehr oder minder stark gerötet, hämorrhagisch. Die anderen 6 waren ganz blaß. Das Oedem war in 2 Fällen stark ausgesprochen, in 7 Fällen geringfügig und perivaskulär beschränkt. In nur 2 Fällen wurde es gänzlich vermißt.

Hier war also das Vorkommen von Hämorrhagien und Oedem beinahe so häufig wie bei der Anaphylatoxinvergiftung. Damit fällt, wie auch Friedberger hervorgehoben hat, schon die Behauptung von

1) Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Ungleichheit des Volumens und der Suspensionsflüssigkeit eine wesentliche Rolle spielt, s. u.

Biedl und Kraus, daß zwischen beiden Vergiftungen ein prinzipieller Unterschied besteht, in sich zusammen.

Die Bronchien waren ausnahmslos stark verengt und die Mucosa gefaltet. Das Meerschweinchen K 66, welches nach 8 Minuten zugrunde ging, zeigte eine typische Lungenblähung, während am nach 1 Stunde gestorbenen Meerschweinchen K 108 keine Spur davon zu sehen war, trotzdem diese Lunge starke Hämorrhagien und Oedem aufwies. Dieser Fall zeigt, daß das Oedem und die Hämorrhagien in recht erheblichem Grade an sich allein keine merkbare Ausdehnung der Lungen hervorrufen können, jedenfalls nicht die, wie wir sie bei anaphylaktisch und durch in vitro hergestelltem Anaphylatoxin eingegangenen Tieren sehen.

Aktive Anaphylaxie. Akut tödliche Dosis in größerem Volum Normalmeerschweinchenserum.

Wir untersuchten nun weiter, wie sich die Lunge verhält, wenn man die Reinjektion nicht in größerem Volumen der physiologischen Kochsalzlösung, sondern im entsprechenden Volumen des Meerschweinchenserums vornimmt, wobei die Bedingungen noch mehr denen bei der Anaphylatoxinvergiftung entsprechen. Diese Meerschweinchen waren alle mit 0,02 Hammelserum präpariert und erhielten dasselbe Serum im aktiven oder inaktivierten Meerschweinchenserum. Hier hat gleichfalls bereits Friedberger schon stärkere Oedembildung beschrieben. Wir können das bestätigen. Das Resultat unserer Versuche sei in der folgenden Tabelle mitgeteilt.

Wie sich aus der Tabelle (p. 622) ergibt, ist das Oedem hier besonders häufig. In allen 7 Fällen war es vorhanden, und zwar in 3 Fällen mittelmäßig bis stark, in den anderen 4 Fällen war es gering. So bleibt die Häufigkeit des Vorkommens von Oedem und Blutungen hier bei aktiver Anaphylaxie gar nicht hinter den bei der Anaphylatoxinvergiftung zurück. Nur durch die abweichenden Bedingungen bezüglich Flüssigkeitsvolumen und Verdünnungsflüssigkeit des Reinjektionseiweißes bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung der aktiven Anaphylaxie läßt sich also der scheinbare Unterschied in

Aktive Anaphylaxie. Akut todtliche Dosis in größerem Volumen von Meerschweinchen serum.

Skt. No.	Tier- No.	Art der Vergiftung	Tödliche Dosis	Volumen der Injekt.	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	K128	Präp. mit 0,02 H.-S. ¹⁾ , Reinj. am 15. Tage 0,05 H.-S. in 4 cem des akt. Meerschweinchen-serums.	2-fach	4 cem	1' Krämpfe, Sprünge, 4' Reflex erloschen, 4 1/2' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, mäßige rot, punktförmige Blutung reichlich, geringes Oedem, Gallenblase gefüllt.	Alveolen mäßig erweitert, große Venen u. Arterien wenig gefüllt, zieml. starke Hämorrhagien, geringfügiges Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
2	K124	Präp. mit 0,02 H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,025 in 4 cem des akt. Meerschweinchen-serums.	1-fach	4 cem	1' Krämpfe, Sprünge, 4' Schaum aus dem Munde, 5' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, stark hämorrhagisch, ödematös, Gallenblase gefüllt.	Alveolen stark aufgebläht, große Gefäße gefüllt, starkes Oedem, womit Alveolen z. T. gefüllt sind. Oedem besond. perivaskulär, mäßige Blutung, Bronchien eng, Mucosa stark gefaltet.
3	K125	Präp. mit 0,02 H.-S., am 15. Tage Reinj. 0,05 H.-S. in 4 cem des akt. Meerschweinchen-serums.	2-fach	4 cem	1' Krämpfe, Sprünge, 2' Reflex erloschen, 3' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, reichliche Hämorrhagien, Gallenblase nicht gefüllt.	Alveolen stark aufgebläht, Gefäße gefüllt, starke Hämorrhagien, mäßiges Oedem, besonders perivaskulär, Mucosa gefaltet, Bronchien eng.
4	57	Präp. mit 0,02 H.-S., am 17. Tage Reinj. 0,1 H.-S. in 4 cem des inaktiv. Meerschweinchen-serums.	100-fach	4 cem	1/2' Krämpfe, Sprünge, 2' Seitenlage, 2 1/2' reflexlos, 3' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, stark hämorrhagisch rot, ödematös glänzend, Herz schlägt, Gallenblase klein, schlaff.	Alveolen weit, große Gefäße ziemlich stark gefüllt, Kapillaren mäßig gefüllt, diffuse Hämorrhagien, Oedem mittelstarken Grades, Mucosa gefaltet, Bronchien eng.
5	72	Präp. mit 0,02 H.-S., am 17. Tage Reinj. 0,05 H.-S. in 4 cem d. inakt. Meerschweinchen-ser.	50-fach	4 cem	1/2' Krämpfe, 1' Seitenlage, 3 1/2' reflexlos, 4' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, rot, wenige Hämorrhagien, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase gefüllt.	Alveolen sehr weit, Gefäße wenig gefüllt, spärliche Blutungen, perivaskulär. Oedem, Mucosa gefaltet.
6	65	Präp. mit 0,02 H.-S., Reinj. am 17. Tage 0,01 H.-S. in 4 cem d. inakt. Meerschweinchen-serums.	10-fach	4 cem	1' Krämpfe, 1 1/2' Seitenlage, 3' Reflex erlosch, 4' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, l. Oberlappen stark hämorrhagisch, rot, überall kleine Petechien, Gallenblase klein, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen zieml. weit, große Gefäße mäßig gefüllt, perivaskul. Oedem, Blutungsstellenweise stark, stellenweise ganz fehlend, Mucosa gefaltet.
7	58	Präp. mit 0,02 H.-S., am 17. Tage Reinj. 0,001 in 4 cem des inaktiv. Meerschweinchen-serums.	1-fach	4 cem	1/2' Krämpfe, 1' Seitenlage, 3' reflexlos, 4' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, fleckweise starke Hämorrhagien, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen mäßig weit, spärliche Blutungsherde, Gefäße fast leer, geringes perivaskul. Oedem, Mucosa gefaltet.

1) H.-S. = Hammel serum.

al6006-sn-pd#asn_s533ccce/6r0rsturjtqy/www://dttq / pzziqfip-ql6009'Gates'peitun'eq'ni'niemad'cjqfnd 06E80E9Tcn/L20Z72ev'qpuqy'puy://dttq / LMW 92:2:€2 T-1-10-6102'uo'patriarunag

dem anatomischen Bild, welcher allerdings nur gradueller Natur ist, erklären. Das Anaphylaxiegift, einerlei ob es sich bei Eiweißreinjektion im präparierten Tier bildet oder im Reagenzglas bereitet und dann injiziert wird, bedingt durch seine akute Wirkung Lungenblähung. Geringes Oedem und Hämorrhagien können sich hinzugesellen. Durch Einfluß des Flüssigkeitsvolumens und der Bestandteile des Serums können zugleich hochgradige Hämorrhagien und Exsudationen entstehen.

Vergiftung durch Witte-Pepton.

De Waele¹⁾ hat 1907 zuerst auf die Analogie des anaphylaktischen Shocks mit der Peptonvergiftung hingewiesen, Biedl und Kraus²⁾ fanden dann, daß auch beim Hund die Injektion von Witte-Pepton das gleiche Krankheitsbild bedingt wie die Reinjektion bei präparierten Tieren. Seitdem hat das Witte-Pepton in der Anaphylaxielehre eine gewisse Rolle gespielt. Am Hunde ruft es starkes Absinken des Blutdruckes, begleitet von einer peripheren Vasodilatation, hervor. H. Pfeiffer und Mita³⁾ fanden, daß das Pepton beim Meer-schweinchen Temperatursturz und lokale Nekrose bedingt. In tödlicher Dosis intravenös injiziert, bewirkt es eine typische Lungenblähung. De Waele hat schon die Antianaphylaxie mit der merkwürdigen „Immunität“ verglichen, die mit Pepton in untertödlichen Dosen behandelte Tiere gegenüber einer Reinjektion von Pepton zeigen. Biedl und Kraus glaubten, daß Antianaphylaxie Schutz gegen Pepton verleihe und Peptonimmunität gegenüber Eiweißinjektion unempfindlich mache. Wie Friedberger, Kumagai und Odaira⁴⁾ nachgewiesen haben, trifft das nicht zu. Aber auch wenn das Pepton mit dem Anaphylaxiegift nicht identisch ist, schien es uns doch von Interesse, die anatomischen Bilder bei der Vergiftung

1) Bulletin de l'Academie royale de Belgique, 1907; zit. nach Doerr in Kolle-Wassermann, Bd. 2, p. 1053.

2) Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11.

3) Diese Zeitschr., Bd. 4, p. 439.

4) Ibid., Bd. 14, 1912, Heft 4.

Vergiftung durch Pepton Witte.

Skt. No.	Tier No.	Art d. Vergiftung (Normale Meer-schweinechen)	Tödl. Dosis	Volum. ccm	Verlauf der Vergiftung	Obere Koccht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	J 171	0,075 Proz. Witte-Pepton in 10-proz. Lösung iv. injiziert, ohne Vorbehandlung	1-fach	1,5	1' Krämpfe, Sprünge, 2' Seitenlage, 5' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, hämorrhagisch ödematös, Herz schlägt, Blut nicht geronnen; Gallenblase nicht gefüllt.	Alveolen mäßig weit, Gefäße ziemlich gefüllt, stellenw. starke ausgedehnte Hämorrhagien; Bronchien eng, Mucosa gefaltet. Kein Oedem.
2	J 173	0,1 Proz. Witte-Pepton in 10-proz. Lösung iv. injiziert.	1,3-fach	2,0	1' Krämpfe, Sprünge, 2' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, Petechien hier und da, kein Oedem, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen sehr stark erweitert, mäßige Blutung, geringes perivaskuläres Oedem, Gefäße nicht besonders gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
3	A 105	0,1 Proz. Witte-Pepton in 10-proz. Lösung iv. injiziert.	1,3-fach	2,0	Sofort Krämpfe, Sprünge, 1' Seitenlage, 2' tot.	(—)	Lunge aufgebläht, etwas ödematös, mäßige Hämorrh., Herz schlägt, Herzblut flüssig, Gallenblase gefüllt.	Alveolen ziemlich weit, Gefäße gefüllt, Blutung mäßig stark, starkes Oedem, Bronchien nicht eng, Mucosa nicht gefaltet.
4	J 180	0,125 Proz. Witte-Pepton in 10-proz. Lösung iv. injiziert.	1,6-fach	2,5	1' Sprünge, Krämpfe, 2' Seitenlage, 3' reflexlos, tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, blaß, hier und da Petechien, kein Oedem, Herz schlägt, Herzblut flüssig, Gallenbl. gefüllt.	Alveolen sehr stark erweitert, spär. Blutung, kein Oedem, Gefäße nicht besonders gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, Kapillaren fast blutleer.
5	F 107	0,125 Proz. Witte-Pepton in 10-proz. Lösung iv. injiziert	1,6-fach	2,6	1/2' Krämpfe, Sprünge, 3' Reflexe erloschen, 5' tot.	(—)	Lunge aufgebläht, ziemlich viele Blutungen, rot. Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen nicht sehr weit, zieml. starke Blutung, geringes perivaskuläres Oedem, Gefäße gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
6	K 94	0,15 Proz. Witte-Pept. in 10-proz. Lösung iv. injiz.,	2,0-fach	3,0	Sofort Krämpfe, Sprünge, 1' Seitenlage, 2' tot.	(—)	Lunge aufgebläht, blaß, spärliche Petechien, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen sehr stark ausgedehnt, spär. Blutung, kein Oedem, Gefäße nicht besonders gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.

7	F 104	0,1 Proz. Witte- Pepton in 10- proz. Lösung iv. injiziert.	1,3-fach	2,0	Sofort Krämpfe, Sprünge, 2' Seiten- lage, agonal, tot.	(-)	Lunge stark aufgebläht, rot, ausgedehnte Blutung, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen ziemlich weit, kolossale Blutung u. Hyperämie, mäßi- ges rein perivaskuläres Oedem, Bronchien nicht sehr eng, Mucosa glatt.
8	K 21	0,125 Proz. Witte- Pepton in 10- proz. Lösung iv.	1,6-fach	2,5	1' Krämpfe, Sprünge, 2' Seitenlage, 4' agonal, Reflexe er- loschen.	(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, hier und da Petechien, kein Oedem sichtbar, Herz schlägt, Herzblut flüssig, Gallenblase nicht gefüllt.	Alveolen sehr weit, Blutung sehr spärlich, Gefäße nicht stark gefüllt, kein Oedem, Bron- chien sehr eng, Mucosa gefaltet.
9	K 108	0,125 Proz. Witte- Pepton in 10- proz. Lösung iv.	1,6-fach	2,5	Sofort Krämpfe, Sprünge, 4' agonal, 5' tot.	(-)	Lunge stark aufgebläht, spär- l. Hämorragien, im ganz. blaß, Herz schlägt, Herzblut nicht geronnen.	Alveolen überall erweitert, kein Oedem, Blutung spärlich, Ge- fäße nicht so injiziert, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet, Ka- pillaren blutleer.
10	J 154	0,2 Proz. Witte- Pepton in 10- proz. Lösung iv.	2,6-fach	4,0	Sofort Seitenlage, agonal, 2' reflexlos, tot.	(-)	Lunge leichtgradig aufgebläht, mäßig hämorrhagisch, Herz schlägt, Herzblut nicht geronnen.	Alveolen weit, mäßige Blutung, geringes perivaskuläres Oedem, Gefäße mäßig gefüllt, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet.
11	J 38	0,175 Proz. Witte- Pepton in 10- proz. Lösung iv. injiziert, ohne	2,3-fach	3,5	Sofort Seitenlage, Krämpfe, 3' tot.	(-)	Lunge mäßig aufgebläht, starke Hämorragien, ödematös; Herz schlägt, Herzblut nicht geronnen.	Alveolen weit, ausgedehnte Blu- tung u. Hyperämie, mäßiges Oedem, Gefäße, auch Kapil- laren stark gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
12	O 142	0,05 Proz. Witte- Pepton in 10- proz. Lösung iv. injiziert.	1-fach	1,0	Sofort Sprünge, Krämpfe, 3' tot.	(-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, geringe punktförm. Blutung, Herz schlagend, Blut nicht geronnen.	Alveolen sehr weit, Gefäße sehr wenig gefüllt, hier und da ge- ringfügige Blutung, kein Oedem, Bronchien stark kon- trahiert, Mucosa sehr gefaltet.

1) Proz. = pro 100 g Tier.

durch das Witte-Pepton mit denen bei der Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung zu vergleichen.

Wir lösten Witte-Pepton zu 10 Proz. in physiologischer Kochsalzlösung auf. Dann wurde gekocht und filtriert. Von dem Filtrat injizierten wir dem Meerschweinchen 1,5—4 ccm. 1,5 ccm, also 0,075 g Pepton pro 100 g Tier, war die einfache tödliche Dosis. (Siehe Tabelle p. 624/25.)

Der Symptomenkomplex bei der Vergiftung normaler Tiere mit Pepton war nicht vom dem bei der Anaphylaxie zu unterscheiden. In 5 unter 11 Fällen waren die Lungen ganz rot hämorrhagisch. Oedem fand sich in 6 Fällen, in 2 stark ausgesprochen. In den übrigen 5 Fällen wurde es vermißt. Der Angabe von Karsner, daß die Blutung mikroskopisch nicht nachzuweisen sei, kann ich nicht zustimmen. Bei genauer Betrachtung fehlte sie in in keinem Falle. Man sieht das Oedem bei der Peptonvergiftung weit häufiger als bei der akuten Anaphylaxie (Reinjektion von 1 ccm Volumen), aber weniger häufig als bei der Vergiftung durch das Anaphylatoxin, so daß die Peptonvergiftung zwischen der akuten Anaphylaxie und der Anaphylatoxinvergiftung steht. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, daß Anaphylaxie und Peptonvergiftung bei Injektion von 1 ccm Volumen mit der Anaphylatoxinvergiftung bei Einspritzung von erheblich größerem Volumen verglichen sind. Dadurch dürften die scheinbaren geringen Differenzen zwischen Peptonvergiftung und Anaphylatoxinvergiftung sich erklären. Die größere Häufigkeit des Oedems bei der letzteren ist eben allein auf das vermehrte Flüssigkeitsvolumen und die Art der Flüssigkeit zurückzuführen.

Vergiftung durch verschiedene Seren.

Diese Gruppe umfaßt die Fälle der Vergiftungen durch artfremde Normalsera und das primär giftige Antiserum. Doerr¹⁾ hat darauf hingewiesen, daß die Symptome bei der Vergiftung normaler Meerschweinchen durch artfremdes Serum,

1) Diese Zeitschr., Bd. 7, p. 223.

Vergiftung durch verschiedene Seren.

Skt. No.	Tier No.	Art der Vergiftung (Norm. Meerschw.)	Tödl. Dosis	Vol. d. Ser. ccm	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	M 63	2,0 ccm Rinderserum intravenös (3 Tage im Frigo aufbewahrtes Serum).	1-fach	2,0	Sofort Krämpfe, Sprünge, 2' auf d. Seite liegend, Krämpfe, Urinabgang, 5' tot.	(+) (-)	Lunge mäßig aufgebläht, hyperämisch, überall mit stechnadelkopfgroßen Hämorrhagien durchsetzt, Herzblut flüssig.	Gefäße gefüllt, Alveolen stellenweise sehr weit, stellenweise kollabiert, kein Oedem, hier und da Blutung, Mucosa nicht gefaltet, Bronchien nicht eng.
2	M 67	2,8 ccm Rinderserum intravenös (3 Tage im Frigo aufbewahrtes Serum).	1,4-fach	2,8	Sofort Krämpfe, 1' Seitenlage, schwere Dyspn., 10' tot.	(-)	Lunge aufgebläht, hier und da hämorrhagische Stellen, im ganzen blaß, kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig.	Gefäße gefüllt, mäß. Erweiterung der Alveolen, hier und da Blutung, kein Oedem, Mucosa gefaltet.
3	G 8	1 ccm frisches Rinderserum intraven., 0,17 ccm pro kg.		1,0	Sofort Krämpfe, Sprünge, nach 5' tot.	(-)	Lunge ziemlich aufgebläht, stark ödematös und hämorrhag., Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen stellenweise erweitert, stellenweise nicht, Gefäße stark gefüllt, Kapillaren auch stark gefüllt, starke Blutung und Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
4	J 129	1,5 ccm akt. Kaninchen serums intravenös injiziert.	1-fach	1,5	Sofort Krämpfe, Sprünge, nach 2' tot.	(+) (-)	Lunge stark aufgebläht, blaß, punktförmige Blutungsherde spärlich, kein Oedem, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen stark erweitert, nur vereinzelte spärliche Blutungsherde, Gefäße blutarm, ganz geringes perivaskuläres Oedem.
5	J 66	1,9 ccm akt. Kaninchen serums intravenös eingespritzt.	1-fach	1,9	Sofort typische Krämpfe, nach 2 1/2' tot.	(+) (-)	Lunge stark aufgebläht, ganz blaß, sehr spärliche kleine Blutung, Herz schlägt, Blut nicht geronnen, Gallenblase nicht gefüllt.	Lungenalveolen stark aufgebläht, Gefäße wenig gefüllt, Blutung sehr spärlich, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, kein Oedem.
6	K 63	Hammel-Kaninchen Antiserum 1,2 ccm intravenös injiziert.	1-fach	1,2	Sofort Krämpfe, Sprünge, nach 1' Seitenlage, nach 2' tot.	(+) (-)	Lunge stark aufgebläht, rot, hier und da Petechien, Herz schlägt, Herzblut nicht geronnen.	Am Lungenhilus ziemlich starke diffuse Blutung, mäßiges Oedem, Alveol. stark erweitert, teils mit Blut, teils mit Oedem gefüllt. Bronchiallumen eng, Mucosa gefaltet, große Gefäße und Kapillaren gefüllt.

sowohl die allgemeinen wie die lokalen, dieselben sind wie die der Anaphylaxie. Nach Friedberger und Doerr ist der Obduktionsbefund identisch mit dem bei spezifischer Anaphylaxie. Friedberger hat daraus gefolgert, daß auch die Vergiftung normaler Tiere durch das Serum ein anaphylaktischer Prozeß sei; durch die Präparierung erfolgt eine spezifische Steigerung, wie wir das bei allen Immunitätsreaktionen kennen. Der Quotient zwischen Empfindlichkeit des normalen Tieres und des präparierten bezeichnen Friedberger und Mita als anaphylaktischen Index. Biedl und Kraus finden jedoch Differenzen in dem Obduktionsbefund. Nach diesen Autoren sind die Lungen bei der Vergiftung durch Normalserum und primärgiftiges Antiserum ungleichmäßig gebläht, fleckig rot, hyperämisch und zeigen mehr oder minder ausgesprochenes Lungenödem. Mikroskopisch soll die Differenz noch auffallender sein. Friedberger fand speziell zwischen der Lunge der durch primär giftiges Antiserum getötete Tiere und der von Tieren, die an aktiver Anaphylaxie eingegangen waren, keine Unterschiede. Grätz fand das anatomische Bild der Rinder-serumvergiftung etwas anders als das der echten Anaphylaxie, aber er behauptet, er habe bei der Untersuchung den Eindruck gewonnen, daß das Vorherrschen des einen oder des anderen der die Lungenblähungen begleitenden Symptome, wie z. B. Anämie, Hyperämie, Blutungen oder Oedem, seinen Grund in dem individuellen Verhalten einzelner Versuchstiere hat, daß es sich also nicht um prinzipielle, sondern lediglich um graduelle Differenzen in einem an sich einheitlichen Symptomenkomplex handelt. Mir standen nur 2 Fälle von Rinder-serumvergiftung zur Verfügung, bei welchen die Tiere mit 3 Tage im Frigo aufbewahrt Serum getötet waren. Die Lungen waren nicht sehr hämorrhagisch, das Oedem gering. (Siehe Tabelle p. 627.)

Die anderen 2 Fälle waren mit frischem Kaninchenserum vergiftet. Die Lungen waren ganz blaß, zeigten nur ganz geringfügige Blutung und geringes Oedem, welches letzteres nur mikroskopisch zu finden war.

Ein weiterer Fall war mit Hammel-Kaninchenantiserum intravenös vergiftet. Hier war die Lunge ziemlich hyperämisch, aber nicht mit viel Hämorrhagien versehen. Das begleitende

Oedem war nur ganz geringfügig und perivaskulär beschränkt.

Vergiftung durch organische und anorganische chemisch definierte Substanzen.

Wie die Tabelle (p. 630/31) zeigt, haben wir fünf Fälle von Vergiftung mit β -Imidazolyläthylamin (Histamin), ein Fall von Methylimidazolvergiftung, je einen Fall von Vergiftung mit Antipyrin, Chininhydrochlorid und Kaolin untersucht. Wie Barger und Dale¹⁾ festgestellt haben, ist das Vergiftungsbild durch β -Imidazolyläthylamin ganz ähnlich dem der Anaphylaxie. Auf gewisse Abweichungen haben Friedberger, Friedberger und Moreschi, Lurà sowie Schittenhelm und Weichardt aufmerksam gemacht. Was das anatomische Bild betrifft, so waren die Lungen meistens blaß, ein Fall zeigte rote Lunge, Oedem war in zwei Fällen äußerst geringfügig nachzuweisen. Das anatomische Bild entspricht ganz und gar dem der akuten Anaphylaxie. Die Vergiftung durch Methylimidazol liefert einen anderen Lungenbefund als der bei der Anaphylaxie. Hier waren keine Alveolen aufgebläht, Gefäße waren blutarm, Oedem fehlte gänzlich.

Was die Lungen der Meerschweinchen, die durch die intravenöse Injektion von Antipyrin und Chininhydrochlorid vergiftet waren, anlangt, so glichen sie denen bei der Jodvergiftung (s. unten). Sie waren kolossal ausgedehnt, rot, hämorrhagisch. Mikroskopisch waren keine lufthaltigen Hohlräume in den Lungen zu sehen. Die Alveolen waren alle mit Oedemflüssigkeit und Blut gefüllt. Hier scheint die Exsudation und Blutung die Ursache der Ausdehnung der Lungen zu sein.

Die Lungen der durch Kaolin vergifteten Tiere waren, wie schon Friedberger²⁾ gezeigt hat, ganz geschrumpft, klein. Trotzdem waren sie ziemlich hämorrhagisch und ödematös. Auch in diesen Fällen waren die Bronchien verengt, ihre Mucosa gefaltet.

1) The Journ. of Physiology, Vol. 40, p. 38.

2) Diese Zeitschr., Bd. 9, 1911, Heft 3.

Vergiftung durch organische und anorganische Substanzen bekannter chemischer Konstitution.

Skt. No.	Tier- No.	Art der Vergiftung (Norm. Meerschw.)	Tödliche Dosis	Volumen der Injekt.	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	L 170	Normaltier, 1,5 tödliche Dosis Imido = 0,0001 ccm iv. injiziert.	1,5-fach	1,5 ccm	Typische anaphylaktische Krämpfe und Sprünge, in 3' tot.	(-)(+)	Lunge stark aufgebläht, spärlich, hämorrhag. Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen mittelmäßig erweitert, Gefäße gefüllt, Kapillaren auch mäßig gefüllt, spärliche Blutung, kein Oedem, Bronchien wenig verengt, Mucosa wenig gefaltet.
2	L 136	0,0001 ccm Histamin iv. injiziert.	1-fach	1,0 ccm	Typische anaphyl. Krämpfe, Sprünge, in 3' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, spärlich. Hämmorrhagien, kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig.	Alveolen stark aufgebl., große Gefäße leer, in Kapillaren mäßig Blut, Bronchien eng, ihre Mucosa gefaltet, kein Oedem.
3	L 123	0,001 ccm Histamin iv. injiziert.	10-fach	1,0 ccm	Sofort Krämpfe, Sprünge, in 3' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, stark hämorrhag., Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen mäßig weit, meist große Gefäße mit Blut gefüllt, perivaskuläres Oedem leichten Grades, starke Hämmorrhagien, Bronchien nicht eng, Mucosa nicht gefaltet.
4	L 134	0,0001 ccm Histamin iv. injiziert.	1-fach	1,0 ccm	Sofort Krämpfe, Sprünge, in 3' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, rot, mittelmäßige Blutung, kein Oedem, Herz schlägt, Herzblut nicht geronnen.	Alveolen mäßig weit, große Gefäße gefüllt, Kapillaren wenig gefüllt, mäßige Hämmorrhagien, Oedem ganz geringfügig, perivaskulär, Bronchien eng, Mucosa kleiner Bronchien gefaltet.

5	L 125	0,00005 ccm Hista- min iv. injiziert.	$\frac{1}{3}$ -fach	1,0 ccm	Sofort Krämpfe, Sprünge, erst in 7' tot.	(+)(-)	Lunge stark aufgebläht, rot, mäßige Hämor- rhagien, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen stark aufgebläht, Ge- fäße ziemlich prall gefüllt, wenig Hämorrhagien, kein Oedem, Bronchien nicht eng, Mucosa nicht gefaltet.
6	L 126	1,4 % von Antipyrim in 7 % Lösung iv. injiziert.	10-fach	1,0 ccm	Sofort Krämpfe, Seitenlage, tot, Schaum aus dem Munde.	(+)(-)	Lunge ausgedehnt, stark ödematös, stark hyperämisch u. hämor- rhagisch.	Kolossale Blutung und Exsudation in Alveolen, nur hier und da vereinzelte lufthaltige Alveolarlumina, Bronchien teils mit Exsudat gefüllt.
7	V	0,002 g Kaolin in Kochsalzlösung su- spendiert iv. inj.	—	1,0 ccm	Sofort Krämpfe, tot.	(-)	Lunge gar nicht auf- gebläht, rot, ziemlich hämorrhagisch.	Alveolen nicht erweitert, aus- gedehntes Exsudat, Blutung reichlich, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, Gefäße gefüllt.
8	SALB	0,002 g Kaolin im Serum des Meer- schweinchens auf- geschwemmt iv.	—	1,0 ccm	Sofort Krämpfe, tot.	(-)	Lunge gar nicht auf- bläht, hier und da hämorrhag. Stellen, mäßiges Oedem, Herz- blut flüssig.	Alveolen gar nicht erweitert, ziemlich starke Blu- tung und Oedem, Ge- fäße gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
9	L 304	Methylimidazol 0,036 in 1,2 % Lö- sung iv.	1-fach	3 ccm	Sofort Zittern, etwas krank, Schwimmbewe- gung, keine Atemnot, nach 2' tot.	(-)(+)	Lunge kollabiert, rot, spär. Hämorrhagien, nicht ödematös, Herz schlägt, in Kammern kleine Gerinnsel.	Alveolen gar nicht aufgebläht, Gefäße blutarm, Bronchien sehr verengt, spärliche kleine Blutungsherde, kein Oedem.
9	J 285	Chininum muriatic. 0,02 g in 2 % Lö- sung (NaCl) iv.	—	1 ccm	Sofort ohne Krämpfe tot.	(-)	Lunge sehr ausgedehnt, rot, stark ödem a- tös, Herz schlägt nicht, Blut im Herzen und Gefäßen fast ganz geronnen.	Lunge stark ausgedehnt, stel- lenweise sehr erweiterte Al- veolen, meistens sind sie mit Oedem und Blut gefüllt, starke Blutung, Bronchien nicht eng, Mucosa glatt.

Vergiftung durch Bakterienprodukte.

Wir haben Versuche angestellt mit Alttuberkulin (von den Höchster Farbwerken) und Tetanustoxin. Die Lungen dieser Gruppe, welche typisch stark aufgebläht waren, zeigten etwas häufiger Oedem als bei der Serumanaphylaxie. Auch waren Blutung und Hämorrhagien stärker ausgeprägt. Sie entsprechen ungefähr dem Bild bei der Vergiftung durch Witte-Pepton. Man muß wohl daran denken, daß hier zu der Wirkung des Toxins noch die der anhaftenden Nährbodenbestandteile hinzukommt (Pepton etc.). (Siehe Tabelle p. 633.)

Vergiftung durch Jod und Jodeiweiß.

Die Lungen rühren von der Arbeit von Friedberger und Ito¹⁾ her, die den Einfluß der Reinjektion von Jod bei präparierten Tieren im Anschluß an die Untersuchungen von Bruck über die Jodidiosynkrasie untersuchten²⁾. Die Meer-schweinchen waren teils mit Lugollösung, teils mit Jodeiweiß vorbehandelt. Nach einer gewissen Zeit wurden sie reinjiziert mit jodiertem Eiweiß resp. Lugollösung. Hier waren die anatomischen Bilder ganz anders als bei der akuten Anaphylaxie. Die Lungen waren voll von Oedem und Blutung. Man hat hier den Eindruck, als ob die Lungen wirklich etwas durch Oedem und die Blutungen ausgedehnt werden. Diese Wirkung dürfte auf das Jod als solches zurückzuführen sein; das kolossale

1) Deutsche med. Wochenschr., 1911, p. 483 (Fußnote 2); Mikrobiologentag Dresden 1911, Sitzung vom 9. Juni; Centralbl. f. Bakt., Abt. Ref., Bd. 50, Beiheft; diese Zeitschr., Bd. 12, p. 241.

2) Später haben Schittenhelm und Ströbel gleichfalls interessante Versuche mit Jodeiweiß mitgeteilt. Die Autoren führen darüber Klage, daß ihre vermeintliche Priorität von Friedberger und Ito nicht berücksichtigt werde (Zeitschr. f. exp. Path., Bd. 11). Die ersten Angaben über die Untersuchungen von Schittenhelm und Ströbel sind in der Erlanger Med. Gesellschaft (Sitzung vom 8. Juli), Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 35 vom 29. August, veröffentlicht, also $\frac{1}{2}$ Jahr nach der ersten Mitteilung von Friedberger und Ito. In der bereits früher in der Frage der Anaphylatoxindarstellung aus Bakterien und der Frage des anaphylaktischen Fiebers gerügten Weise (Münch. med. Wochenschr., 1911, p. 1196) wird eine Priorität lediglich dadurch konstruiert und dabei der Vorwurf ungenügender Zitierung gegenüber anderen nur dadurch scheinbar begründet, daß die Autoren sich nicht gegen die erste Publikation, sondern gegen eine spätere über den gleichen Gegenstand wenden.

Vergiftung durch verschiedene Bakterienprodukte.

Tier No.	Art der Vergiftung	Tödliche Dosis	Volumen der Injekt.	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
a) Tuberkulin							
K 15	Normaltier, 0,1 g trocknes Tuberkulin (Höchst) intravenös in 2 ccm NaCl-Lösung injiziert.	4-fach	2 ccm	1' Sprünge, 2' Krämpfe, 3' Kornealreflexlos, 4' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, Ekchymosen hier und da, Herz schlägt noch, leichtes Oedem, Blut nicht geronnen.	Alveolen stark erweitert, Gefäße und Kapillaren mäßig gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, geringes perivaskuläres Oedem.
K 70	Normaltier, 0,5 ccm flüssiges Tuberkulin (Höchst) intravenös injiziert.	1-fach	0,5 ccm	Sofort Spr., Krämpfe, 1' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, starke Hämorrhagie, ödematös, Herz schlägt, Herzblut flüssig.	Alveolen an wenig Stellen sehr weit, stellenw. kollabiert, Lungen, Kapillaren und Gefäße stark gefüllt, gering. Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
K 23	Normaltier, vorher 0,6 Tuberkulin (flüssiges) subcut. am 20. Tage 0,9 flüssiges Tuberkulin intravenös.	1,8-fach	0,9 ccm	Sof. Krämpfe, Sprünge, 1' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, starke Hyperämie u. Hämorrhagien, etwas ödematös, Herz schlägt, Herzblut nicht geronnen.	Starke Blutung, mäßiges Oedem, besonders um die Gefäße, Alveolen erweitert, Bronch. verengt, Mucosa gefaltet, gr. Gefäße gefüllt, Kapillaren auch gefüllt.
b) Tetanustoxin							
M 10	Normaltier, 230 g, Tetanustoxin (trocken) 0,1 Proz. in 1 ccm intravenös injiziert.	—	1 ccm	Sof. Krämpfe, Sprünge, 4' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, spärliche Hämorrhagie, Herz schlägt, Herzblut geronnen.	Alveolen stark erweitert, Gefäße blutarm, spärliche Blutungsherde, geringes Oedem, Bronchien sehr eng, Mucosa gefaltet.

Vergiftung durch Jod und Jodeiweiß.

Sekt. No.	Tier No.	Art der Vergiftung	Tödliche Dosis	Volumen der Injekt.	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
1	J 43	Präpariert mit 0,5 Lugollösung, am 46. Tage 2 Proz. Jodeiweiß.	2-fach	2 ccm	Typische Krämpfe, 4' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, mäßige Hämorrhagien, rot, hyperämisch, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen sehr weit, starkes Oedem, mäßige Blutung, Gefäße kolossal gefüllt, besond. Kapillaren strotzend, Bronchien eng.
2	J 206	Lugollösung 0,5 vorbehandelt, am 46. Tage Reinjekt. m. 1,5 Proz. Jodeiweiß.	1,5-fach	1,5 ccm	Typische Krämpfe u. Sprünge, in 5' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, hämorrhagisch, rot, Herz positiv, Blut nicht geronnen.	Alv. etw. aufgebl., starkes Exsudat, Blutg. stark, Bronch. eng, Gefäße stark gefüllt, Kapillaren mäßig, Bronchialmucosa gefaltet.
3	J 208	Mit Lugollös. 0,5 vorbehandelt, am 46. Tage Reinjektion 1 Proz.	1-fach	1 ccm	Krämpfe, in Sprünge, in 6' tot.	(—)	Lunge stark aufgebläht, hämorrhagisch, rot, Blut nicht geronnen.	Alveolen mäßig weit, geringfügiges Oedem, Blutung mäßig, Gefäße mäßig gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
4	J 50	Vorbeh. mit 0,5 Lugollösung, am 47. Tage Reinjekt. mit 0,5 Proz. Jodeiweiß, etw. krank, am folgend. Tage 1,5-proz. Jodeiweiß inj.	1,5-fach	1,5 ccm	Krämpfe wie gewöhnlich. Schaum aus dem Munde, in 7' tot.	(—)	Lunge rot, stark voluminös, wenige Petechien, Blut nicht geronnen, Herz schlägt.	Entlang der größ. Bronch. starkes Oedem, sonst Alveolen weit und lufthaltig, Gefäße mäßig gefüllt, Bronch. verengt, Mucosa gefaltet.
5	J 29	Präpariert mit jodiertem Meersch.-S 0,1 10%, am 35. Tage reinj. mit jodiertem Hammelscr.	—	—	Krämpfe und Sprünge, in 3' tot.	(—)	Lunge voluminös, rot, hämorrhagisch, ödematös, Herz schlägt, Blut nicht geronnen.	Alveolen nicht sehr weit, Blutung und Oedem stark, Gefäße gefüllt, Bronch. eng, Muc. gefalt.

Tod durch Erstickung (als Kontrolle).

Tier No.	Art des Todes	Verlauf der Erstickung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Lunge	Mikroskopisches Bild der Lunge
Z 18	Unterbindung der Trachea.	Nach 3' tot.	(+) (-)	Lunge gar nicht aufgebläht, rot, hier und da Petechien, Herzblut flüssig, Herz schlagend.	Sehr wenige Alveolen lufthaltig, nur hier und da kleine Blutungsherde zu sehen, Gefäße mittelmäßig gefüllt, Kapillaren gleichfalls mäßig gefüllt, Bronchien eng, Mucosa gefaltet, kein Oedem.

Vergiftung von Kaninchen mit Witte-Pepton.

Tier No.	Art der Vergiftung	Tödliche Dosis	Volumen d. Inj. ccm	Verlauf der Vergiftung	Ob gekocht	Makroskopisches Bild der Sektion	Mikroskopisches Bild der Lunge
P 2	2600 g schwer. Tier 40 ccm d. 20-proz. Witte - Peptonlösung intravenös injiziert (ca. 0,3 Proz.).	1-fach	40	Sofort Krämpfe, Seitenlage, Dyspnoë, 2' tot.	(-)	Lunge gar nicht aufgebläht, eher kollabiert, blaß, nur hier und da Petechien, kein Oedem, Herz schlägt, Blut nicht geronnen, Gallenblase nicht gefüllt.	Alveolen meist kollabiert, spärliche Blutungsherde, Gefäße wenig gefüllt, kein Oedem, Bronchien eng, Mucosa gefaltet.
P 3	1900 g schwer. Kan. 10 ccm d. 20-proz. Witte - Peptonlösung intravenös injiziert (ca. 0,42 Proz.).	1,4-fach	40	Sofort Krämpfe, Dyspn., Seitenlage, 1 1/2' tot.	(-)	Lunge gar nicht aufgebläht, hier und da hämorrhag. Herde, kein Oedem, Herz schlägt, Blut flüssig, Gallenblase nicht besond. gefüllt.	Alveolen meist kollabiert, spärliche Blutungsherde, kein Oedem, keine Hyperämie, Bronchien nicht eng, Mucosa nicht gefaltet.

Oedem verdeckt die eventuell vorhandene Lungenblähung. (Siehe Tabelle p. 634).

Zum Schluß sei der Befund an den Lungen eines Meerschweinchens angeführt, welches zur Kontrolle durch Unterbindung der Trachea erstickt worden ist (Tabelle p. 635). Die Lungen waren geschrumpft, hier und da zeigten sie Petechien, welche mikroskopisch deutlicher sichtbar waren. Nur wenige Alveolen waren lufthaltig. Auffallend war die starke Faltung der Bronchialschleimhaut. Diese scheinbare Verengung und Faltung der Bronchialschleimhaut war nicht nur bei diesem Fall, sondern auch bei Vergiftung durch Kaolin und Methylimidoazol vorhanden, also bei Fällen, in denen die Lungenblähung gänzlich fehlte. So können wir diesem anatomischen Befund keine große Bedeutung beilegen.

Endlich seien hier noch die Versuche erwähnt, in denen wir Kaninchen mit Pepton vergifteten (Tabelle p. 635). Die letale Dosis liegt hier viel höher als beim Meerschweinchen. Für ein Meerschweinchen beträgt sie 0,075—0,1 Proz. des Körpergewichts. Für das Kaninchen betrug sie 0,3—0,4 Proz. Die Lunge des durch Pepton vergifteten Kaninchens zeigte keine Spur von Lungenblähung. Sie wies spärliche Petechien auf. Oedem fehlte vollständig.

Uebersichtstabelle der Häufigkeit der Hämorrhagien und Oedeme in den Lungen bei einigen der untersuchten Substanzen.

Art der Vergiftung	Zahl der Fälle	Fälle mit mäßigen resp. starken Hämorrhag.	Fälle mit Oedem	Grad der Oedeme
Aktive Anaphylaxie, Reinjektion in 1 ccm Anaphylatoxin	33	7 = 21,2 Proz.	6 = 18,1 Proz.	alle 6 leicht
Aktive Anaphylaxie, Reinj. in 4 ccm NaCl	11	5 = 45,3 Proz.	9 = 81 Proz.	7 leicht, 2 stark
Aktive Anaphylaxie, Reinj. in 4 ccm M.-S.	7	5 = 71,4 Proz.	7 = 100 Proz.	3 leicht, 4 stark
Witte-Pepton	17	5 = 45,3 Proz.	6 = 54,5 Proz.	4 leicht, 2 mäßig
β -Amidoazolyläthylamin	5	0 = 0 Proz.	2 = 40 Proz.	2 leicht

Zusammenfassung.

Es wurden nach Untersuchungen an einem großen Material die Angaben von Friedberger bestätigt, wonach im anatomischen Bild der Lunge bei aktiver Anaphylaxie Anaphylatoxinvergiftung und primärer Antiserumwirkung keinerlei Unterschiede bestehen.

Soweit sie behauptet wurden (Biedl und Kraus, Karsner), liegt das abweichende Resultat daran, daß nicht die gleichen Versuchsbedingungen eingehalten wurden.

Die Vergiftung durch Witte-Pepton bedingt ähnliche Lungenveränderung wie die Anaphylaxie (Biedl und Kraus), Blutungen sind entgegen den Angaben von Karsner regelmäßig nachzuweisen.

Primär giftiges Antiserum erzeugt den gleichen Lungenbefund wie die Anaphylaxie (Friedberger).

Das gilt auch für die tödlichen Dosen von Normalserum und Histamin (Barger und Dale).

Bei Jod, Antipyrin und Chininvergiftung ist das volumen pulmonum auctum im wesentlichen durch Oedem und Blutungen bedingt.

Beim Kaolintod ist die Lunge nach Eröffnung des Thorax kollabiert wie nach der Erstickung (Friedberger).

Die Verengerung und Faltung der Bronchialschleimhaut ist nicht für die verschiedenen Formen der Anaphylaxie charakteristisch; sie findet sich auch bei der Erstickung, sowie bei der Vergiftung mit Kaolin und Methylimidazol.

Bei dem mit Pepton vergifteten Kaninchen zeigt die Lunge weder Blähung noch Oedem.

Tafelerklärung.

Fig. 1. K 109. Akute Anaphylaxie, Reinjektion in 1 ccm. Starkes Emphysem, Alveolarwände teils zerrissen. Man sieht zwei Bronchioli, deren Mucosa stark gefaltet ist. Kein Oedem.

Fig. 2. Sekt. No. 26. Tier No. 145. Akute Anaphylaxie mit Oedem, Reinjektion 1 ccm. Alveolen stark erweitert, mäßiges Oedem, besonders perivaskulär, etwas Blutung.

638 Kumagai, Lungenblähung bei der Anaphylatoxinvergiftung etc.

Fig. 3. K 126. Akute Anaphylaxie, Reinjektion in 4 ccm. Alveolen mäßig erweitert, teils aber mit Oedemflüssigkeit gefüllt, besonders perivaskulär starkes Oedem. Verengter Bronchiolus mit gefalteter Mucosa.

Fig. 4. K 124. Akute Anaphylaxie, Reinjektion in 4 ccm Serum. Starkes Oedem, mit dem die Alveolen teils gefüllt sind. Mäßige Blutung. Ein Bronchiolus mit gefalteter Schleimhaut.

Fig. 5. K 82. Anaphylatoxin. Alveolen mittelmäßig erweitert, meist mit Blut und Oedemflüssigkeit gefüllt. Am Rand ein mittelgroßes Gefäß mit starkem perivaskulärem Oedem.

Fig. 6. K 65. Anaphylatoxin. Alveolen stark erweitert, kleine Blutungen, hier und da Bronchien verengt und ihre Mucosa stark gefaltet.

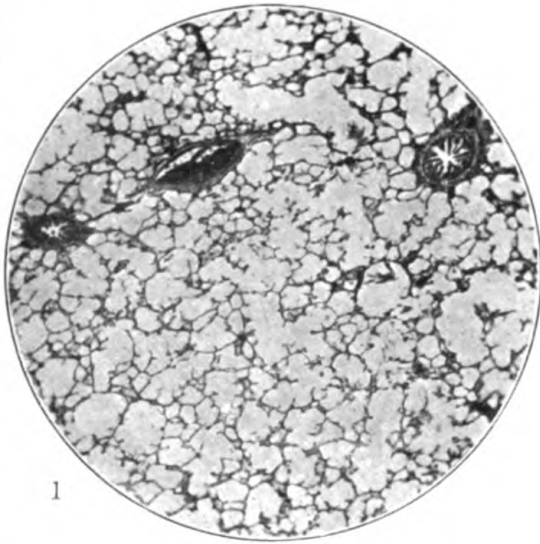
Fig. 7. Z 18. Erstickungstod. Keine Spur von Emphysem, Alveolen im Gegenteil fast alle kollabiert. Gefäße gefüllt. Man sieht einen stark verengten Bronchiolus mit stark gefalteter Mucosa.

Fig. 8. L 136. Vergiftung durch Histamin. Alveolen kolossal aufgebläht, Alveolarwände teils zerrissen. Gefäße gefüllt. Kein Oedem.

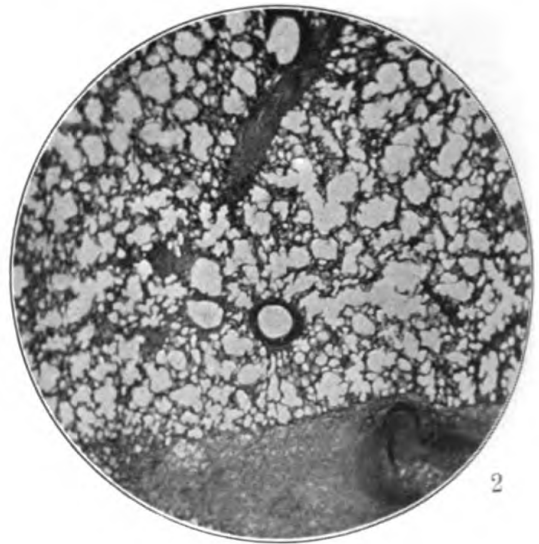
Fig. 9. J 38. Pepton Witte. Alveolen mittelmäßig erweitert, starke Blutung und mittelstarkes Oedem, besonders perivaskulär, vorhanden. Bronchien mit gefalteter Mucosa.

Fig. 10. J 180. Pepton Witte. Alveolen stark erweitert. Ein mittelgroßer Blutungsherd. Kein Oedem.

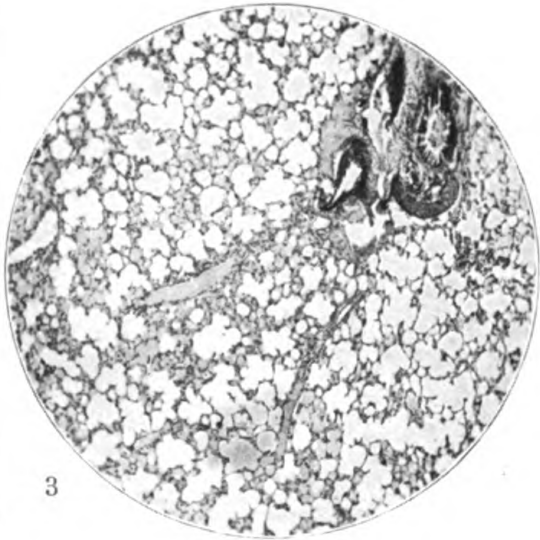
Fig. 11. J 126. Antipyrin. Starkes Oedem und Blutungen.



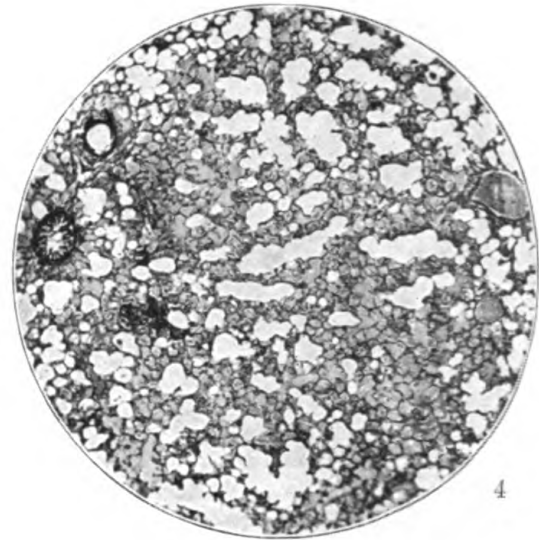
1



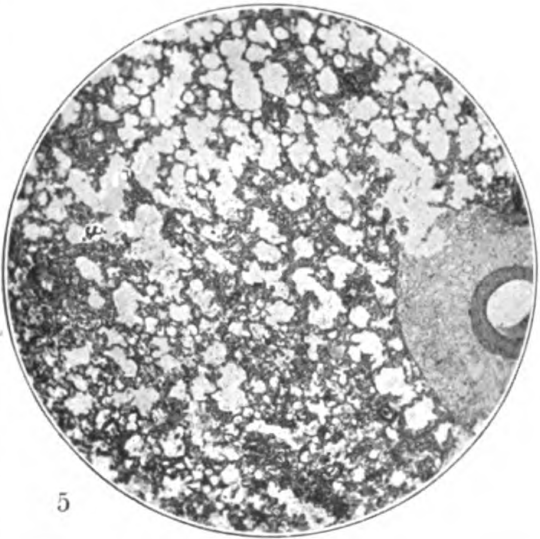
2



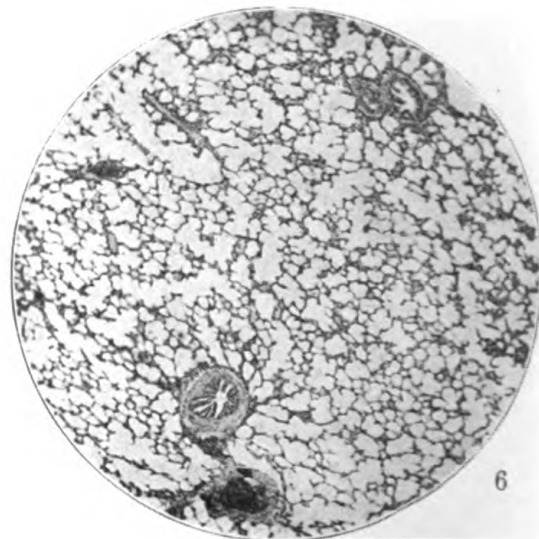
3



4

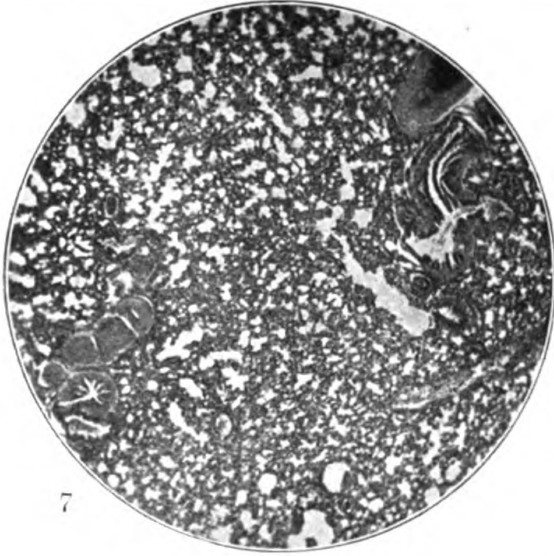


5

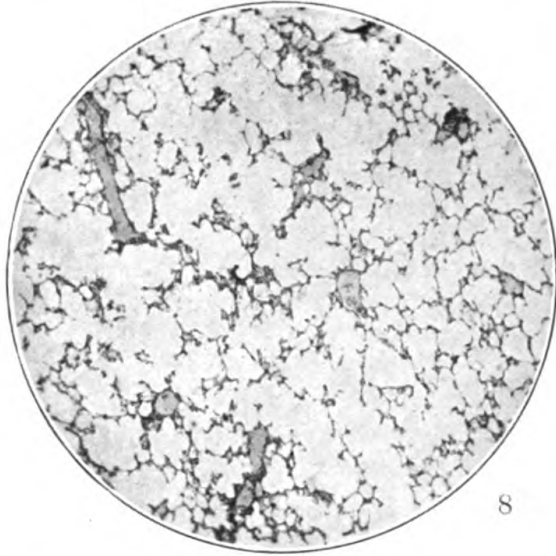


6

Verlag von Gustav



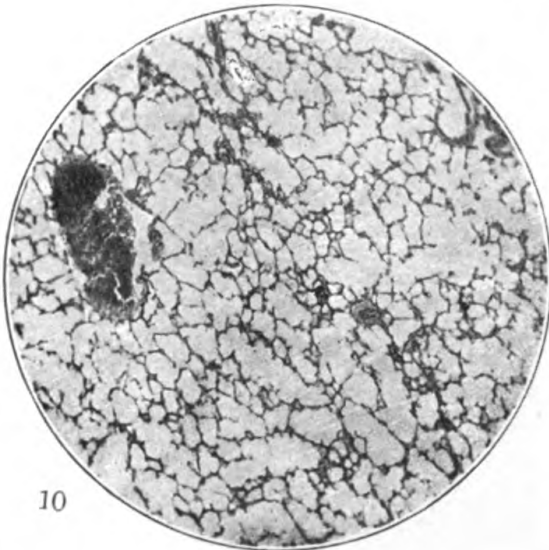
7



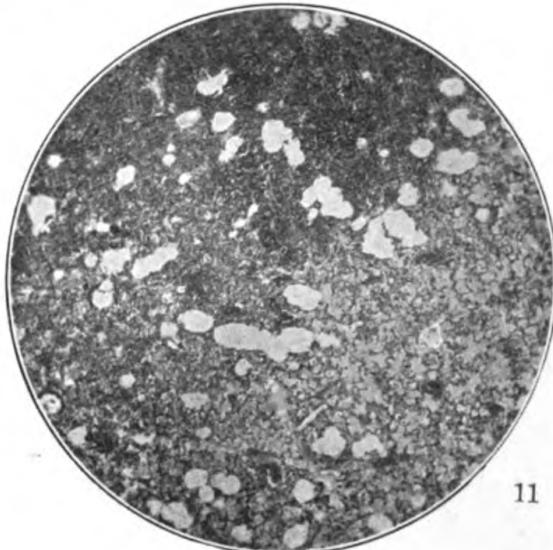
8



9



10



11

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Straßburg (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Ueber die sogenannte Operationsimmunität (bei einem Mäusecarcinom).

Von Oberarzt **Bindseil.**

Mit 21 Tabellen auf Tafeln.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Januar 1913.)

Im Jahre 1910 gaben Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen (1) die bei ihren Versuchen mit Rattensarkom (Bashford) gefundene, interessante Tatsache an, daß Ratten, denen gut ausgewachsene, ca. 3 Wochen alte Tumoren durch rezidivfreie Operation entfernt worden waren, sich Nachimpfungen gegenüber immun erwiesen, und zwar sowohl wenn die Nachimpfung sofort oder erst nach einiger Zeit erfolgte. Kam es dagegen an der Operationsstelle zu einem Rezidiv, so ging auch bei der Nachimpfung der Tumor an. Die Annahme, daß das Nichtangehen der sekundären Impfung auf natürlicher Resistenz beruhe, daß also alle Ratten, bei denen die Nachimpfung nicht anging, von Natur aus immun waren, wiesen die Autoren dadurch zurück, daß man es ganz in der Hand habe, ein Angehen der sekundären Impfung durch absichtliches Erzeugen eines Rezidives an der ersten Impfstelle zu erzielen. Das Zurücklassen einer geringen Menge Tumorgewebes bei der Operation genüge, um ein Rezidiv und damit ein Angehen der zweiten Impfung zu bewirken. Aehnliche Versuche, die freilich zum Teil zu anderen Resultaten führten, sind bereits vorher angestellt worden.

So kam Sticker (3), der mit einem anderen Material, mit einem Lymphosarkom, beim Hunde experimentierte und dessen Befunde daher nicht ohne weiteres zu vergleichen sind, zu dem Ergebnis, daß nach operativer Entfernung des primären Tumors die zweite, am selben Tage oder später vorgenommene Impfung anging, gleichgültig, ob rezidivfrei oder nicht rezidivfrei operiert worden war.

Schöne (5) fand bei seinen an einer größeren Zahl von Mäusen angestellten Versuchen, daß eine nach Abschluß der Wundheilung 8 Tage bis 3 Wochen nach der Operation vorgenommene zweite Impfung ebenso gut anginge wie bei normalen Mäusen, daß also 8 Tage bis 3 Wochen nach der Operation keine nachweisbare Immunität bestehe. Dagegen fand Gay (7), daß nach der Exstirpation 16—30 Tage (prämetastatische Periode nach Gay) alter Flexnerscher Rattentumoren die zweite Impfung meist nicht anging. Nach der operativen Entfernung 30 Tage alter Tumoren, wo Metastasen gefunden wurden, ging die zweite Impfung bei einigen Tieren an.

Die Uhlenhuthsche Veröffentlichung veranlaßte nun eine Reihe von Nachprüfungen.

So kam Apolant (8) auf Grund seiner zahlreichen, an Ratten und Mäusen angestellten Versuche zu dem Ergebnis, daß das Uhlenhuthsche Gesetz scheinbar in einem hohen Prozentsatz der Fälle stimmt, daß aber keine gesetzmäßige Beziehung zwischen dem Resultat der Operation und dem Angehen nachgeimpfter Tumorzellen besteht. Auf seine Einwände und seine Erklärung der gefundenen Resultate wird weiter unten eingegangen werden, es sei hier nur auf die Erklärung Uhlenhuths (9) hingewiesen, daß in den Resultaten der Apolantschen Versuche eher eine Bestätigung als eine Widerlegung der Operationsimmunität zu finden sei. Nach Abzug der zu früh operierten Ratten und eines Tieres, bei dem Lungenmetastasen gefunden wurden, sind von 31 operierten Ratten 22 rezidivfrei operiert worden. Von diesen erwiesen sich 19 = 86,2 Proz. bei der Nachimpfung refraktär. Bei allen 9 Ratten, bei denen es zu einem Rezidiv kam, ging auch die Nachimpfung an = 100 Proz. Von 32 operierten Mäusen blieben 17 rezidivfrei. Von diesen erwiesen sich 13 = 76,5 Proz. bei der Nachimpfung refraktär. Die übrigen 15 Mäuse bekamen ein Rezidiv, und bei sämtlichen 15 Tieren, also in 100 Proz., kam es zu einem Wachstum der sekundären Impfung.

Meidner (10) prüfte die Angaben Uhlenhuths mit einem Sarkomstamm an Berliner Ratten und kam zu einer vollkommenen Bestätigung. Von 32 rezidivfrei operierten Ratten erwiesen sich 26 von Anfang an als vollkommen refraktär = 81,2 Proz. Von den übrigen 6 Ratten zeigten 2 Tiere ein gutes Wachstum des Nachimpftumors = 6,3 Proz., während bei 4 Tieren die entstandenen etwa bohngroßen Tumoren in längstens 4 Wochen restlos resorbiert wurden, so daß auch diese Tiere zu denen gerechnet werden können, die durch die radikale Operation eine Immunität gegen Nachimpfung bekommen haben, wodurch sich der Prozentsatz der rezidivfrei operierten Ratten, bei denen es zu keinem anhaltenden Wachstum des Nachimpftumors kam, auf 93,7 Proz. erhöht. Bei 8 Ratten, bei denen es nach der Operation zu einem Rezidiv kam, kam es in 7 Fällen = 87,5 Proz. zu einem Angehen der zweiten Impfung.

Infolge der Apolantschen Angaben wurden von Uhlenhuth und Dold (11) und von Händel und Schönburg (12) erneute Nachprüfungen mit Bashfordschem Sarkom an Ratten vorgenommen, welche die früheren Befunde bestätigten.

So waren bei den Straßburger Versuchen von 15 rezidivfrei operierten Ratten 12 = 80 Proz. bei der Nachimpfung refraktär, während bei den Tieren, bei denen es zu einem Operationsrezidiv kam, die Nachimpfung stets erfolgreich war. Händel und Schönburg operierten 31 Sarkomratten. 21 rezidivfrei operierte Ratten erwiesen sich sämtlich bei der Nachimpfung refraktär = 100 Proz., während bei 10 Tieren, bei denen es zu einem Operationsrezidiv kam, die Nachimpfung stets anging = 100 Proz.

Morpurgo und Donati (13) haben diese Befunde insofern bestätigt, als sie die besondere Häufigkeit des Angehens der zweiten Impfung

bei Ausbildung eines Operationsrezidivs hervorheben und die Schlußfolgerung ziehen, daß das Eintreten der Rezidive die Entwicklung des zweiten Tumors begünstigt. Von 16 Ratten, bei denen es nach der Operation zu einem Rezidiv kam, bekamen 15 = 93,8 Proz. einen Nachimpftumor; nur einmal = 6,2 Proz. ging trotz vorhandenen Rezidivs die Nachimpfung nicht an. Von den 19 rezidivfrei operierten Tieren erwiesen sich 4 = 21 Proz. refraktär. Da, wie bereits Uhlenhuth hervorgehoben, eine Angabe des Alters der operierten Tumoren fehlt, lassen sich aus diesem Befund keine vergleichenden Schlüsse ziehen.

Im Bashfordschen Institut wurde von Russell (14) in einer ausgedehnten Reihe von Versuchen an Mäusen und Ratten das Verhalten der Nachimpfung an Tieren untersucht, denen durch Operation der primäre Tumor entfernt worden war. Russell behauptet, daß vollständige oder unvollständige Operation nicht der ausschlaggebende Faktor (the factor determining) dafür ist, ob die Nachimpfung erfolgreich ist oder nicht. Seine Befunde, die er mit verschiedenen Maustumorstämmen erhalten hat, sind insofern interessant, als er auf das verschiedene Verhalten der einzelnen Tumorstämme bezüglich ihrer Fähigkeit, das Tier resistent gegen nachfolgende Impfung zu machen, aufmerksam macht. So hat er einen Stamm beschrieben, bei dem trotz radikaler operativer Entfernung 19 Tage alter Tumoren die folgende Nachimpfung in allen Fällen anging, einen anderen, wo von 12 rezidivfrei operierten Tieren nur 4 Mäuse sich bei der Nachimpfung refraktär zeigten, und bei den übrigen 8 die Nachimpfung zu gut wachsenden Tumoren führte, während andererseits sein Versuch mit Jensens Rattensarkom ergab, daß von 7 rezidivfrei operierten Ratten sich 6 Tiere = 85,7 Proz. gegen die Nachimpfung refraktär erwiesen. In allen Fällen, wo es bei seinen Versuchen zu einem Rezidiv nach der Operation kam, ging die Nachimpfung an. In einer Reihe von 7 Ratten wurde die Operation mit Absicht unvollständig gemacht, doch kam es nur bei 2 Tieren zur Ausbildung eines Rezidivs. Die Nachimpfung ging bei diesen Tieren an. Bei 5 Ratten kam es trotz des mit Absicht zurückgelassenen Tumorrestes zu keinem Rezidiv, die Nachimpfung ging nicht an. Aus welchen Ursachen der zurückgelassene Tumorrest, dessen Vaskularisation, wie der Autor hervorhebt, nicht geschädigt war, zu keinem Rezidiv auswuchs, läßt sich nicht feststellen, jedenfalls sind diese Tiere nicht zum einwandfreien Beweis für die Behauptung zu verwerten, daß unvollständige Operation kein ausschlaggebender Faktor dafür ist, ob die Nachimpfung angeht oder nicht. Uhlenhuth hebt doch hervor, daß die Nachimpfung dann erfolgreich sei, wenn es an der Operationsstelle zu einem Rezidiv, sei es spontan oder künstlich erzeugt, komme. Wächst der absichtlich zurückgelassene Tumorrest zu keinem Rezidiv aus, sondern wird aus irgendeiner Ursache resorbiert, so ist der Einwand berechtigt, daß das Nichtangehen der zweiten Impfung auf die Ausbildung einer aktiven Immunität, entstanden durch Resorption des zurückgelassenen Tumorrestes, zurückzuführen ist. Die anderen Versuche, welche Russell gemacht hat, indem er die Nachimpfung mit einem anderen Tumorstamm als dem des primären Tumors ausführte, lassen sich unseres Erachtens nicht ohne weiteres

mit den vorliegenden Versuchen vergleichen, bei denen zur Impfung des primären Tumors und zur Nachimpfung derselbe Tumorstamm verwendet worden ist.

In den folgenden Versuchen habe ich, der Anregung des Herrn Geheimrat Uhlenhuth folgend, die Frage nach dem Vorhandensein und der eventuellen Dauer der sogenannten Operationsimmunität bei einem Mäusecarcinom einer experimentellen Prüfung unterzogen. Es mag hervorgehoben werden, daß die in dieser Arbeit mitgeteilten Ergebnisse sich nur auf das von uns untersuchte Ehrliche Mäusecarcinom mit größtenteils alveolärem Bau beziehen.

Die Impfausbeute, welche dieses Carcinom bei seiner Ueberimpfung auf hiesige Straßburger Mäuse ergab, betrug in den ersten Serien nur etwa 15—20 Proz., stieg dann aber allmählich an und hielt sich schließlich in einer nahezu konstanten Höhe von 75—90 Proz., ja in manchen Serien sogar von 100 Proz.

Nur einmal wurde ein Abfallen der Impfausbeute aus unaufgeklärter Ursache beobachtet, doch gelang es, bei fortgesetzter weiterer Impfung die frühere, annähernd konstante Höhe der Impfausbeute wieder zu erreichen. Eine Spontanresorption größerer Tumoren wurde bei diesem Carcinomstamm niemals beobachtet. Unter 350 geimpften Tieren trat in 6 Proz. ein Zurückgehen und völliges Verschwinden kleiner Tumoren, deren größter kaum erbsengroß war, in etwa 14 bis 20 Tagen ein; größere Tumoren zeigten niemals irgendeine Neigung, sich spontan zurückzubilden oder im Wachstum stillzustehen. Das zu den Versuchen benutzte Tiermaterial entstammte eigener Zucht, so daß nach Möglichkeit der von vielen Autoren — Albrecht und Hecht (15), Apolant (16), Bashford (17), Ehrlich (18), Gierke (19), Haaland (20), Lurje (21), Uhlenhuth und Weidanz (22) — hervorgehobene Einfluß der Resistenz der fremden Rasse ausgeschaltet werden konnte. Es wurde Wert darauf gelegt, möglichst Tiere gleichen Alters zu verwenden, auch wurde die Fütterung gleichmäßig durchgeführt. Von großer Wichtigkeit sind bei der Beurteilung der Versuche über Tumorimmunität zahlreiche und gleichaltrige Kontrolltiere. Es wurden für jede Nachimpfung 10—20 Kontrollmäuse angesetzt und der Versuch

als nicht einwandfrei angesehen, wenn die Impfausbeute bei den Kontrolltieren unter 60 Proz. betrug.

Die erste Impfung geschah unter aseptischen Kautelen in die linke Axilla unter ausschließlicher Anwendung der Bashfordschen Stückchenmethode. Die Stückchen wurden möglichst gleichgroß den Randpartien der zur Verimpfung gelangenden Tumoren entnommen. Die Breimethode wurde nicht angewandt, um dem Einwand Borrels (23) und Clowes (24) zu begegnen, die das Nichtangehen der zweiten Impfung mit einer aktiven Immunisierung erklären, die nur bei der Breimethode wegen der Resorption genügend großer immunisierender Mengen, nicht bei der Stückchenmethode deutlich sei. Das Impfmateriel zu der zweiten Impfung stammte jedesmal von einem gut gewachsenen, ca. 2—3 Wochen alten Tumor einer ca. 6—8 Wochen alten Maus, die aus besonders zu diesem Zweck angesetzten Serien ausgewählt wurde. Mit diesem Material wurden dann gleichzeitig ca. 10—20 Kontrolltiere desselben Alters geimpft.

Die zweite Impfung geschah in derselben Weise in die rechte Axilla. Kartographisch sind die Resultate in $\frac{1}{2}$ natürlicher Größe auf den beigefügten Tabellen in durchschnittlich achttägigem Zeitintervall eingetragen, und zwar in der linken Spalte die primären Tumoren bzw. die Operationsrezidive oder die negativen Zeichen mit schwarzer Farbe, in der rechten Spalte die sekundären Tumoren in schraffierter Ausführung¹⁾.

Das Alter der Versuchstiere betrug bei der primären Impfung:

ca. 4—6 Wochen	bei	80 Tieren
„ 6—8	„	27 „
„ 8—10	„	6 „

Bei den hiesigen Mäusen dieses Alters wuchs der überimpfte Tumor im allgemeinen mit der Schnelligkeit, daß die Impftumoren nach 14 Tagen etwa Bohnengröße, nach 3 bis 4 Wochen etwa Haselnußgröße erreichten. Die Operation wurde nicht zu früh vorgenommen, meist erst nach ca. 21-tägigem Wachstum der Tumoren. Wie Uhlenhuth

1) Aus äußeren Gründen mußte die Wiedergabe einzelner Tabellen unterbleiben.

hervorhebt, darf nicht zu früh operiert werden, da die Gefahr besteht, daß bei einer zu frühzeitigen Operation die „Abwehrstoffe“ noch nicht stark genug ausgebildet sind. Bei dem manchmal exzessiven Wachstum dieses Mäusecarcinoms und bei der relativen Kleinheit der Versuchstiere mußte in mehreren Fällen bereits eher zur Operation geschritten werden, da bei zu stark entwickeltem Tumor die Operation schlecht überstanden wurde, insbesondere bei den dann schon stark entwickelten Gefäßen der Tod leicht an Verblutung erfolgte. So ist in 12 Fällen die Operation bereits nach einem Tumoralter von 14 Tagen vorgenommen worden. In einzelnen Fällen zeigte der Tumor ein langsames Wachstum, so daß erst bei einem höheren Tumoralter operiert wurde. Stellt man für unsere Versuche das Tumoralter zusammen, so ergibt sich, daß dasselbe betrug:

14 Tage bei 12 Tieren	39 Tage bei 1 Tier
16—21 Tage bei 73 Tieren	45 „ „ 2 Tieren
22—33 „ „ 21 „	53 „ „ 1 Tier
33 Tage bei 2 Tieren	82 „ „ 1 „

Die Operation wurde in folgender Weise vorgenommen: Das Operationsgebiet wurde von den Haaren sorgfältig befreit und mit Alkohol abs. abgewischt. Dann wurde die Haut rings um den Tumor durchtrennt und dieses Hautstück mit dem daran anhaftenden Tumor abpräpariert. Zur Blutstillung mußten in einigen Fällen die stark entwickelten Gefäße vorher unterbunden werden. Der Verschuß der Wunde erfolgte mit Seidenknopffäden; die Wundheilung erfolgte glatt unter Bildung einer linearen Narbe. Die Operation wurde verhältnismäßig gut vertragen, wenn man den bei der Kleinheit des Versuchstieres und der relativen Tumorgroße immerhin nicht ganz kleinen operativen Eingriff bedenkt.

Es wurden im ganzen 161 Tiere auf diese Weise operiert. Davon starben gleich nach der Operation oder kurze Zeit nachher 31 = 19,7 Proz. In dem Zeitraum zwischen Operation und zweiter Impfung, der bis zu 127 Tagen betrug, gingen 17 Tiere meist an einem sich entwickelnden Rezidiv ein.

Es blieben also zur Beobachtung noch 113 Tiere, von denen das Ergebnis in den beigegeführten Tabellen aufgeführt ist.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit, der die ersten 59 Tiere der Tabellen umfaßt, sollte die Frage nach dem Vorhandensein der Operationsimmunität im Sinne Uhlenhuths bei diesem Mäusecarcinom einer Prüfung unterzogen werden. Die Zwischenzeit zwischen Operation und zweiter Impfung betrug bei diesen 59 Tieren:

2—4	Tage	bei	27	Tieren
6—8	„	„	21	„
14—16	„	„	11	„

Bei den ersten 47 Tieren wurde durch Radikaloperation alles Tumorgewebe entfernt. Von diesen blieben 29 Tiere = 61,7 Proz. rezidivfrei, während bei 18 Tieren = 38,3 Proz. ein Rezidiv eintrat. Trotz der „radikalen“ Operation kam es also in einem ziemlich hohen Prozentsatz doch zu einer Rezidivbildung. Es entspricht dieser Befund denen anderer Autoren wie Clunet (25), der bei 22 radikal operierten Tieren 16mal ein Rezidiv eintreten sah, und Apolant (26), der ebenfalls das häufige Rezidivieren post radikaler Operation betont. Ebenso heben Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen bei ihren Versuchen mit Rattensarkom das nicht seltene Auftreten von Rezidiven an der Operationsstelle trotz radikaler Operation hervor. Bei den 29 rezidivfrei operierten Tieren ging die Nachimpfung in 25 Fällen = 86,2 Proz. nicht an (= positive operationsimmune Tiere im Sinne Uhlenhuths). Bei 4 Tieren (No. 1, 2, 16, 17 der Tabellen) ging die Nachimpfung an = 13,8 Proz. Bei 2 Tieren, No. 10 und 12 der Tabellen trat eine von Apolant anscheinend häufiger beobachtete Spontanresorption angegangener Nachimpftumoren ein; bei Tier No. 10, wo gleichzeitig mit dem Impfknotchen sich auch an der Operationsstelle ein kleines Knotchen zurückbildete, und bei Tier No. 12, wo ein eben noch palpables Impfknotchen sich 14 Tage nach der Impfung zeigte und kurz darauf verschwand. Beim Tier No. 16 zeigte sich neben dem gut wachsenden Impftumor ein kleines Rezidiv an der Operationsstelle, das die Größe einer kleinen Erbse erreichte und im Verlauf von 5 Wochen restlos resorbiert wurde.

Bei den 18 Tieren, welche nach der Operation ein spontanes Rezidiv bekamen [siehe Tabellen No. 13, 22, 23, 24,

26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 36, 37, 38, 40¹⁾, 44¹⁾, 47¹⁾], ging die Nachimpfung in 17 Fällen = 94,4 Proz. an. Bei einem Tier No. 36 ging die zweite Impfung neben dem gut wachsenden Rezidivtumor zuerst bis zur Größe einer kleinen Erbse an, doch wurde der kleine Impftumor im Verlauf von 3 Wochen restlos resorbiert, während der Rezidivtumor im Verlauf von 2 $\frac{1}{2}$ Monaten die Größe einer kleinen Walnuß erreichte. Von wie großer Wichtigkeit eine möglichst langdauernde Beobachtung der Versuchstiere ist, sofern nicht die relativ geringe Lebensdauer der Mäuse der Beobachtung ein frühzeitiges Ziel setzt, zeigt die Tabelle VI Tier No. 26. Hier trat sowohl an der Operations- als auch an der Nachimpfungsstelle erst nach ca. 10 Wochen beiderseits ein Knötchen auf, das sich während einer Dauer von ca. 8 Wochen an der Operationsstelle zu Haselnußgröße, an der Nachimpfungsstelle zu Bohnengröße entwickelte. Die von Uhlenhuth und seinen Mitarbeitern hervorgehobene besondere Wachstumsenergie der Rezidive ihres Rattensarkoms wurde auch bei diesem Mäusecarcinom beobachtet, wie Tabelle III, 13, Tabelle V, 22, Tabelle VI, 28 und 29 zeigt.

Bei 12 Tieren, No. 48—59, wurde bei der operativen Entfernung des Tumors absichtlich ein kleiner Rest zurückgelassen, der bei sämtlichen Tieren zu einem gut wachsenden Rezidiv führte. Die 3 bzw. 6 Tage nach der Operation vorgenommene zweite Impfung führte in allen Fällen = 100 Proz. zu einem Angehen der Impftumoren, die hinter dem Operationsrezidiv an Größe nicht zurückblieben.

Als Kontrollen sind nach Abzug der zu frühzeitig gestorbenen im ganzen 142 Tiere für diesen ersten Teil beobachtet worden. Bei 124 Tieren ging die Impfung an = 87,3 Proz., während 18 Tiere = 12,7 Proz. sich refraktär verhielten. Das Alter der Kontrolltiere betrug entsprechend dem Alter der Versuchstiere durchschnittlich 7—8 Wochen, nur bei einem Versuch in Tabelle IV war das Alter der Kontrolltiere infolge des langsamen Wachstums der Impftumoren bei den Versuchstieren ca. 18 bis 20 Wochen und die Ausbeute betrug bei diesen Kontrolltieren = 72,7 Proz. Die Impfausbeute der für die einzelnen Ver-

1) Nicht abgebildet.

suche jeweils angesetzten Kontrollen ist auf den Tabellen in Prozenten angegeben.

Faßt man das Ergebnis der vorliegenden Versuche zusammen, so verlief die Radikaloperation bei 47 Tieren:

Rezidivfrei:		Mit Rezidiv:	
29 Tiere		18 Tiere	
Die Nachimpfung		Die Nachimpfung	
ging nicht an: bei 25 Tieren = 86,2%	ging an: bei 4 Tieren = 13,8%	ging nicht an: bei 1 Tier = 5,6%	ging an: bei 17 Tieren = 94,4%

Die unvollständige Operation mit später sich entwickelndem, gut wachsendem Rezidiv ließ bei 12 Tieren die Nachimpfung angehen in 12 Fällen = 100 Proz.

Während also der untersuchte Carcinomstamm auf normalen Tieren eine positive Ausbeute von 87,3 Proz. ergab und nur 12,7 Proz. sich als refraktär erwiesen, ergab die Nachimpfung von rezidivfrei operierten Tieren nur eine positive Ausbeute von 13,8 Proz. und 86,2 Proz. erwiesen sich gegen die Nachimpfung refraktär.

Vergleicht man die für dieses Mäusecarcinom gefundenen Resultate mit den Ergebnissen anderer Versuche über die Operationsimmunität, so ergeben sich folgende Zahlen.

Es fanden	Rezidivfrei operierte Tiere	Bei der Nachimpfung refraktär	Rezidivtiere (spontan oder künstlich)	Nachimpfung erfolgreich
Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen	55 Ratten	49 = 89,1 %	21 Ratten	21 = 100 %
Gay	8 "	6 = 75 "		
Meidner	32 "	26 = 81,2 "	8 Ratten	7 = 87,5 "
Apolant	22 "	19 = 86,2 "	9 "	9 = 100 "
"	17 Mäuse	13 = 76,5 "	15 Mäuse	15 = 100 "
Händel u. Schönburg	21 Ratten	21 = 100 "	10 Ratten	10 = 100 "
Uhlenhuth u. Dold	15 "	12 = 80 "	8 "	8 = 100 "
vorliegender Versuch	29 Mäuse	25 = 86,2 "	30 Mäuse	29 = 96,7 "

In dem zweiten Teil der Arbeit sollte die Dauer der Operationsimmunität bei diesem Mäusecarcinom geprüft werden. Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen gaben als längste bei ihren Versuchen festgestellte Dauer der Immunität operierter Ratten gegen Nachimpfungen 49 Tage an, schließen aber die Möglichkeit nicht aus, daß nach längeren Fristen die

Immunität nachläßt oder aufhört. Bei der Operation der zu diesem Versuch verwendeten 82 Tiere wurde aufs sorgfältigste der ganze Tumor entfernt. Abzüglich der zu früh gestorbenen bekamen trotzdem 14 Tiere ein Rezidiv und es blieben im ganzen 54 Tiere in genügend langer Beobachtung [siehe Tabellen No. 60—113¹⁾]. Die Zwischenzeit zwischen Operation und der zweiten Impfung betrug bei diesen Tieren:

24—25 Tage bei 14 Tieren				
46	„	„	6	„
61	„	„	11	„
82—25	„	„	12	„
122—127	„	„	11	„

Bei der Prüfung der Dauer der Operationsimmunität ergibt sich nun eine Schwierigkeit, die einer weitgehenden Prüfung eine gewisse Schranke setzt. Die Tiere werden während der Wartezeit von der Operation bis zur Nachimpfung zum Teil erheblich älter und damit sinkt in gewissem Grade die Impfausbeute an sich. Bashford (27) hat besonders auf diese Altersresistenz beim Mäusecarcinom hingewiesen. Er fand bei 17 Monate alten Mäusen, die mit einem sonst gut wachsenden Carcinomstamm geimpft wurden, tatsächlich bei keiner ein progressives Wachstum der Impfstücke. Die kleinen gebildeten Knötchen verfielen nach 4 Wochen einer restlosen Spontanresorption. Bashford (27) betont, daß hohes Alter für sich allein genüge, um den Mäusen eine vollkommene Resistenz gegen das Krebswachstum zu gewähren und hält den Unterschied der Impfung bei jungen und alten Mäusen für ein sehr wichtiges, technisches Moment, das bei der Deutung der Immunitätsexperimente berücksichtigt werden müsse. Wenn nun auch bei unseren Versuchen nicht derartig hohe Altersgrade bei den Mäusen eintraten, so zeigt sich doch in gewissem Sinne die vorhandene Altersresistenz in einer niedrigeren Impfausbeute der älteren Kontrolltiere im Gegensatz zu den jüngeren Kontrolltieren des I. Teils, die mit demselben Stamm geimpft durchschnittlich 87,3 Proz. positive Ausbeute ergaben. Durchschnittlich ergaben die älteren Kontrolltiere nur eine Ausbeute von 65,9 Proz. Zur besseren Uebersicht möge

1) No. 112 und 113 nicht abgebildet.

eine Zusammenstellung der Impfausbeute dieser Kontrolltiere folgen.

Zahl der Tiere	Alter in Wochen	Ausbeute	in Prozenten
13	12—13	69,2 % positiv	30,8 % negativ
10	15—17	70,0 „ „	30,0 „ „
12	16—18	66,7 „ „	33,3 „ „
10	18—20	70,0 „ „	30,0 „ „
10	23—25	60,0 „ „	40,0 „ „
11	24—26	63,6 „ „	36,4 „ „
16	26—28	62,5 „ „	37,5 „ „
Sa. 82		65,9 % positiv	34,1 % negativ

Es ist deshalb der Versuch nicht über die Wartezeit von 127 Tagen ausgedehnt worden, da dann die Ausbeute der Kontrolltiere aller Voraussicht nach unter 60 Proz. gesunken wäre. Damit wäre aber eine einwandfreie Beurteilung der Ergebnisse im Sinne Bashfords (28), der als Mindestausbeute bei den Kontrollen 60 Proz. verlangt, nicht möglich gewesen. Es wirken also bei höheren Altersgraden der Versuchstiere Altersresistenz und Operationsimmunität zusammen, beide verhindern ein Angehen der Impfung, so daß sich nicht genau trennen läßt, welcher von beiden Faktoren bei den gefundenen Resultaten ausschließlich oder hauptsächlich maßgebend gewesen ist. Da bei unseren Versuchen die Mindestausbeute bei den Kontrollen 60 Proz. betrug, so lassen die gefundenen Resultate immerhin eine Deutung zu.

Tabelle IX, X und XI zeigen die Ergebnisse bei 14 Tieren, die 24—25 Tage nach der Operation geimpft wurden. Bei 4 Tieren ging die Nachimpfung an, 10 Tiere erwiesen sich refraktär. Zwar kam es bei Maus No. 72 nach 10—14 Tagen zu einem kleinen, eben palpablen Knötchen, doch verschwand dieses kurze Zeit darauf vollständig. Bei den 14 rezidivfrei operierten Tieren ging also die Nachimpfung nach einem Zeitraum von 24—25 Tagen post operationem bei 10 Tieren = 71,4 Proz. nicht an.

Bei dem folgenden Versuch (Tabelle XII und XIII), wo die Nachimpfung 46 Tage nach der Operation vorgenommen wurde, blieben leider nur 6 Tiere genügend lange am Leben. Bei 2 Tieren, No. 75 und 76, kam es zu einem Rezidiv; bei beiden ging die Nachimpfung an. Der bereits oben erwähnte Wert einer möglichst langen Beobachtung zeigte sich bei

Maus No. 75. Erst nach 7 Wochen zeigte sich an der Operationsstelle ein palpables Knötchen, das im Verlauf von weiteren 8 Wochen ca. Bohnengröße erreichte. Zur gleichen Zeit ging auch die Nachimpfung an und führte zu einem hinter dem Operationsrezidiv nur wenig an Größe zurückbleibenden Impftumor. Bei Maus 76 ist der Unterschied in der Größe des Operationsrezidivs und des Nachimpftumors evident und würde dieser Fall nach Meidner zu denen zu rechnen sein, wo die Athrepsie Ehrlichs „eine sekundäre Rolle spielen könnte“, wenn bei frühzeitigem großen Rezidiv das Wachstum des Nachimpftumors mehr oder weniger beeinträchtigt wird. 4 Tiere blieben rezidivfrei; während bei zweien die Nachimpfung anging, erwiesen sich die zwei anderen Mäuse der Nachimpfung gegenüber refraktär. Es läßt sich jedoch dieser Versuch wegen der geringen Zahl der Tiere nur bedingt verwerten.

11 rezidivfrei operierte Tiere wurden nach einem Zeitraum von 61 Tagen post operationem geimpft (s. Tabelle XIV, XV und XVI). Bei 4 Tieren ging die Nachimpfung an, die 7 übrigen erwiesen sich refraktär = 63,6 Proz. Bei Maus No. 83 und 86 bildete sich 8 Tage nach der Impfung ein kleines Knötchen, wurde aber in kurzer Zeit wieder resorbiert. Nach 61-tägigem Zeitraum zwischen Operation und Nachimpfung sind also 7 von 11 Tieren refraktär = 63,6 Proz.

Nach 82—85-tägigem Zeitraum sind 12 rezidivfrei operierte Tiere nachgeimpft worden (s. Tabelle XVII, XVIII und XIX). Bei 4 Tieren ging die Nachimpfung an, 8 Tiere erwiesen sich bei der Nachimpfung immun. Nach 82—85-tägiger Dauer post operationem geht also die Nachimpfung bei 8 von 12 rezidivfrei operierten Mäusen nicht an = 66,7 Proz.

11 rezidivfrei operierte Tiere wurden nach einem Zeitintervall von 122—127 Tagen nachgeimpft. Bei 4 Tieren ging die Nachimpfung an, 7 Tiere blieben refraktär = 63,6 Proz.

Faßt man die Ergebnisse der Versuche über die Dauer der Operationsimmunität zusammen, so sind gegen Nachimpfung refraktär:

nach 24—25-tägigem	Zeitraum	post operationem	= 71,4	Proz. der Tiere			
„ 46	„	„	= 50	„	„	„	
„ 61	„	„	= 63,6	„	„	„	
„ 82—85	„	„	= 66,7	„	„	„	
„ 122—127	„	„	= 63,6	„	„	„	

Wie aus den Versuchen hervorgeht, läßt sich also die Operationsimmunität noch nach 122—127 Tagen nachweisen. Während bei gleichaltrigen Kontrolltieren die Impfausbeute = 62,5 Proz. beträgt, geht die Impfung bei rezidivfrei operierten Tieren in 63,6 Proz. nicht an. Es läßt sich ferner ersehen, daß nach längerem Zeitintervall post operationem die prozentuale Ausbeute an refraktären Tieren, wenn auch nicht in erheblichem Grade, sinkt, daß also die Operationsimmunität nach längerer Zeitdauer zwischen Operation und Nachimpfung, wenn auch nicht in hohem Grade, nachläßt. Die vorhandene Altersresistenz kann bei unseren Versuchen nicht als Erklärung herangezogen werden, da bei den gleichaltrigen Kontrolltieren die Impfausbeute meist über 60 Proz. betrug.

Zur Deutung der bei den Versuchen über Operationsimmunität gefundenen Resultate sind nun verschiedene Theorien aufgestellt worden. Uhlenhuth nimmt an, daß es nach der Implantation von Geschwulstgewebe zu Wechselbeziehungen zwischen den wuchernden Geschwulstzellen und dem Organismus kommt, und daß sich der Körper den ersteren gegenüber durch Bildung von Abwehrstoffen zu schützen sucht. Wird der Körper des Versuchstieres durch Radikaloperation auf einmal von der Geschwulst befreit, so sind die während der Geschwulstentwicklung gebildeten Abwehrstoffe frei verfügbar und vermögen über neu implantiertes Tumorgewebe Herr zu werden: die Tiere sind immun. Wird aber durch die Operation nicht alles Tumorgewebe entfernt, so bleibt der Kampf zwischen Tumorgewebe und Organismus bestehen, die Abwehrstoffe werden durch das sich entwickelnde Rezidiv so in Anspruch genommen, daß sie nun das Wachstum eines zweiten implantierten Tumors nicht zu hindern vermögen. Das schnellere Wachstum der Rezidive wird dadurch verständlich, daß die Geschwulstzellen durch Gewöhnung eine gewisse Anpassungsfähigkeit (Serumfestigkeit) den Abwehrstoffen gegenüber erlangt haben. Sie können trotz der Abwehrbestrebungen weiter wuchern und sogar rascher als zuvor wachsen, da ihnen durch die Operation, durch Entfernung des zu beträchtlicher Größe gewachsenen Tumors bessere Ernährungsbedingungen geschaffen sind.

Mit der Annahme einer athreptischen Immunität, wie sie bekanntlich von Ehrlich aufgestellt ist, läßt sich nach Uhlenhuth das Nichtangehen der zweiten Impfung nach rezidivfreier Operation des primären Tumors nicht erklären, da die Impfung nicht angeht, trotzdem nach Entfernung des ganzen primären Tumors relativ große Mengen der spezifischen Nährstoffe den implantierten Geschwulstzellen zur Verfügung stehen.

Apolant kam bei seinen Nachprüfungen über die Operationsimmunität zu anderen Schlußfolgerungen. Er verneint eine gesetzmäßige Beziehung zwischen dem Resultat der Operation und dem Angehen der sekundären Impfung und erklärt das Angehen der Nachimpfung bei Rezidivtieren dadurch, daß nach Entfernung der Hauptmasse des primären Tumors genügend spezifische Nährstoffe im Sinne der Ehrlich'schen Athrepsie vorhanden seien und weil keine Zellresorption von seiten des Rezidivtumors stattgefunden habe. Zur Erklärung des Nichtangehens der sekundären Impfung nach rezidivfreier Operation nimmt er verschiedene Gründe an.

Abgesehen von dem Hinweis auf die bei Rattentumoren häufige Spontanresorption selbst großer Geschwülste, die für unseren Versuch nicht die Bedeutung hat, da, wie bereits erwähnt, unter einer großen Zahl geimpfter Mäuse nur eine geringe Spontanheilung kleiner, höchstens erbsengroßer Tumoren innerhalb 14 Tagen beobachtet wurde und Tumoren derartiger Kleinheit niemals operiert worden sind, hebt Apolant die krankmachende, und damit Immunität erzeugende Schädigung der Operation hervor. Es ist ohne weiteres zuzugeben, daß die Operation bei Mäusen einen manchmal recht bedeutenden Eingriff darstellt, daß eine Anzahl der Tiere die Operation größerer Tumoren nicht übersteht, resp. eine gewisse Zeit braucht, um sich von der Schädigung zu erholen. Andererseits ist es aber überraschend und wird auch von Apolant angegeben, wie gut dieser operative Eingriff von den meisten Tieren vertragen wird, wie schnell sich die Mäuse, manchmal in sehr kurzer Zeit, wieder erholen. In unseren Versuchen ist nun die Nachimpfung allgemein erst dann vorgenommen worden, wenn das Tier sich völlig munter zeigte. Meidner hat in seiner Arbeit hervorgehoben, daß es bei zweien seiner

rezidivfrei operierten Ratten trotz Ausglühens der Wunde zu gut wachsenden Nachimpftumoren kam. Auch bei unseren Versuchen kam es zu manchen gut wachsenden Nachimpftumoren bei rezidivfreier Operation, wie besonders Maus No. 1 zeigt.

Russell verneint ebenfalls irgendeinen direkten Einfluß der Operationsschädigung auf die Empfänglichkeit eines Tieres bei der Nachimpfung, da er nach der operativen Entfernung von Tumoren eines bestimmten Stammes alle Nachimpfungen angehen sah, während er das entgegengesetzte Resultat nach der Entfernung von Tumoren eines anderen Stammes erhielt. Die immunisierende Wirkung der Operationsschädigung kann also unseres Erachtens nach nicht zur Erklärung herangezogen werden.

Den Hauptgrund für das Nichtangehen der Nachimpfung bei rezidivfreier Operation sieht Apolant in der Ausbildung einer aktiven Immunität, die durch Resorption „kleiner, dem Auge entgangener Tumorreste“ verursacht werde. Größere Geschwulststücke, die breitere Verbindung mit der Zirkulation haben, seien dieser Gefahr nicht so ausgesetzt. Deshalb ginge die Nachimpfung bei rezidivfreier Operation dann an, wenn die Operation ohne sonstige Schädigung der Tiere wirklich radikal ausgeführt worden sei, sie sei erfolglos, wenn Geschwulstpartikel durch Hautspannung oder sonstige Schädigung nekrotisch werden und zur Resorption gelangen, d. h. wenn die Operation nicht wirklich radikal ausgeführt worden sei. Mit dieser Erklärung Apolants stehen zwei bei unseren Versuchen gefundene Tatsachen nicht recht im Einklang. Wird mit der Möglichkeit gerechnet, daß bei jeder noch so radikalen Operation „kleine, dem Auge entgangene Tumorreste“ zurückbleiben, wie erklären sich dann die häufigen Rezidive nach radikaler Operation, die bei unseren Versuchen insgesamt in ca. 31,4 Proz. beobachtet wurden? In diesen Fällen sind doch sicher unabsichtlich kleine Tumorreste zurückgeblieben, die aber nicht der Resorption verfallen, sondern zu Rezidiven ausgewachsen sind. Wenn nun in $\frac{1}{8}$ der Fälle kleine, unabsichtlich zurückgebliebene Tumorpartikelchen zu Rezidiven auswachsen, so ist nicht recht einzusehen, warum sie in der übrigen Zahl der Fälle trotz gleicher Bedingungen

nicht zu Rezidiven auswachsen, sondern resorbiert werden. Der Schluß erscheint doch ebenso naheliegend, daß in diesen Fällen es zu keiner Rezidivbildung kommen konnte, weil eben radikal operiert worden war.

Ebenso spricht gegen die Ansicht Apolants die Beobachtung bei absichtlich unvollständiger Operation. Das Zurücklassen eines kleinen Restes Tumorgewebes hat hier in sämtlichen 12 Fällen zu gut wachsenden Rezidiven geführt. Sind nun auch, wie Apolant hervorhebt, derartig größere Geschwulststückchen deswegen der Gefahr der Resorption nicht so ausgesetzt, weil sie breitere Verbindung mit der Zirkulation haben, so werden doch beim Abtrennen des zurückzulassenden Geschwulststückchens mit der Schere eine Menge kleiner Tumorpartikelchen losgelöst, die den Bedingungen der Resorption genau so leicht ausgesetzt sind wie bei radikaler Operation. Trotzdem kann ihre Resorption, wenn sie stattfindet, nicht nur nicht das Angehen des Rezidivs verhindern, sondern läßt sogar ein gutes Wachstum des Rezidivs zu.

In der Regel führt das Zurücklassen eines kleinen Tumorrestes, wie das auch aus Apolants Versuchen hervorgeht, zu einem Rezidiv. Mit der Ausnahme, wie sie im Russellschen Versuch bereits oben erwähnt wurde, daß nach absichtlichem Zurücklassen von Tumorgewebe keine Rezidivbildung, sondern Resorption eintritt, ist für das Nichtangehen der Nachimpfung die Apolantsche Erklärung einer aktiven Immunisierung gut vereinbar.

Als einen weiteren Einwand gegen die Theorie Uhlenhuths führt Apolant die bei seinen Versuchen gefundene Tatsache an, daß die Nachimpfung zunächst gewöhnlich angehe und die Neubildung erst nach einiger Zeit allmählich resorbiert werde. Dieses von Apolant bei 33 Mäusen 11mal beobachtete Zurückgehen angegangener Impftumoren tritt bei unseren Versuchen nicht in dem Grade hervor. Nur 4mal ging eine deutlich angegangene Nachimpfung wieder zurück, in 3 Fällen war die Deutung zweifelhaft.

Auf der Entwicklung einer aktiven Immunität beruht nach Russell die Resistenz eines Tieres gegen eine zweite Impfung, doch hat nach seiner Ansicht auch die Beschaffenheit des Impfbodens bei dem geimpften Tier einen gewissen Einfluß. Russell

erklärt die scheinbaren Widersprüche, die auf dem Gebiete der Tumorimmunität vorhanden sind, durch das Differieren der verschiedenen Tumorparenchymgewebe in ihrem Vermögen, Resistenz gegen Tumorwachstum zu erzeugen. Es würde sich also bei unseren Versuchen im Russellschen Sinne um einen Tumorstamm handeln, der in hohem Maße befähigt ist, bei unseren Mäusen eine Resistenz gegen nachfolgende Impfung herbeizuführen. Ob andere Stämme sich bei unseren Versuchstieren anders verhalten, konnte von uns nicht nachgeprüft werden, da uns nur dieser eine Tumorstamm zur Verfügung stand.

Zusammenfassung.

Die vorliegenden Versuche haben zu Ergebnissen geführt, die mit denen von Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen übereinstimmen.

1) Bei rezidivfrei ausgeführter Radikaloperation gut ausgewachsener Tumoren unseres Mäusecarcinoms sind die Tiere in einem hohen Prozentsatz (= 86,2 Proz.) gegen eine Nachimpfung mit demselben Stamm refraktär.

2) Bei nicht rezidivfrei ausgeführter Operation kam es in fast allen Fällen (= 94,4 Proz.) zu einem Angehen der zweiten Impfung.

3) Bei absichtlich unvollständig ausgeführter Operation bekamen sämtliche Tiere ein Rezidiv und die Nachimpfung ging in allen Fällen an.

4) Die Dauer der Operationsimmunität ließ sich bei unseren Versuchen noch bis zu 127 Tagen nachweisen. Bei größerem Zeitintervall stört die Altersresistenz der älter werdenden Tiere eine Prüfung der Dauer der Operationsimmunität.

Literatur.

- 1) Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 36, H. 4.
- 2) — — — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910.
- 3) Sticker, Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 3.
- 4) — Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 21.
- 5) Schoene, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft f. Chir., 1907.
- 6) — Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 21.

- 7) Gay, zitiert nach Uhlenhuth.
- 8) Apolant, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.
- 9) Uhlenhuth, Med. Klinik, 1912, No. 37.
- 10) Meidner, Zeitschr. f. Krebsforsch., Bd. 11, H. 3.
- 11) Uhlenhuth, Dold und Bindseil, Vortrag, 6. Tag, Freie Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1912.
- 12) Händel und Schönburg, Vortrag, 6. Tag, Freie Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1912.
- 13) Morpurgo und Donati, Atti del I. Congresso internaz. dei Patologi, Turin 1911.
- 14) Russell, V. Scient. Report on the Invest. of the Imp. Canc. Research Fund, 1912.
- 15) Albrecht und Hecht, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 50.
- 16) Apolant, Sitzung des deutschen Zentralkomitees zur Erforsch. und Bekämpfung der Krebskrankh., Berlin 1911.
- 17) Bashford, Murray and Bowen, Ref. Centralbl. f. Bakt., 1909.
- 18) Ehrlich, Nederl. Tijdschr. v. Genesk., Bd. 1. Ref. Centralbl. f. Bakt., 1909.
- 19) Gierke, Zeitschr. f. Krebsf., Bd. 7, 1909.
- 20) Haaland, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 23.
- 21) Lurje, Russkij Wratsch, 1909, No. 48. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1909.
- 22) Uhlenhuth und Weidanz, Arb. a. d. Kais. Ges.-A., Bd. 30, 1909.
- 23) Borrel, Le Problème de Cancer, Paris 1907, zit. nach Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen.
- 24) Clowes, Brit. med. Journ., 1906, zit. nach Apolant.
- 25) Clunet, Recherches expérimentales sur les tumeurs malignes, Paris 1910.
- 26) Apolant, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 11.
- 27) Bashford, Berl. klin. Wochenschr., 1909, H. 36 u. 37.
- 28) — Murray and Cramer, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, 1909.

Controllen = 90 % pos.

1.

2.

3.

1.			2.			3.		
17.1.	I. Impf.		17.1.	I. Impf.		17.1.	I. Impf.	
24.1.			24.1.			24.1.		
31.1.			31.1.			31.1.		
6.2.			6.2.			6.2.		
22.2.		II. Impf.	22.2.		II. Impf.	22.2.		II. Impf.
29.2.			29.2.			29.2.		
7.3.			7.3.			7.3.		
14.3.			14.3.			14.3.		
21.3.			21.3.			21.3.		
28.3.			28.3.			28.3.		
4.4.			4.4.			4.4.		
11.4.			9.4.			11.4.		
18.4.				+	9.4.	18.4.		
	+	21.4.				25.4.		
						2.5.		
						9.5.		
						16.5.		
						23.5.		
						30.5.		
						6.6.		
						13.6.		
						20.6.		
						27.6.		

Bindeeile

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

Zit.

12

19

26

1:

9.

18

23

3

6

11

2

2

Controllen. = 76,9 % pos.

8.

9.

10.

11.

12.2.	I. Impf.		12.2.	I. Impf.		12.2.	I. Impf.		12.2.	I. Impf.	
19.2.			19.2.			19.2.			19.2.		
26.2.			26.2.			26.2.			26.2.		
1.3.	 op.		1.3.	 op.		1.3.	 op.		1.3.	 op.	
9.3.		II. Impf.	9.3.		II. Impf.	9.3.		II. Impf.	9.3.		II. Impf.
16.3.	○	○	16.3.	○	○	16.3.	?	?	16.3.	○	○
23.3.	○	○	23.3.	○	○	23.3.	•	•?	23.3.	○	○
30.3.	○	○	30.3.	○	○	30.3.	○	○	30.3.	○	○
6.4.	○	○	6.4.	○	○	6.4.	○	○	6.4.	○	○
13.4.	○	○	13.4.	○	○	13.4.	○	○	13.4.	○	○
20.4.	○	○	20.4.	○	○	20.4.	○	○	20.4.	○	○
27.4.	○	○	27.4.	○	○	27.4.	○	○	27.4.	○	○
4.5.	○	○	4.5.	○	○	4.5.	○	○	4.5.	○	○
11.5.	○	○	11.5.	†	6.5.	11.5.	○	○	11.5.	○	○
18.5.	○	○	18.5.			18.5.	○	○	18.5.	○	○
25.5.	○	○	25.5.			25.5.	○	○	25.5.	○	○
2.6.	○	○				2.6.	○	○		†	26.5.
8.6.	○	○				8.6.	○	○			
15.6.	○	○				15.8.	○	○			
22.6.	○	○				22.6.	○	○			
29.6.	†	24.6.				29.6.	○	○			
						6.7.	○	○			
						13.7.	○	○			
						20.7.	○	○			
							†	25.7.			

Bludenz

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, LMh., Jena.

Controllen = 76,9 % pos.

12.

13.

14.

15.

12.2.	I. Impf.		12.2.	I. Impf.		12.2.	I. Impf.		12.2.	I. Impf.	
19.2.			19.2.			19.2.			19.2.		
26.2.			26.2.			26.2.			26.2.		
1.3.	 op.		1.3.	 op.		1.3.	 op.		1.3.	 op.	
9.3.		II. Impf.	9.3.		II. Impf.	9.3.		II. Impf.	9.3.		II. Impf.
16.3.	○	?	16.3.	●	○	16.3.	○	○	16.3.	○	○
23.3.	○	●?	23.3.	●	●	23.3.	○	○	23.3.	○	○
30.3.	○	○	30.3.			30.3.	○	○	30.3.	○	○
6.4.	○	○				6.4.	○	○	6.4.	○	○
13.4.	○	○	6.4.			13.4.	○	○	13.4.	○	○
20.4.	○	○	13.4.			20.4.	○	○	20.4.	○	○
27.4.	○	○				27.4.	○	○	27.4.	○	○
4.5.	○	○	20.4.			4.5.	○	○	4.5.	○	○
11.5.	○	○					+	6.5.	11.5.	○	○
18.5.	○	○							18.5.	○	○
25.5.	○	○	27.4.						25.5.	○	○
	+	29.5.							2.6.	○	○
				+	2.5.					+	6.6.

Mikrod.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

16.			17.			18.		
16.1.	I. Impf.		22.2.	I. Impf.		22.2.	I. Impf.	
26.1.			29.2.			29.2.		
15.2.			7.3.			7.3.		
25.2.			14.3.			14.3.		
6.3.			21.3.			21.3.		
16.3.								
26.3.			28.3.			28.3.		
7.4.			7.4.			7.4.		
22.4.		II. Impf.	22.4.		II. Impf.	22.4.		II. Impf.
29.4.			29.4.			29.4.		
6.5.			6.5.			6.5.		
13.5.			13.5.			13.5.		
20.5.			20.5.			20.5.		
27.5.			27.5.			27.5.		
3.6.			3.6.			3.8.		
						10.8.		
10.6.			10.6.			17.6.		
						24.6.		
17.6.			17.6.			2.7.		
						9.7.		
24.6.			24.6.				+	12.7.
	+	2.7.		+	10.7.			

Madel

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiser, Lith., Jena.

22. 23. 24. 25.

6.4.	I. Impf.		6.4.	I. Impf.		6.4.	I. Impf.		6.4.	I. Impf.	
16.4.			16.4.			16.4.			16.4.		
19.4.			19.4.			19.4.			19.4.		
22.4.			22.4.			22.4.			22.4.		
26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.
3.5.			3.5.			3.5.			3.5.		
10.5.			10.5.	?	?	10.5.			10.5.		
17.5.			17.5.			17.5.			17.5.		
24.5.			24.5.			24.5.			24.5.		
31.5.			31.5.			31.5.			31.5.		
7.6.			7.6.			7.6.			7.6.		
	+	10/6	7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		
			7.6.			7.6.			7.6.		

Controllen = 100 % pos.

26.

27.

28.

29.

7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.	
17.4.			17.4.			17.4.			17.4.		
19.4.			19.4.			19.4.			19.4.		
23.4.			23.4.			23.4.			23.4.		
26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.
3.5.			3.5.			3.5.			3.5.		
10.5.			10.5.			10.5.			10.5.		
17.5.											
24.5.			17.5.			17.5.			17.5.		
31.5.											
7.8.			24.5.			24.5.			24.5.		
14.6.											
21.8.			24.5.			24.5.			24.5.		
28.6.											
5.7.			31.5.	†	28.5.	31.5.			31.5.		
12.7.		o?									
19.7.			31.5.	†	28.5.	31.5.			31.5.	†	2.6.
26.7.											
2.8.			31.5.	†	28.5.	31.5.			31.5.	†	2.6.
9.8.											
16.8.			31.5.	†	28.5.	31.5.			31.5.	†	2.6.
23.8.											
30.8.			31.5.	†	28.5.	31.5.			31.5.	†	2.6.
10.9.											

Bindweil †10.9.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

Controllen = 81,80% pos.

30.			31.			32.			33.			34.		
7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.	
17.4.			17.4.			17.4.			17.4.			17.4.		
23.4.	 op.		23.4.	 op.		23.4.	 op.		23.4.	 op.		23.4.	 op.	
26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.	26.4.		II. Impf.
3.5.			3.5.			3.5.		?	3.5.			3.5.		
10.5.			10.5.			10.5.			10.5.			10.5.		
17.5.			17.5.			17.5.			17.5.			17.5.		
24.5.			24.5.	+	17.5.	24.5.			24.5.			24.5.		
31.5.							+	23.5.	31.5.			31.5.		 mic.
7.6.	+	4.6.							7.6.			7.6.		 ulc.
14.6.									14.6.				+	8.6.
21.6.									21.6.					
28.6.									28.6.					
										+	29.6.			

Bindseil

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

Controllen = 87,5% pos.

35.			36.			37.			38.			39.		
7.4.	I. Impf.		7.4.	I. Impf.		12.4.	I. Impf.		12.4.	I. Impf.		12.4.	I. Impf.	
17.4.			17.4.			19.4.			19.4.			19.4.		
20.4.			20.4.			22.4.			22.4.			22.4.		
26.4.			26.4.			26.4.			26.4.			26.4.		
2.5.	II. Impf.		2.5.	II. Impf.		2.5.	II. Impf.		2.5.	II. Impf.		2.5.	II. Impf.	
9.5.			9.5.			9.5.			9.5.		?	9.5.		
16.5.			16.5.			16.5.			16.5.			16.5.		
23.5.			23.5.		?	23.5.			23.5.			23.5.		
30.5.			23.5.		?	23.5.			23.5.			30.5.		
6.6.			30.5.			30.5.			30.5.			6.6.		
13.6.			6.6.			6.6.			6.6.			13.6.		
20.6.			6.6.			6.6.			6.6.			20.6.		
27.6.			13.6.			13.6.	+	9.6.	13.6.	+	10.6.	27.6.		
4.7.			13.6.			13.6.	+	9.6.	13.6.	+	10.6.	4.7.		
11.7.			20.6.									11.7.		
18.7.			20.6.									18.7.		
25.7.			27.6.									25.7.		
1.8.			27.6.									1.8.		
7.8.			4.7.									7.8.		
14.8.			4.7.									14.8.		
21.8.			10.7.									21.8.		
28.8.			10.7.									28.8.		

Bindsel

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

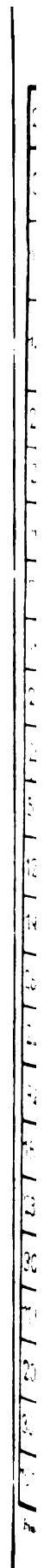
Controllen = 69,2 % pos.

60.			61.			62.			63.			64.		
23.4.	I. Impf.		23.4.	I. Impf.		23.4.	I. Impf.		23.4.	I. Impf.		23.4.	I. Impf.	
30.4.			30.4.			30.4.			30.4.			30.4.		
6.5.			6.5.			6.5.			6.5.			6.5.		
13.5.			13.5.			13.5.			13.5.			18.5.		
20.5.			20.5.			20.5.			20.5.			20.5.		
27.5.			27.5.			27.5.			27.5.			27.5.		
3.6.			3.6.			3.6.			3.6.			3.6.		
6.6.			6.6.			6.6.			6.6.			6.6.		
7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.
14.6.			14.6.			14.6.			14.6.			14.6.		
21.6.		?	21.6.			21.6.		?	21.6.			21.6.		
28.6.			28.6.			28.6.			28.6.			28.6.		
5.7.			5.7.			5.7.			5.7.			5.7.		
12.7.			12.7.			12.7.			12.7.			12.7.		
			19.7.						19.7.			19.7.		
19.7.			26.7.			19.7.			26.7.			26.7.		
26.7.			2.8.			26.7.			2.8.			2.8.		
			9.8.						9.8.			9.8.		
2.8.			16.8.			+	26.7.	16.8.			16.8.			
9.8.			23.8.					23.8.	+	17.8.	23.8.			
			30.8.					+	24.8.					
			6.9.											

Bindezettel

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



Controllen = 69,2% pos.

65.			66.			67.			68.			69.					
26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.				
3.5.			3.5.			3.5.			3.5.			3.5.					
10.5.			10.5.			10.5.			10.5.			10.5.					
14.5.			14.5.			14.5.			14.5.			14.5.					
21.5.	○		21.5.	○		21.5.	○		21.5.	○		21.5.	○				
28.5.	○		28.5.	○		28.5.	○		28.5.	○		28.5.	○				
4.6.	○		4.6.	○		4.6.	○		4.6.	○		4.6.	○				
7.6.	○	II. Impf.	7.6.	○	II. Impf.	7.6.	○	II. Impf.	7.6.	○	II. Impf.	7.6.	○	II. Impf.			
14.6.	○	○	14.6.	○		14.6.	○	○	14.6.	○	○?	14.6.	○	○			
21.6.	○	○	21.6.	○		21.6.	○	○	21.6.	○	○	21.6.	○	○			
28.6.	○	○	28.6.	○		28.6.	○	○	28.6.	○	○	28.6.	○	○			
5.7.	○	○	28.6.	○		5.7.	○	○	5.7.	○	○	5.7.	○	○			
12.7.	○	○	5.7.	○		12.7.	○	○	12.7.	○	○	12.7.	○	○			
19.7.	○	○				19.7.	○	○	19.7.	○	○	19.7.	○	○	19.7.	○	○
26.7.	○	○	12.7.	○		26.7.	○	○	26.7.	○	○	26.7.	○	○			
2.8.	○	○				2.8.	○	○	2.8.	○	○	2.8.	○	○	2.8.	○	○
9.8.	○	○	19.7.	○		9.8.	+	4.8.	9.8.	○	○	9.8.	○	○			
16.8.	○	○				16.8.			16.8.	○	○	16.8.	○	○	16.8.	○	○
23.8.	○	○									+	20.8.	23.8.	○	○	○	
30.8.	○	○	26.7.	○								30.8.	○	○			
11.9.	○	○												+	30.8.		
20.9.	○	○															
30.9.	○	○															
10.10.	○	○		+	3.8.												

Basel

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weis, Lith., Jena.

Controllen = 69,2% pos.

70.			71.			72.			73.		
26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.	
3.5.			3.5.			3.5.			3.5.		
10.5.			10.5.			10.5.			10.5.		
14.5.	op.		14.5.	op.		14.5.	op.		14.5.	op.	
21.5.			21.5.			21.5.			21.5.		
28.5.			28.5.			28.5.			28.5.		
4.6.			4.6.			4.6.			4.6.		
7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.	7.6.		II. Impf.
14.6.		o?	14.6.			14.6.		?	14.6.		
21.6.			21.6.			21.6.		o?	21.6.		
28.6.			28.6.			28.6.			28.6.		
			5.7.			5.7.			5.7.		
5.7.			12.7.			12.7.			12.7.		
			19.7.			19.7.			19.7.		
12.7.			26.7.			26.7.			26.7.		
			2.8.			2.8.			2.8.		
19.7.			9.8.			9.8.			9.8.		
			16.8.			16.8.			16.8.		
28.7.			23.8.			23.8.			23.8.		
			30.8.			30.8.			30.8.		
2.8.			11.9.				+	1.9.	11.9.		
			20.9.							+	11.9.
9.8.				+	22.9.						
	+	12.8.									
		ulc.									

Bindsell

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

Controllen = 70,0% pos.

74.

75.

76.

22.4.	I. Impf.		22.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.	
29.4.	o?		29.4.	!		30.4.	o?	
6.5.	i		6.5.	!		6.5.	!	
13.5.	!		13.5.	!		13.5.	!	
21.5.	! op.		21.5.	! op.		21.5.	! op.	
4.6.	o		4.6.	o		4.6.	o	
18.6.	o		18.6.	o		18.6.	!	
6.7.	o	II. Impf.	6.7.	o	II. Impf.	6.7.	!	II. Impf.
16.7.	o	o	16.7.	o	o	16.7.	!	o
23.7.	o	o	23.7.	o	o	23.7.	!	o?
30.7.	o	o	30.7.	o	o	30.7.	!	!
7.8.	o	o?	7.8.	o	o	7.8.	!	!
14.8.	o	o?	14.8.	o	?			
21.8.	o	!	21.8.	?	?	14.8.	!	!
28.8.	o	!	28.8.	?	o?			
4.9.	o	!	4.9.	!	o?	21.8.	!	!
11.9.	o	!	11.9.	!	!			
18.9.	o	!	18.9.	!	!			
25.9.	o	!	25.9.	!	!	28.8.	!	!
	+	27.9.	3.10.	!	!			
			15.10.	!	!			
			30.10.	! ulc.	! ulc.		+	29.8.

Biedszil

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lfth., Jena.

77.

78.

79.

26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.		26.4.	I. Impf.	
3.5.			3.5.			3.5.		
10.5.			10.5.			10.5.		
17.5.			17.5.			17.5.		
21.5.	 op.		21.5.	 op.		21.5.	 op.	
4.6.			4.6.			4.6.		
18.6.			18.6.			18.6.		
6.7.		II. Impf.	6.7.		II. Impf.	6.7.		II. Impf.
16.7.			16.7.			16.7.		
23.7.			23.7.			23.7.		
30.7.			30.7.			30.7.		
7.8.			7.8.			7.8.		
14.8.			14.8.			14.8.		
21.8.			21.8.			21.8.		
28.8.			28.8.			28.8.		
4.9.			28.8.			4.9.		
11.9.			11.9.			11.9.		
	†	11.9.	4.9.			19.9.		
			11.9.		 etc.	29.9.		
			19.9.		 etc.	10.10.		
						17.10.		
						24.10.		

Reinold

†

28.9.

P. Weiss, Lith., Jena.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Original from

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Controllen=66,7 % pos.

80.			81.			82.			83.			84.		
10.4.	I. Impf.		10.4.	I. Impf.		10.4.	I. Impf.		10.4.	I. Impf.		10.4.	I. Impf.	
17.4.	!		17.4.	•		17.4.	•		17.4.	•		17.4.	•	
23.4.	!		23.4.	•		23.4.	•		23.4.	•		23.4.	•	
27.4.	! op.		27.4.	• op.		27.4.	• op.		27.4.	• op.		27.4.	• op.	
11.5.	○		11.5.	○		11.5.	○		11.5.	○		11.5.	○	
25.5.	○		25.5.	○		25.5.	○		25.5.	○		25.5.	○	
9.6.	○		9.6.	○		9.6.	○		9.6.	○		9.6.	○	
23.6.	○		23.6.	○		23.6.	○		23.6.	○		23.6.	○	
26.6.	○ II. Impf.		26.6.	○ II. Impf.		26.6.	○ II. Impf.		26.6.	○ II. Impf.		26.6.	○ II. Impf.	
3.7.	○ ○		3.7.	○ ?		3.7.	○ ○		3.7.	○ ?		3.7.	○ o?	
10.7.	○ ○		10.7.	○ o?		10.7.	○ ○		10.7.	○ ○		10.7.	○ •	
17.7.	○ ○		17.7.	○ •		17.7.	○ ○		17.7.	○ ○		17.7.	○ •	
24.7.	○ ○		24.7.	○ •		24.7.	○ ○		24.7.	○ ○		24.7.	○ •	
31.7.	○ ○		31.7.	○ •		31.7.	○ ○		31.7.	○ ○		31.7.	○ •	
8.8.	○ ○		8.8.	○ •		8.8.	○ ○		8.8.	○ ○		8.8.	○ •	
15.8.	○ ○		15.8.	○ •		15.8.	○ ○		15.8.	○ ○		15.8.	○ •	
	+	16.8.	8.8.	○ •		23.8.	○ ○		23.8.	○ ○		8.8.	○ •	
			30.8.	○ ○		30.8.	○ ○		30.8.	○ ○				
			15.8.	○ •		7.9.	○ ○		7.9.	+	31.8.	15.8.	○ •	
			14.9.	○ ○		14.9.	○ ○							
			23.8.	○ •		21.9.	○ ○						+	16.8.
				+	25.8.		+	23.9.						

Mikrofil






































































































Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

85

86.

87.

2.5.	I. Impf.		2.5.	I. Impf.		2.5.	I. Impf.	
10.5.			10.5.			10.5.		
17.5.			17.5.			17.5.		
22.5.			22.5.			22.5.		
29.5.			29.5.			29.5.		
10.6.			10.6.			10.6.		
24.6.			24.6.			24.6.		
9.7.			9.7.			9.7.		
22.7.		II. Impf.	22.7.		II. Impf.	22.7.		II. Impf.
30.7.			30.7.		?	30.7.		
7.8.			7.8.			7.8.		
14.8.			14.8.			14.8.		
21.8.			21.8.			21.8.		
28.8.			28.8.					
4.9.			4.9.			28.8.		
11.9.			11.9.					
20.9.			20.9.			4.9.		
28.9.			28.9.					
10.10.			10.10.			11.9.		
20.10.			20.10.					
30.10.			30.10.			11.9.	+	15.9.
10.11.			10.11.					
20.11.			20.11.					

Moskoff

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Watson, L.N.H., Jena.

Controllen = 60,0 % pos.

91.			92.			93.			94.			95.		
10.5.	I. Impf.		10.5.	I. Impf.		13.5.	I. Impf.		13.5.	I. Impf.		13.5.	I. Impf.	
21.5.			21.5.			21.5.			21.5.			21.5.		
28.5.			28.5.			28.5.			28.5.			28.5.		
4.6.			4.6.			4.6.			4.6.			4.6.		
18.6.			18.6.			18.6.			18.6.			18.6.		
2.7.			2.7.			2.7.			2.7.			2.7.		
16.7.			16.7.			16.7.			16.7.			16.7.		
30.7.			30.7.			30.7.			30.7.			30.7.		
14.8.			14.8.			14.8.			14.8.			14.8.		
28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.
4.9.			4.9.			4.9.			4.9.			4.9.		?
11.9.			11.9.			11.9.			11.9.			11.9.		
			20.9.			20.9.			20.9.			20.9.		
20.9.			28.9.			28.9.			28.9.			28.9.		
28.9.			10.10.			10.10.			10.10.				10.10.	
			20.10.			20.10.			20.10.			20.10.		
10.10.			30.10.			30.10.			30.10.			20.10.		
20.10.			10.11.			10.11.			10.11.				20.10.	
			20.11.			20.11.			20.11.			20.11.		
30.10.			20.11.			24.11.	30.11.		30.11.			30.10.		
				†		10.12.			10.12.				10.12.	
30.10.							20.12.		20.12.	†	14.12.			
						30.12.								
†	2.11.					†	30.12.					10.11.		
						†						†		12.11.

Bindeeile

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weiss, Lith., Jena.

Controllen = 60,0% pos.

96.			97.			98.			99.		
21.5.	I. Impf.		21.5.	I. Impf.		21.5.	I. Impf.		21.5.	I. Impf.	
28.5.			28.5.			28.5.			28.5.		
3.6.			3.6.			3.6.			3.6.		
6.8.			6.8.			6.8.			6.8.		
20.6.			20.8.			20.6.			20.8.		
2.7.			2.7.			2.7.			2.7.		
16.7.			16.7.			16.7.			16.7.		
30.7.			30.7.			30.7.			30.7.		
14.8.			14.8.			14.8.			14.8.		
28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.	28.8.		II. Impf.
4.9.			4.9.			4.9.		?	4.9.		
11.9.			11.9.			11.9.			11.9.		
20.9.			20.9.			20.9.			20.9.		
30.9.			30.9.			30.9.			30.9.		
			10.10.						10.10.		
10.10.			20.10.			10.10.			20.10.		
20.10.				+	23.10.						
										10.11.	
30.10.									20.11.		
10.11.										+	25.11.
	+	15.11.									

Reinhold

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weitz, Lith., Jena.

100.

101.

102.

6.7.	I. Impf.		3.8.	I. Impf.		20.7.	I. Impf.	
18.7.	•?		13.8.	●		30.7.	●	
23.7.	•?		23.8.	●		6.8.	●	
30.7.	•?		28.8.	● _{op}		13.8.	●	
6.8.	●		11.9.	○		20.8.	●	
13.8.	●		25.9.	○		28.8.	● _{op}	
20.8.	●		9.10.	○		11.9.	○	
28.8.	● _{op}		23.10.	○		25.9.	○	
11.9.	○		6.11.	○		9.10.	○	
25.9.	○		18.11.	○	II. Impf.	23.10.	○	
9.10.	○		25.11.	○	○	6.11.	○	
23.10.	○		18.11.	○	II. Impf.	18.11.	○	II. Impf.
6.11.	○		2.12.	○	○	25.11.	○	○
18.11.	○	II. Impf.	9.12.	○	○	2.12.	○	○
25.11.	○	○	16.12.	○	○	9.12.	○	○
2.12.	○	○	23.12.	○	○	16.12.	○	○
9.12.	○	○	30.12.	○	○	23.12.	○	○
16.12.	○	○	8.1.	○	○	30.12.	○	○
23.12.	○	○		†	10.1.		†	30.12.
	†	24.12.						

Reinhold

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Wetz, Lith., Jena.

Controllen = 62,5 % pos.

103.			104.			105.			106.			107.		
22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.	
29.5.			29.5.			29.5.			29.5.			29.5.		
3.6.			3.6.			3.6.			3.6.			3.6.		
7.6.			7.6.			7.6.			7.6.			7.6.		
21.6.			21.6.			21.6.			21.6.			21.6.		
5.7.			5.7.			5.7.			5.7.			5.7.		
19.7.			19.7.			19.7.			19.7.			19.7.		
30.7.			30.7.			30.7.			30.7.			30.7.		
14.8.			14.8.			14.8.			14.8.			14.8.		
28.8.			28.8.			28.8.			28.8.			28.8.		
11.9.			11.9.			11.9.			11.9.			11.9.		
26.9.			26.9.			26.9.			26.9.			26.9.		
12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.
19.10.			19.10.		?	19.10.		o?	19.10.			19.10.		
26.10.			26.10.			26.10.			26.10.			26.10.		
2.11.			2.11.			2.11.			2.11.			2.11.		
9.11.			9.11.			9.11.			9.11.			9.11.		
16.11.			16.11.			16.11.			16.11.			16.11.		
23.11.			23.11.			23.11.	†	19.11.	23.11.			23.11.		
30.11.			30.11.							†	24.11.	7.12.		
	†	5.12.		†	30.11.							14.12.		
												21.12.		
												28.12.		

Modell

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weles, Lith., Jena.

Controllen = 62,5 % pos.

108.

109.

110.

111.

22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.		22.5.	I. Impf.	
29.5.			29.5.			29.5.			29.5.		
3.6.			3.6.			3.6.			3.6.		
7.6.	 op.		7.6.	 op.		7.6.	 op.		7.6.	 op.	
21.6.			21.6.			21.6.			21.6.		
5.7.			5.7.			5.7.			5.7.		
30.7.			30.7.			30.7.			30.7.		
28.8.			28.8.			28.8.			28.8.		
26.9.			26.9.			26.9.			26.9.		
12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.	12.10.		II. Impf.
19.10.		o?	19.10.			19.10.			19.10.		
26.10.			26.10.			26.10.			26.10.		
2.11.			2.11.			2.11.			2.11.		
9.11.			9.11.			9.11.			9.11.		
16.11.			16.11.			16.11.			16.11.		
23.11.			23.11.			23.11.			23.11.		
30.11.			30.11.			30.11.			30.11.		
7.12.		 Mo.	7.12.			7.12.		 Mo.	7.12.		
	+	10.12.	21.12.			21.12.		 Mo.	21.12.		
			28.12.			28.12.	+	 Mo.	28.12.	+	22.12.

Kindell

Vorlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Welen, Lith., Jena.

DATE DUE SLIP

UNIVERSITY OF CALIFORNIA MEDICAL SCHOOL LIBRARY

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

1 m 8, '27

