

THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

615.05
ZE
v. 35

~~NATURAL~~
~~BIOLOGY~~
~~HISTORY~~

BIOLOGY

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Aseoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Bail, Prag, E. F. Bashford, London, S. Belfanti, Mailand, A. Breinl, Liverpool, A. Dieudonné, München, R. Doerr, Basel, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Hamburg, M. Fieker, Berlin, S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, M. v. Gruber, München, L. Haendel, Berlin-Dahlem, M. Hahn, Freiburg i. B., A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, K. Kibkalt, Kiel, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Frankfurt a. M., W. Kruse, Leipzig, K. Landsteiner, Haag, C. Levaditi, Paris, L. v. Liebermann, Budapest, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, L. Michaelis, Berlin, Mießner, Hannover, J. Morgenroth, Berlin, R. Muir, Glasgow, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. v. Ostertag, Stuttgart, R. Otto, Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Plek, Wien, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, P. Schmidt, Halle a. S., Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Bern, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Weichardt, Erlangen, E. Weil †, Prag, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER
(Greifswald.)

R. KRAUS
(Sao Paolo.)

H. SACHS
(Heidelberg.)

P. UHLENHUTH
(Marburg a. L.)

Fünfunddreißigster Band

Mit 1 Tafel, einem Bildnis, 5 Abbildungen und 49 Kurven im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1923

Alle Rechte vorbehalten.

305
E
35

615.05
ZE
v. 35

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Bachmann, W. , Serologische Studien mit Hilfe des Zeißschen Flüssigkeitsinterferometers. II. Mitteilung	462
Bail, Oskar, Edmund Weil. Ein Nachruf (gehalten in der Sitzung des Vereins deutscher Aerzte in Prag am 23. Juni 1922). Mit einem Bildnis	2
Bleber, W. , siehe Uhlenhuth, P.	
Breinl, Friedrich , Variationserscheinungen in der Dysenteriegruppe .	176
Breinl, F., und Fischer, M. , Variationserscheinungen in der Paratyphusgruppe	205
Davide, H. , siehe Dernby, K. G.	
Dernby, K. G., und Davide, H. , Die Beziehung zwischen Wasserstoffionenkonzentration und Eucupinwirkung auf Diphtheriebazillen. Mit 1 Abbildung im Text	447
Dernby, K. G., und Näslund, Carl , Die Beziehung der Wachstumskurven einiger Mikroorganismen der Dysenterie-Coli-Gruppe zur Wasserstoffionenkonzentration	450
Felix, A. , Ueber Varianten der Proteus X-Stämme	57
Fischer, M. , siehe Breinl, F.	
Friedberger, E., und Schiff, F. , Weitere Beiträge zur experimentellen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens. Mit 7 Kurven im Text	268
Fukuhara, Y. , Beitrag zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums	482
Fürth, J. , Variationsversuche mit dem Bacillus typhi	133
Fürth, J. , Variationsversuche mit Paratyphus β (Weil). Mit 1 Abbildung im Text	155
Fürth, J. , Rezeptorenanalyse und Variationsversuche mit B. Paratyphus Aertryck	162
Gruschka, Theodor , Variationsversuche mit dem B. enteritidis Gärtner .	97
Grüter, W. , Untersuchungen über die Vakzineimmunität der Rindercornea. (Nachtrag zu der vorstehenden Arbeit von Uhlenhuth und Bieber : Untersuchungen zur Frage der wechselseitigen Vakzine- und Maul- und Klauenseucheimmunität bei Rindern und Meerschweinchen.)	330
Halbach, Eugen , Ueber die Haltbarkeit der Antikörper im Rotlauf- und Schweineseuchenserum	407

528832

Generated on 2019-01-13 01:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112027689683
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Hoffmann, W. H. , Vergleichende Blutuntersuchungen an Meerschweinchen bei experimenteller Infektion mit Gelbfieber und Weilscher Krankheit. Mit 19 Kurven im Text	488
Kondo, Seigo , Ueber den Einfluß des Salzgehaltes auf die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum	366
Näslund, Carl , siehe Dernby, K. G.	
Nathan, E. , Ueber die Aufhebung der Funktion alkoholischer Rinderherzextrakte durch Cobragift und ihre Bedeutung für die Theorie der Wassermannschen und Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion	392
Radosavljević, Alex. , Ueber das Komplement bei Malaria	429
Sammartino, U. , Beitrag zur Kenntnis und Anwendung einer neuen für Tuberkulose spezifischen Reaktion mit Pferdeserum (Busacca-Reaktion)	455
Sato, Kazufusa , Vergleichende Untersuchungen über den Heilwert hochwertiger und niederwertiger Diphtheriesera	344
Schiff, F. , Weitere Untersuchungen über den Rezeptorenapparat in der Paratyphusgruppe	292
Schiff, F. , siehe Friedberger, E.	
Singer, Ernst , Ueber hämolytische Sera. Mit 14 Kurven im Text .	191
Skrop, Franz , Ueber die Isolierung und Bestimmung der komplementbindenden Substanz syphilitischer Sera. I. Mitteilung. Mit 3 Abbildungen im Text	523
Traube, J. , Die Theorie der Oberflächenaktivität und die p_H -Theorie in ihrer Anwendung auf die Alkaloidwirkungen. Erwiderung an die Herren L. Michaelis und K. G. Dernby	539
Uhlenbuth, P. , und Bieber, W. , Untersuchungen zur Frage der wechselseitigen Vakzine- und Maul- und Klauenseucheimmunität bei Rindern und Meerschweinchen. Mit 1 Tafel	311
Vorbemerkung der Schriftleitung	1
Weil, E. , Variationserscheinungen bei X 19	25
Went, Stefan , Ueber die agglutinierende Wirkung der Serumfraktionen	503
Wolff-Eisner, A. , Experimentelle Beiträge zur Frage der Tuberkulinimmunität, speziell auch zu der der antigenen Wirkung des Tuberkulins. Mit 9 Kurven im Text	215

Heft 1/2 (S. 1—214) ausgegeben am 25. Oktober 1922.
 „ 3 (S. 215—310) „ „ 30. November 1922.
 „ 4 (S. 311—406) „ „ 28. Dezember 1922.
 „ 5/6 (S. 407—544) „ „ 30. Januar 1923.

Dem Andenken Edmund Weils.

23477
189 24

Vorbemerkung der Schriftleitung.

Die Arbeiten, die im Nachstehenden als besonderes Heft veröffentlicht werden, sind die letzten, die der leider so früh verstorbene Edmund Weil unterm 18. April noch persönlich an die Zeitschrift für Immunitätsforschung eingeschickt hat. Eine weitere große zusammenfassende Arbeit über Fleckfieber, die, wie er mir am 6. April schrieb, mit Hilfe einer reichen Subvention des tschechoslowakischen Gesundheitsministeriums an mehr als 2000 Meerschweinchen und zahlreichen anderen Versuchstieren angestellt war, hat er leider selbst nicht mehr im Manuskript vollendet, doch ist zu hoffen, daß sie durch seine treuen Mitarbeiter zum Abschluß gelangt. Auch sie war für diese Zeitschrift, in der alle die bahnbrechenden Arbeiten seiner letzten Jahre erschienen sind, bestimmt, obwohl ihm aus dem Ausland glänzende Angebote für die Veröffentlichung in einer dortigen Fachzeitschrift gemacht worden waren. Er aber blieb auch nach den staatlichen Veränderungen in seinem Vaterland und in der Not der Zeit der Zeitschrift treu, die alle die reichen Früchte seiner wissenschaftlichen Tätigkeit in den letzten Jahren gebracht hat.

Ein Bild von der hohen wissenschaftlichen Bedeutung des verstorbenen genialen Forschers wird im Nachstehenden Oskar Bail geben, der, mit ihm durch langjährige Freundschaft und gemeinsame Arbeit verbunden, dazu wie kein anderer berufen ist.

Die Schriftleitung erfüllt ihrem langjährigen und treuen Mitarbeiter gegenüber nur eine Ehrenpflicht, wenn sie nunmehr die letzten, von Weil selbst noch redigierten Arbeiten in einem Sonderheft und in der Reihenfolge veröffentlicht, in der es der Verstorbene selbst gewünscht hat.

F.

Edmund Weil.

Ein Nachruf

(gehalten in der Sitzung des Vereins deutscher Aerzte in Prag
am 23. Juni 1922).

Von Prof. Dr. **Oskar Bail.**

Mit einem Bildnis.

Mit Edmund Weil, der am Abende des 15. Juni im tiefsten Fleckfieberkoma seine Augen für immer schloß, ist eine der Größen bakteriologisch-serologischer Forschung, eine Zierde des ärztlichen Standes und seiner Universität dahingegangen. Aber nicht nur eine Zierde, mehr noch, eine



Hoffnung. Mit den 43 Jahren, die er erreicht hatte, stand er in der Blüte seiner Mannes- und Schaffenskraft, die nicht nur die Umgebenden und Gleichstrebenden beurteilen konnten, für die besonders die Arbeit seiner letzten Jahre unwiderlegliches Zeugnis gibt. Gerade jetzt erstreckte sich seine

Forschung und die von ihm selbst geleistete oder durch ihn geführte Arbeit auf drei Gebiete, die sein Scharfsinn in Zusammenhang gebracht hatte, von denen jedes für sich allein die ausschließliche Hingebung der meisten anderen Berufsgenossen in Anspruch genommen hätte. Was ihn dazu befähigte, war zunächst die verblüffende Kenntnis, die er sich in der Literatur seines Faches durch eine von keiner Zerstreuung abgelenkte Vertiefung in alle ihre Probleme erworben hatte, weiter seine experimentelle Gewandtheit, als Anlage angeboren, vervollkommen und aufs höchste ausgebildet durch ununterbrochene Uebung von etwa 20 Jahren, vor allem aber die durchdringende Geistesschärfe, die ihn bei der Auswahl seiner Fragestellungen leitete, die ihn hinter den schon gelösten Problemen immer neue erkennen ließ, welche Zusammenhänge durchschauen konnte, die tausend anderen verborgen geblieben wären. Wer Weil bei der Arbeit beobachtete, mußte den Eindruck des von Natur begnadeten Forschers erhalten, der keine Schwierigkeiten vorfindet, sondern sie aufsuchen muß, um in ihrer Beseitigung Genugtuung zu empfinden. Dazu kam seine Kritik, die er, unbestechlich, zuerst gegen sich selbst, dann aber auch gegen alle anderen ausübte, und die nichts war, als der Ausfluß einer Wahrheitsliebe, die sich bis zum Wahrheitsfanatismus steigern konnte und der Rücksicht auf eigenen Vorteil am allerfremdesten blieb. Weil ging einsam durchs Leben; sehr gering war die Zahl jener, die sich eines vertrauteren Umganges mit ihm rühmen konnten, noch weniger hat er Einblicke in sein Innenleben gegeben; wie reich es gleichwohl war, verriet sich nur gelegentlich in Gesprächen, die zeigten, daß sein Geist weit über die Grenzen seines Fachs hinausging. Wer mit Weil wissenschaftlich, selbst als Gegner, in Berührung kam, schied von ihm mit größter Achtung, wer ihm näher trat, mit Verehrung seiner angeborenen Vorzüge, jeder mit dem Gefühle, einen Mann vor sich gesehen zu haben. Sein allzu früher Tod ist das Verschwinden einer Erscheinung, deren es auf der Welt nicht allzu viele gibt, einer Persönlichkeit, deren wenige gleiche auf ein Jahrhundert kommen!

Weils Leben verlief, wenn man von seiner Beeinflussung durch die Ereignisse der Kriegszeit absieht, äußerlich ruhig.

1*

Er war im Jahre 1879 in Neustadl bei Haid in Westböhmen als Sohn eines kinderreichen Landwirtes geboren, besuchte die Schule seines Heimatstädtchens, das Gymnasium in Eger und Pilsen und bezog im Jahre 1897 die Prager Universität. Schon als Student beschäftigte er sich mit den zwei medizinischen Fächern, in deren Wahl er sich nur schwer entscheiden konnte, pathologische Anatomie und Bakteriologie. Auch als er am 25. März 1903 zum Dr. der Medizin promoviert wurde, hatte er die Entscheidung noch nicht getroffen, ging zuerst auf etwa 4 Monate nach Berlin, wo er bei Benda im Krankenhaus am Urban arbeitete, um nach seiner Rückkehr in das Institut Prof. Chiaris einzutreten, von wo aus er zwei Arbeiten kasuistisch-pathologischer Natur schrieb. Er bekleidete daselbst vom September 1904 bis Anfang 1905 die Stelle eines zweiten Assistenten, trat dann aber ganz ins Hygienische Institut über, wurde im Mai dieses Jahres Assistent desselben und hat seither ununterbrochen dem Institute angehört. Die Vorliebe für pathologische Anatomie blieb aber stets in ihm lebendig, und er erzählte gern aus seinen Kriegserlebnissen gerade über die pathologisch-anatomische Tätigkeit, die er auszuüben Gelegenheit hatte.

Im Jahre 1909 habilitierte er sich als Privatdozent für Hygiene auf Grund einer Arbeit über den Einfluß der Leukozyten auf die Aktivität des Blutserums; das Verzeichnis von Arbeiten, das er damals vorlegen konnte, umfaßte nicht weniger als 41 Nummern, ausnahmslos experimenteller, selbständiger Art. Schon im Jahre 1913 vom Professorenkollegium zum außerordentlichen Professor vorgeschlagen, erfolgte seine Ernennung, sicher nur durch die Kriegereignisse verzögert, im Mai 1915. Zu dieser Zeit war Weil einem großen Epidemielaboratorium am nördlichen Kriegsschauplatze zugeteilt, dessen Leitung er im November 1914 übernahm. Dauernd mit verantwortungsvollen hygienischen Aufgaben beschäftigt, fand er gleichwohl Zeit zu intensivster, von den schönsten Erfolgen begleiteter wissenschaftlicher Tätigkeit. Er lernte die Cholera in Sokal und Rawaruska gründlich kennen, später das Fleckfieber, welches bald das Hauptfeld für seine Forschung bilden sollte. Nach langem Aufenthalt in Radziwiloff kam Weil mit seinem Laboratorium nach Durazzo in Albanien

und von da in die Ukraine, wo er bis zum Zusammenbruche blieb. Ein deutliches Zeugnis für seine Gewissenhaftigkeit, aber auch für seine Umsicht und Energie ist es, daß er sein Laboratorium aus den damaligen heillos verworrenen Verhältnissen in abenteuerlicher Irrfahrt in die Heimat, als eines der wenigen unversehrt gebliebenen, zurückführen konnte.

Ohne sich auch nur Tage lang Ruhe zu gönnen, nahm er im Hygienischen Institute seine Arbeiten wieder auf. Endlich in den Besitz der seinem Range zukommenden Bezüge gelangt und zum Leiter der serologischen Abteilung des Hygienischen Institutes ernannt, wurde ihm durch eine größere Unterstützung des Gesundheitsministeriums Gelegenheit gegeben, Fleckfieberversuche in größerem Umfange anzustellen. Um die Rolle der Läuseinfektion und der Rickettsien bei dieser Krankheit aufzuklären, begab er sich in Begleitung von Doz. Breinl nach Polen. Dort geschah, ganz kurz vor seiner Rückreise, das Unglück, höchst wahrscheinlich, wie er selbst erzählte, durch Einspritzen des Darminhaltes passageweise infizierter Läuse ins Auge bei einer mißglückten Tierinjektion. Jedenfalls erfolgte die Infektion nicht am Krankenbette. Der Verlauf seiner Krankheit war ein unaufhaltsam rapider, am 15. Juni hatte Weil ausgelitten.

Von dem Reichtum der wissenschaftlichen Ergebnisse eines solchen Lebens einen kurzen Ueberblick zu geben, der auch nur annähernd den Verdiensten und der Bedeutung des Verewigten gerecht werden könnte, ist eine unerfüllbare Aufgabe. Das Vermächtnis, das Weil der wissenschaftlichen Welt hinterlassen hat, umfaßt fast genau 100 Veröffentlichungen, die bis auf ganz verschwindende Ausnahmen selbständig experimentellen Charakter haben und von denen viele für das Gebiet, auf dem sie sich bewegen, grundlegend sind. Es kann sich eigentlich nur um eine Einteilung dieses großartig reichen Stoffes handeln, dessen Erschöpfung viele Seiten in Anspruch nehmen würde.

Weils wissenschaftliche Tätigkeit begann mit Untersuchungen über die nicht spezifische Bakterienagglutination durch Gelatine, diesem frühen und vollkommenem Vorläufer eines erst später von Anderen vielbehandelten Gebietes, sowie mit der Beobachtung des Temperatureinflusses auf die Agglu-

tion, deren Optimum keineswegs bei 37, sondern bei über 50° liegt. Daran schlossen sich Untersuchungen über die bei 80—100° eintretende Desagglutination und deren Ursachen. Agglutinationsstudien begleiten von da an, in immer zunehmender Vertiefung, die Tätigkeit Weils bis in die letzte Zeit. An Typhusbazillen studierte er die hemmende Wirkung, welche Bakterienextrakte auf die Agglutination ausüben, auch dann, wenn das Agglutinin von den Bakterien bereits gebunden ist. Er legte die Unmöglichkeit einer Erklärung durch die unter dem Einflusse der Ehrlich'schen Theorie entstandene Annahme freier Rezeptoren dar und kam später noch wiederholt auf diesen Gegenstand zurück. Eine Reihe anderer serologischer Arbeiten über Präzipitation und Komplementbindung widmete er dem gleichen Gegenstande und wies so mit den verschiedensten Mitteln nach, daß die Annahme besonders bindender, haptophorer Gruppen für das Zustandekommen spezifischer Serumreaktionen nicht nur unnötig, sondern auch unmöglich sei; das aber war gerade der Kern der Ehrlich'schen Lehre gewesen, der gegenüber Weil immer eine kritische Haltung bewahrt hat. Nur kurz erwähnt seien in diesem Zusammenhange überaus sorgfältige Einzeluntersuchungen über die Wirkung des Komplementes, insbesondere bei der Hämolyse.

Der wesentlichste Fortschritt auf dem Gebiete der Bakterienagglutination, der in seinen Auswirkungen noch weit in die Zukunft reichen dürfte, hängt mit den Untersuchungen Weils über die Fleckfieberätiologie zusammen. Im Jahre 1915 züchtete er aus dem Harn eines fleckfieberkranken Arztes einen eigenartigen, von ihm selbst später als *Proteus* bestimmten Keim, der in spezifischer Weise mit dem Serum von Fleckfieberpatienten reagierte. Stellte Weil mit Hilfe dieses Bakteriums beim Kaninchen ein Serum her, so unterschied sich die durch dieses veranlaßte Agglutination einerseits durch ihre geringere Spezifität, andererseits durch ihr Aussehen von der durch Patientenserum bewirkten. Im ersteren Falle bildeten sich nur umfangreich-grobe, im zweiten kleine Flocken aus. Weil bezog diesen Befund sofort auf das Vorhandensein zweier verschiedener antigener Bestandteile, zweier Rezeptoren, im Bakterienleibe und vermochte alsbald den Beweis für diese Anschauung zu führen, indem es ihm gelang,

außer der progressiv wachsenden, sog. H-Form des Fleckfieberproteus, welche beide Rezeptoren hat, noch eine andere, die O-Form, zu gewinnen, welche nur mehr jenen Rezeptor besitzt, welcher die feinflockenden Agglutinine erzeugt. Es blieb seinem durchdringenden Scharfsinn nicht verborgen, daß es sich dabei keineswegs um einen einzelnen, sondern um den Sonderfall einer allgemein verbreiteten, bisher der Aufmerksamkeit gänzlich entgangenen Erscheinung handeln könne, wofür er in kürzester Zeit Beweise erbrachte. Er hatte, eine neue Frucht seiner Tätigkeit im Kriege, als Erreger einer besonderen, bald septischen Charakter annehmenden Darm-erkrankung in Wolhynien einen, seither als Paratyphus β bezeichneten Keim entdeckt, den er später in Albanien wieder auffand und einerseits mit einem gleichzeitig von Neukirch beschriebenen Bazillus, andererseits mit dem lange bekannten Fleischvergiftungs-Erreger „Voldagsen“ zusammenbringen konnte. Auch bei diesem fand sich eine Form, welche der H- und eine, welche der einrezeptorigen O-Form des Proteus entsprach. Mustergültig bleiben die anschließenden Untersuchungen, in welchen er die gleiche Doppelnatur der Rezeptoren für die ganze Typhusgruppe nachwies, wofür er in dem Verhalten der Bakterien gegen Hitze, Säure, Alkohol immer neue Beweise aufzufinden vermochte. Sofort gelang es auf Grund dieser Ermittlungen gewisse schwer deutbare Erscheinungen, wie z. B. das Verhalten von Typhus und Gärtnerbazillen in den entsprechenden Seren aufzuklären und Weil brachte bald seine Entdeckung mit einem anderen, höchst aktuellen Gebiete, dem der sog. Bakterienmutationen in Verbindung. Denn tatsächlich war ja bei Proteus die einrezeptorige O-Form aus der zweirezeptorigen H-Form spontan als Mutation entstanden, bei Paratyphus β hatten sich die diesen entsprechenden Formen epidemiologisch regionär getrennt auffinden lassen. Daraus ergab sich der Plan, das serologische Verhalten der besonders in der Typhus-Coli-Dysenteriegruppe so oft zu beobachtenden Mutationen eingehend zu studieren und damit ein Gebiet zu eröffnen, das durch die bisherigen sorgfältigen Untersuchungen von Weil selbst und seinen Mitarbeitern, Breinl, Gruschka, Fürth u. a. noch lange nicht erschöpft ist. Die praktische, hier nur anzudeutende

Folge bestand in der Sichtung der Agglutinationsverhältnisse, damit aber auch der verwandtschaftlichen Beziehungen innerhalb dieser trostlos verworrenen Gruppe.

Die Untersuchung der Bakterienaggressivität und die der darauf begründeten Immunität bildeten mit den ersten Gegenstand seiner wissenschaftlichen Arbeit und blieben dauerndes Objekt derselben.

Der Mikroorganismus, an dem Weil seine Versuche über Aggressivität begann, der Hühnercholerabazillus (später auch dessen Verwandte), war dafür hervorragend geeignet. Mit größter Infektionsfähigkeit ausgestattet, war er in fast allen seinen Beziehungen zum tierischen Organismus unerforscht. Es gelang Weil mit Leichtigkeit, im Exsudate tödlich infizierter Tiere Aggressin zu gewinnen und damit den entscheidenden Grundversuch anzustellen, der darin besteht, daß solche Flüssigkeiten im sterilen Zustande, ohne nennenswerte Giftwirkung oder sonstige Schädigung des Tieres, die Infektion mit dem zugehörigen Bazillus erleichtern und schwerer machen. Ebenso gelang die Lösung der zweiten Aufgabe, durch alleinige Vorbehandlung mit solchen „Aggressinen“ unter Ausschluß der Bakterien selbst, Tiere erfolgreich zu immunisieren. Dabei wies das Serum der immunisierten Tiere einen sehr hohen Schutzwert für normale Tiere auf, ergab also passive Immunität. Die Erklärung dieser Ergebnisse, der sich Weil anschloß und zu deren Verteidigung gegen die nicht ausbleibenden Angriffe er jederzeit bereit war, ist bekannt. Normalerweise ist der Tierkörper dem Eindringen von Bakterien und deren Vermehrung unzugänglich, da eine ganze Reihe von Abwehrmitteln, deren wenigste erst bekannt sind, dies verhindern. Um überhaupt infizieren zu können, muß daher ein Bazillus über die Fähigkeit verfügen, diese Abwehrkräfte lahmzulegen und die Gesamtheit der Mittel, die er für diesen Zweck aufzubringen vermag, bildet seine Aggressivität. Am höchsten ist diese für gewisse Tierarten unter anderen beim Hühnercholerabazillus und dessen nahen Verwandten ausgebildet und man kann sich ihre Aeußerung als die Sekretion von Stoffen vorstellen, welche die gerade in Betracht kommenden Schutzkräfte lähmen, ohne sonst den Tierkörper sichtlich schädigen zu müssen. Die Abscheidung dieser Stoffe, der

Aggressine, ist somit die Voraussetzung der Infektion. Auch ein Mikroorganismus, der künstlich, etwa durch subkutane Einspritzung in ein Tier hineingebracht wird, vermag erst dann z. B. in die Blutbahn vorzudringen und sich daselbst zu vermehren, wenn er durch sein sozusagen vorausgeschicktes Aggressin den tierischen Schutzapparat an den entscheidenden Stellen gelähmt hat. Es wird aber dann möglich sein können, die Aggressine im infizierten Tiere, etwa in Exsudaten seröser Höhlen u. dgl., aufzufinden und mit ihnen, nach Entfernung der Bakterien, die gleiche Lähmung der Körperschutzkräfte herbeizuführen, welche dann als Erleichterung einer gesetzten Infektion in Erscheinung tritt. Der Tierkörper aber ist seinerseits imstande, gegen die Aggressine der Bakterien, die nur insoweit Bestandteile des Bakterienkörpers sind, als Sekretionsprodukte es sein müssen, Gegenkörper auszubilden und damit eine Immunität hervorzubringen, die sich ausschließlich oder doch hauptsächlich gegen die Aggressine richtet. In einem solchen immunen Tiere braucht also der Bazillus keineswegs bakterizid vernichtet zu werden, er wird nur zum harmlosen Saprophyten, der schließlich dem Schicksale solcher verfällt.

Es war Weil vorbehalten, die wichtigsten Stützen zu dieser Anschauung beizubringen. Er konnte zeigen, daß tatsächlich im hühnercholeraimmunen Tiere die Bakterien lange am Leben bleiben, ja daß sie sich sogar darin (Meerschweinchen) ohne die geringste Schädigung des Tieres vermehren können, obwohl sie vollständig infektionstüchtig für alle normalen Tiere bleiben. Er zeigte weiter, in Erwiderung von Angriffen, die besonders Wassermann und Citron gegen diese Deutung richteten, daß eine Immunisierung mit Bakterienextrakten, als welche die genannten Autoren die Aggressine auffaßten, entweder überhaupt nicht oder nur so notdürftig gelingt, daß der erzielte Erfolg ungezwungen durch die Spuren von Aggressin erklärt werden kann, welche im Bakterienleibe vorgebildet sein und in dessen Auszüge übergehen müssen. Es gelang ihm weiter für das Hühnercholeraaggressin zu zeigen, daß sich dasselbe durch seine mangelnde Filtrabilität von den gewöhnlichen Bakterienextrakten unterscheidet. Die wichtigsten Ergebnisse erhielt er aber durch die genaue Untersuchung der passiv schützenden Hühnercholeraseren. Alle mit

Hilfe von Bakterienleibern oder deren Auszügen gewonnenen Gegenkörper, Bakteriolyse, Agglutinine, Opsonine u. s. f., lassen sich durch Behandlung mit den zugehörigen Bakterien unwirksam machen, binden, die Antiaggressine im allgemeinen aber nicht. In dieser Hinsicht schließen sie sich vollständig den Antitoxinen an, mit denen auch sonst Aehnlichkeit besteht, die freilich weit von Identität entfernt ist.

Vertiefte Studien lehrten Weil dann, daß man durch sehr intensive Vorbehandlung von Tieren mit Aggressin oder lebenden Bazillen (diese Immunisierung mit den lebenden Infektionserregern wurde seit jeher als Aggressinimmunisierung aufgefaßt) Seren erhalten könne, welche neben dem antiaggressiven noch einen bakteriziden Anteil enthalten. Die Erklärung machte keine Schwierigkeiten, da jedes im Tiere gebildete Aggressin, z. B. Exsudat, in Wahrheit nur eine sehr unreine Aggressinverdünnung ist, welcher sehr wohl noch andere Stoffe, z. B. gewöhnliche Bakterienleiber, beigemischt sein können, ja müssen. Diese ergeben nun die Ausbildung von Gegenkörpern gegen die Leibessubstanz bakterizider Natur. Solche können sogar im Tierversuche eine bemerkenswerte Wirkung entfalten; spritzt man nämlich mit einem solchen Serum gleichzeitig sehr große Bakterienmengen lebend ein, so überleben die Tiere. Wurde aber das Serum vorher mit reichlichen toten Bazillen behandelt, welche alle bakteriziden Gegenkörper gebunden haben müssen, so sinkt die schützende Wirkung des Serums bei gleichzeitiger intraperitonealer Bakterieninjektion sehr stark, scheint manchmal sogar ganz aufgehoben. Gleichwohl ist die Antiaggressivität erhalten, was Weil in der Weise zeigen konnte, daß er das mit Bakterien vorbehandelte Serum vorzeitig und an anderer Stelle injizierte. Bei dieser Anordnung zeigte sich die Schutzwirkung ungeschwächt erhalten. Damit war in klarster Weise die Unabhängigkeit der antiaggressiven von der bakteriziden Immunität dargetan, damit aber auch die grundverschiedene Natur der veranlassenden Antigene.

Weitere Untersuchungen betrafen die Aggressivität des Streptococcus, für den Weil die infektionserleichternde Eigenschaft von Kaninchenexsudaten für Meerschweinchen, sowie die Möglichkeit beschrieb, letztere aktiv zu immunisieren,

während es später (mit einem anderen Streptokokkenstamm) nicht gelang, von Kaninchen durch alleinige Aggressinbehandlung ein schützendes Serum zu erhalten.

Mit dem Bazillus der Schweineseuche gelangen Immunsierungen nicht bloß an den gewöhnlichen Laboratoriumstieren, sondern auch an Schweinen selbst, wie Weil vor einer eigens dafür eingesetzten Kommission demonstrieren konnte.

Eigentümliche Befunde lieferte das Suchen nach Aggressinen beim Staphylococcus; hier wurden sehr nahe Beziehungen zu Giften festgestellt, die der Coccus im Tierkörper bildet, die aber durch normale Leukozyten vollständig paralysiert werden.

Nur kurz sei hier auf die Tierversuche Weils mit dem Heubazillus hingewiesen, der unter Umständen sehr erhebliche krankmachende Wirkungen mit Giftbildung zu entfalten vermag. Weil hat später den Heubazillus vielfach mit Vorteil für Untersuchungen über Leukozytenwirkung herangezogen. Bei dieser kommt die Nichtübereinstimmung zwischen der im Reagenzglase auftretenden Bakterizidie und den Befunden im Tierkörper wie bei Versuchen mit Serum und Blut in Betracht, welche eine Verwertung des bakteriziden Plattenversuches so sehr erschwert. Dazu tritt dann die Frage der gegenseitigen Beziehung zwischen keimfeindlichen Zell- und Serumwirkungen, die insbesondere durch die Schule Metschnikoffs als genetische angesehen wurde. Eine ganze Reihe von Untersuchungen hat Weil mit seinen Mitarbeitern diesen Fragen gewidmet und sehr wichtige Erfolge erzielt. Zunächst konnte er, wie schon Buchner, Hahn, Schattenfroh, Schneider u. a., zeigen, daß die bakteriziden Leukozytenstoffe durch ihre Eigenschaften, insbesondere durch ihre Hitzebeständigkeit, von den bakteriziden Serumkörpern mit ihrem Zusammenwirken von Immunkörper und Komplement (Alexin) zu trennen seien. Eine Beziehung derselben zur Hämolyse, welche Metschnikoffs Schule für die Stoffe der Makrophagen annahm, ließ sich überhaupt nicht auffinden. Gleichwohl ergaben Weils Studien Anhaltspunkte für ein eigenartiges Zusammenwirken von Zellen und Flüssigkeiten des Tierkörpers, welche die Frage zuließen, ob in den ersteren nicht, wenigstens für bestimmte Fälle, ein Anteil einer kom-

plexen Wirkung vorhanden sei. Er hatte nämlich unter Benützung des *Bacillus subtilis* gefunden, daß dieser durch eine Mischung von Meerschweinchenleukozyten (oder Auszügen solcher) und Serum energisch abgetötet wird, während die einzelnen Bestandteile der Mischung für sich ohne Wirkung sind. Eine genauere Untersuchung lehrte, daß dabei die Leukozyten nach Art eines Komplementes mit einem im Serum vorhandenen Immunkörper, den Weil als „leukotaktisch“ bezeichnete, tätig sind, ohne daß deswegen dieses Zellkomplement, das hitzebeständig ist, dem Serumkomplement gleichgesetzt werden könnte. Es liegt hier vielmehr eine neue Art von komplexer Tätigkeit des Organismus vor. Sie spielt sich oft, wie geeignete Versuche zeigen, im Innern von Zellen ab, wo dann die Opsonine des Serums einzugreifen vermögen, gelegentlich aber können die Zellstoffe auch in die Körperflüssigkeit übergehen, was allerdings nur dort zu erfolgen scheint, wo Zellen in großer Menge vorhanden sind, wie dies etwa für die Flüssigkeit der steril gewonnenen Exsudate der Meerschweinchenbauchhöhle zutrifft. Diese kann dann im Gegensatze zu Serum Heubazillen abtöten. Behandlung mit Bakterien hebt die Wirkung, und zwar in nicht-spezifischer Weise auf.

Später gelang es Weil, in harmlosen Luftbakterien (meist Sarcinen), die er zum Tierversuche heranzog, Organismen aufzufinden, gegen die das Meerschweinchen so gut wie absolut immun war und welche von Leukozyten und ihren Auszügen in einem bisher noch nicht bekannten Maße vernichtet wurden, auch wenn die Körpersäfte vollständig ausgeschaltet waren. Bei einem als F bezeichneten Kokkenstamme kam es unter dem Einflusse von Leukozyten in NaCl-Lösung zu einem vollständigen Verschwinden der Kokken und zu einer völligen Klärung trüber Aufschwemmungen derselben. Diese Zellstoffe mußten leicht in Lösung gehen können, da schon ein 1—2-, ja selbst $\frac{1}{4}$ stündiger Aufenthalt der Zellen genügte, um die Aufschwemmungsflüssigkeit bakterizid zu machen und sie mußten in sehr großer Menge vorhanden sein, da auch eine mehrfach wiederholte Extraktion der gleichen Zellen möglich war. Lebende und abgetötete Zellen verhielten sich gleich, Vitalität und Phagozytose spielten also keine Rolle.

Die Befunde sind um so bemerkenswerter, als aktives wie inaktives Serum ganz ohne Einfluß auf diesen Keim waren.

Unter den von Weil benutzten, rein saprophytischen Stämmen befand sich aber auch ein als „I“ bezeichneter, der zwar auch den Zellstoffen in hohem Grade unterlag, sich aber doch anders als „F“ verhielt. Wurden nämlich Leukozyten einfach in Serum oder Kochsalzlösung aufgeschwemmt und nach z. B. 2stündigem Verweilen darin entfernt, so vermochte die klare Flüssigkeit wohl „F“, nur wenig aber „I“ zu beeinflussen. Wurden hingegen die Zellen in der stark beimpften Flüssigkeit belassen, so fand stärkste Vernichtung mit Auflösung auch von „I“ statt. Zu erklären war dies damit, daß die keimtötenden Stoffe aus den Zellen nur in geringem Grade freiwillig in Lösung gehen; die damit erlangte, ganz geringe Konzentration genügt bereits für den empfindlichen Stamm „F“, nicht aber für den doch etwas widerstandsfähigeren „I“. Hingegen vermag dieser die Zellstoffe auf sich selbst gewissermaßen zu konzentrieren, er zieht sie sozusagen selbst aus den Zellen aus, um ihnen dann zu erliegen. Diese von Weil schon früher (Schweinerotlaufbazillus) entdeckte Erscheinung bezeichnete er als „Aphagozidie“ der Leukozyten. Sie besteht darin, daß unter Bedingungen, unter denen sowohl Phagozytose, wie freie Abgabe bakterizider Stoffe in die Umgebungsflüssigkeit ausbleibt, dennoch Keimvernichtung stattfindet.

Hatte Weil damit zwei neue Arten in der keimwidrigen Wirkung der Zellen aufgefunden, so dehnte er seine Untersuchungen unter Heranziehung einer Anzahl von Mitarbeitern (Toyosumi, Nunokawa, Tsuda u. a.) auf zahlreiche Bazillen aus. Er zeigte, daß auch Choleravibrionen, für die lange Zeit eine Leukozytenwirkung überhaupt zweifelhaft war, derselben auch in vitro unter bestimmten Bedingungen (reichliche Zellen, am besten in NaCl-Lösung) erliegen, wobei ein Zusatz von bakterizidem Immunserum keinen besonderen Vorteil bringt. Weit auffälliger tritt ihre Bedeutung in der Meerschweinchenbauchhöhle hervor. Verhindert man in dieser bei passiver Immunität durch Einspritzung komplementbindender Mittel die Säftbakterizidie, so sterben die Tiere unter Vibrionenvermehrung. Tod und Vermehrung bleiben aber aus, wenn in der Bauchhöhle unter sonst gleichen Be-

dingungen Zellen angesammelt sind. Die Säfte mit ihren Kräften stellen somit nur ein, aber nicht das einzige Mittel der Vibrionenabwehr dar.

An zahlreichen Bakterien angestellte vergleichende Untersuchungen über Zell und Säftebakterizidie führten Weil dann zur Aufstellung von gewissen Typen dieser Wirkung. Beim Typus I (Milzbrand im Huhn, Schweinerotlauf im Meerschweinchen) ist das Serum an sich unwirksam, wohl aber wirken die Leukozyten, sowohl in Serum wie auch in anderen Flüssigkeiten überaus stark; die oben erwähnten saprophytischen Kokken und Sarzinen schließen hier an. In all diesen Fällen besteht hohe natürliche Immunität, als deren Ursache diese nur schwer zu brechende Zellwirkung anzusehen ist. Bei Typus III (Cholera im Meerschweinchen) ist die Serumwirkung eine ausgesprochene, die Zellwirkung in vitro verhältnismäßig sehr gering. Es handelt sich um Keime, gegen die insofern noch eine gewisse Immunität besteht, als sich ihre Infektiosität (Virulenz) nicht unbegrenzt steigern läßt. Bei ihnen wirken im allgemeinen die Säfte; diese aber lassen sich leicht ausschalten und die Bakterien können auch selbst gegen ihre Wirkung resistent werden, nicht aber gegen die Zellen. Infolgedessen läßt sich die Zahl der infizierenden Bakterien niemals unter jene herabdrücken, mit denen die Leukozyten allein fertig zu werden imstande sind. Zu Typus II gehören jene Bakterien, bei denen das Serum unwirksam ist, Leukozyten im ganzen wenig, am besten noch in aktivem Serum wirken (Staphylo- und Streptokokken), zu Typus IV, mit unwirksamem Serum und unwirksamen Zellen, aber stärkster Wirkung der Vereinigung beider, gehört der *Bacillus subtilis* beim Meerschweinchen, Milzbrand und Schweinerotlauf bei der Ratte.

In zwei sehr wichtigen Arbeiten untersuchte Weil im Anschluß an seine Leukozytenarbeiten die Verhältnisse der Streptokokkeninfektion des Kaninchens sowie die Wirkung des Streptokokkenimmunserums von Aronson. Er stellte fest, daß einer intravenösen Einspritzung von Kokken, das schon seit Wyssokowitsch bekannte Sinken der Keimzahl im Blute folgt, an das sich aber später eine Vermehrung auf durchschnittlich das Neunfache anschließt. Gelegentlich hält

diese Vermehrung an und führt zum septischen Tode; meist bleibt sie beschränkt und hört auf, aber ohne daß damit die schweren Folgen in Gestalt von Lähmungen und Marasmus der Tiere verhindert würden. Sie sind auf eine Vergiftung zurückzuführen, die nur durch die lebenden Kokken veranlaßt wird, da die intravenöse Einspritzung größter Mengen, auch noch so schonend abgetöteter, ohne jeden Schaden vertragen wird. Die peinlich genaue Untersuchung des Blutes der Kaninchen ergab niemals eine Andeutung einer bakteriziden Wirkung. Aber wenn eine solche selbst vorhanden wäre, so müßte man doch annehmen, daß sie mit Eintritt der Kokkenvermehrung erschöpft sei und daß diese jetzt unaufhaltsam fortschreiten müsse. Wenn dies nur in einer sehr kleinen Zahl von Fällen eintritt, so ist man gezwungen, für die neuerlich einsetzende Hemmung und Keimvernichtung das Auftreten einer rein vitalen Reaktion des Tierkörpers verantwortlich machen, die einen neuen, seinem Wesen nach völlig unbekanntem Abwehrmechanismus darstellt; bakterizide Reagenzglasversuche gaben über ihn keinerlei Aufschluß. Die Wirkung des Immunserums auf die intravenöse Kokkeninfektion erwies sich im ganzen als recht gering; sie beschränkte sich darauf, eine Infektion, die akut septisch zu werden drohte, in den gewöhnlichen Typus der subchronischen zu verwandeln.

In der Maus wirkte allerdings das Immunserum besser, allerdings nur, wie dies ja heute allgemein anerkannt ist, gegen bestimmte Kokkenstämme. Die Schutzwirkung ließ sich durch komplementbindende Mittel aufheben, wobei Weil aus der Reihenfolge, in welcher diese Mittel wirksam waren (Eiweißpräzipitate, sensibilisierte oder auch normale Cholera-vibrionen, Kaolin) in vorbildlicher und scharfsinniger Weise erschließen konnte, daß es sich dabei nicht um eine gewöhnliche Komplementbindung, sondern um eine Bindung von Leukozytenstoffen handeln müsse.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß Weil in diesen Versuchen zur Auffindung eines bisher unbekanntem Verteidigungsvorganges gegen Infektion gelangte, der vielleicht auf der Grenze zwischen natürlicher und künstlicher Immunität steht. Es bedarf nur eines Hinweises auf die Ähnlichkeit dieser Befunde mit neueren Versuchen von Morgenroth an Mäusen,

die zur Aufstellung des Begriffes der Depressionsimmunität führten. Es gelang Weil in mehrfach wiederholten Ansätzen nicht, eine Klärung dieser seiner Befunde, die ihn bis in seine letzte Zeit beschäftigten, herbeizuführen. Als einzige brauchbare Analogie bietet sich nur das Verhalten aggressinimmuner Tiere gegen Hühnercholera, wie gegen Milzbrand. Auch bei diesen kann eine Bakterienvermehrung im Körper ohne Schaden erfolgen, da die Ausscheidung ihrer Aggressine paralytisch wird, womit die Bazillen selbst auf den Stand harmloser Saprophyten herabgedrückt sind, deren Vermehrung (von einer etwaigen Vergiftung abgesehen) gleichgültig ist. Aehnlich erfolgt bei dem halb gegen Streptokokken immunen Kaninchen durch eine vitale, der Infektion folgende Reaktion die Unterdrückung der Streptokokkenaggressivität, ohne daß diese Reaktion eine direkt bakterizide sein müßte. Die Maus bringt unter den von Weil gewählten schweren Infektionsbedingungen eine solche Reaktion nicht zustande, die Infektion wird septisch; erst durch eine mit untertödlichen Mengen erfolgte Vorinfektion tritt auch hier die Vitalreaktion ein, die einer folgenden, schweren Kokkeneinführung ihren akuten Verlauf zu benehmen vermag.

Eine andere Reihe der Arbeiten Weils befaßte sich mit dem Wesen der Luesblutreaktion von Wassermann. Bekanntlich suchte man dasselbe anfänglich in der Wirkung spezifisch unter dem Einfluß des Lueserregers entstandener Antikörper auf Leibessubstanz dieses Erregers selbst, die durch Komplementbildung nachweisbar war. Weil wies nachdrücklich darauf hin, daß einerseits der Antikörper, der sich außer bei Lues auch sonst in krankhaften Prozessen finden kann, der Spezifität entbehre, andererseits aber auch das Antigen, das ja heute niemand mehr in Gestalt von Spirochätenextrakten anwendet. Seiner Zeit vorausseilend, erklärte er die Reaktion zwar als die eines echten Antikörpers, aber eines solchen, der auf die Resorption von Körpergewebe entstehe, die bei sehr verschiedenen krankhaften Vorgängen, darunter bei Lues in markantester Weise, eintreten könne. Naturgemäß fand diese Anschauung Widerspruch, der eine immer erneute Aufnahme der Versuche für Weil nötig machte; jetzt hat der Entdecker der Reaktion selbst An-

schauungen geäußert, die den vielbekämpften Weils zum mindesten sehr nahestehen. Es ist hier nicht möglich, auf die damit zusammenhängende Frage der Antigennatur der Lipoiden, wie auf die einseitig physikalische Auffassung der Wassermannreaktion, der gegenüber sich Weil immer ablehnend verhielt, näher einzugehen, nur die Entdeckungen auf dem Gebiete der Metalues, die sich an diese Studien anschlossen, seien gestreift. Es mußte einem Forscher wie Weil von vornherein auffallen, daß der Cerebrospinalliquor, der sonst sich serologisch vom Blute abweichend verhält, regelmäßig die Wassermannreaktion giebt, also Antikörpergehalt hat. Dadurch wurde er darauf geführt, im Liquor auch nach anderen Antikörpern zu suchen, und es gelang fast augenblicklich, zu zeigen, daß bei metaluetischen Prozessen, aber auch bei meningealen Prozessen überhaupt, Reaktionskörper des Blutes, die sonst dem Liquor fehlen, in ihm auftreten, entweder hämolytisches Komplement und Immunkörper oder der letztere allein. Die darauf beruhende Weil-Kafkasche Reaktion ist ein wichtiges diagnostisches und differentialdiagnostisches Hilfsmittel der Klinik geworden.

Als letzte Gruppe in der Einteilung dieses wissenschaftlichen Lebenswerkes sei eine kurze Würdigung der Fleckfieberuntersuchungen Weils gegeben, bewunderungswürdig selbst als das Bruchstück, das sie infolge seines Todes geblieben sind. Nachdem er zunächst dem Verhalten der Widalschen Reaktion bei einigen fleckfieberverdächtigen Fällen seine Aufmerksamkeit geschenkt hatte, gelang ihm die bereits geschilderte Entdeckung jenes Proteus, der in so charakteristischer Weise agglutinatorisch mit Fleckfieberblut reagiert. Diese Entdeckung, die in kurzer Zeit als Weil-Felixsche Reaktion dem Namen Weils Weltruf verschafft hatte, war praktisch von der allergrößten Bedeutung, da damit zum ersten Male ein sicher diagnostisch brauchbares Mittel für die keineswegs in allen Fällen leichte Erkennung der Krankheit gegeben war. Sie führte sich von selbst überall ein und lehrte auch den Zusammenhang des europäischen Fleckfiebers mit dem Fleckfieber fremder Länder, das unter anderem Namen geht, kennen. War die Frage der praktischen

Bedeutung der Proteusagglutination bald entschieden, so erhob sich sofort der Streit um die Erklärung des einzig dastehenden Phänomens. Berufene wie Unberufene erklärten von vornherein, daß dieser so gewöhnlich aussehende Proteus nicht der Erreger der Krankheit sein könne, mußten aber dann eine Erklärung für eine Agglutination geben, die Weil als spezifisch zu erweisen nicht müde wurde und die sonst geradezu als Beweis für die ätiologische Bedeutung des betreffenden Keimes angesehen worden wäre. Nichtspezifische Blutveränderungen, wie Paragglutination wurden als Erklärungsmittel benutzt. Weil selbst hat, obwohl er in überlegener Weise die Unhaltbarkeit dieser schwächlichen Erklärungen darlegte, in den Streit um seinen Proteus nicht eingegriffen. Zwar konnte kein anderer besser als er die Bedeutung einer spezifischen Serumreaktion beurteilen, aber es war ihm von allem Anfang an klar, daß bei der allerengsten Beziehung des Bazillus zur Krankheit dieser doch nicht so, wie er in unseren Kulturen aus einem Bruchteil der Krankheitsfälle zu züchten war, der Erreger sein konnte. Selbst als gewichtige Stimmen, wie die Friedbergers kein Bedenken trugen, dem Fleckfieberproteus ätiologische Bedeutung zuzuschreiben, hat Weil geschwiegen und sich vielmehr bemüht, immer neue Forschungen anzustellen. Die bereits erwähnte Entdeckung der H- und O-Form, in welcher der Proteus vorkommt, brachte den ersten Fortschritt. Ein weiterer ergab sich, sobald es Weil möglich war, Uebertragungsversuche in großem Maßstabe vorzunehmen. Bekanntlich erkrankten Meerschweinchen nach Injektion von Fleckfiebertivirus an einem, meist nicht schweren, aber charakteristischen Fieber, und um diese Zeit ist das Virus im Körper der Tiere, besonders im Gehirn derselben, enthalten. Mit bisher unerreichter Genauigkeit studierte Weil mit seinen Mitarbeitern den Krankheitsverlauf, die qualitative und quantitative Verteilung des Virus, wie auch die rückbleibenden Immunitätsverhältnisse. Wenn er nun Meerschweingeirn, in welchem, nebenbei bemerkt, der Proteus in seiner auf unsern Nährböden züchtbaren Form gar nicht nachweisbar war, Kaninchen beibrachte, so reagierten diese zwar nicht mit sichtbarer Krankheit, aber in ihrem Blute trat nach einiger Zeit die typische Agglutination mit Proteus auf.

Auch mit dieser fundamentalen Leistung nicht zufrieden, suchte Weil, und wohl mit vollstem Rechte, die endgültige Lösung des immer mehr eingeengten Rätsels in der Art der Krankheitsübertragung durch die Kleiderlaus. Ohne irgendwo rein theoretischen Gebrauch davon zu machen, mußte er mit aller Klarheit erkennen, daß die ganz besonderen Verhältnisse, denen das Virus im Läusekörper ausgesetzt ist, die letzte Erklärung zu geben imstande sein würden. Bei der Unmöglichkeit, in Prag das nötige Material zu erhalten, begab er sich in das Seuchengebiet selbst, wo überdies Prof. Weigl in Lemberg die Technik der Läuseinfektion aufs feinste ausgebildet hatte und — das Ende ist bekannt!

Mit vollem Rechte durfte jeder, der Weil und seine Arbeitsweise auch nur oberflächlich kennen gelernt hatte, von der Verwertung seiner Lemberger Forschungsergebnisse die Aufklärung der Fleckfieberätiologie, damit aber eine unvergängliche Leistung der medizinischen Forschung erwarten. Ein unglückseliger Zufall hat dieser begründeten Hoffnung ein Ende bereitet, dem Forscher, der nie nach äußerer Anerkennung, nur nach der inneren Befriedigung überwundener Schwierigkeit verlangte, diesen tausendfach verdienten Lohn vorenthalten. Aber für alle Zeiten wird die Fleckfieberarbeit Weils vorbildlich bleiben. Nichts ist hier glücklicher Zufall, mit zwingender Folgerichtigkeit führte die Lösung einer Frage zur Stellung der nächsten, die klare theoretische Durchschauung des Problems leitete nur erneute und vervollkommnete Versuche, führte nie zur Spekulation, der erst nachträglich ein Grund geschaffen werden sollte. Und diesem herrlichen Gebäude mußte die Krönung versagt bleiben!

Weils äußeres Leben war arm an Ereignissen, seine Lebensgeschichte kann mit wenigen Worten geschrieben werden: Er wurde geboren zur Arbeit, arbeitete und starb an der Arbeit und für dieselbe. Und doch, was besagt das Wort Arbeit, wenn es auf einen Weil angewendet wird! Nicht entfernt können diese kurzen Darlegungen ihm gerecht werden, nur die Größe des Verlustes andeuten, welchen das Hygienische Institut, die deutsche Universität, der ärztliche Stand und seine Forschung für immer erlitten hat. Seinen Namen hat Weil selbst der Nachwelt und Ewigkeit überliefert, sein

2*

persönliches Angedenken als das eines der Besten sei in immerwährender Erinnerung gehalten.

Arbeiten von weil. Prof. Dr. Edmund Weil.

- 1) Ueber Agglutination. Prager med. Wochenschr., 1904, No. 19.
- 2) Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 36, 1904, No. 5.
- 3) Ueber den Mechanismus der Bakterienagglutination durch Gelatine. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 37, 1904, No. 3.
- 4) Ueber einen Fall von tödlicher Pankreas- und Fettgewebsnekrose. Prager med. Wochenschr., 1904, No. 50.
- 5) Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera. Arch. f. Hyg., Bd. 52, S. 412.
- 6) Die passive Aggressinimmunität bei Hühnercholera. Wien. klin. Wochenschr., 1905, No. 16.
- 7) Ueber die Wachstumsmöglichkeit des Heubazillus im Tierkörper. Wien. klin. Wochenschr., 1905, No. 25.
- 8) Ueber Agglutinationsbehinderung der Typhusbazillen. Arch. f. Hyg., Bd. 53, S. 291.
- 9) Die schützenden Eigenschaften des Blutes von aggressinimmunen Hühnercholeratieren. Arch. f. Hyg., Bd. 54, S. 149.
- 10) Primäres Riesenzellensarkom des Pankreas. Prager med. Wochenschr., 1905, No. 41.
- 11) Die Phagozytosebehinderung des Subtilis durch das Subtilisaggressin. Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 3.
- 12) Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten. (Mit O. Bail.) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 40, 1906, No. 3.
- 13) Untersuchungen über die Wirkung aggressiver Flüssigkeiten des Streptococcus pyogenes. Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 10.
- 14) Kurze Mitteilung betreffend die Aggressivität der Staphylokokken. (Mit O. Bail.) Wien. klin. Wochenschr., 1906, No. 9.
- 15) Weitere Versuche über Staphylokokkenaggressivität. (Mit O. Bail.) Wien. klin. Wochenschr., 1906, No. 14.
- 16) Ueber Aggressinimmunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 41, 1906, No. 1.
- 17) Ueber den Nachweis von Antituberkulin im tuberkulösen Gewebe. (Mit H. Nakajama.) Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 21.
- 18) Ueber die Beziehungen von Kaninchenleukozyten zum Staphylokokkengift. (Mit O. Bail.) Wien. klin. Wochenschr., 1906, No. 27.
- 19) Bakterienaggressivität und Bakterienextrakte. (Mit O. Bail.) Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, 1906, No. 1—6.
- 20) Ueber freie Rezeptoren. (Mit O. Axamit.) Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 53.
- 21) Zur Erklärung der Tuberkulinreaktion durch Antituberkulin im tuberkulösen Herde. Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 6.

- 22) Versuche über die Widerstandsfähigkeit bei intraperitonealer Infektion. *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 44, No. 2, 1907.
- 23) Kritik der Immunisierungsversuche gegen Hühnercholera mit Bakterienextrakten. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 56, 1907, S. 509.
- 24) Ueber den Lues-Antikörpernachweis im Blute von Luetischen. *Wiener klin. Wochenschr.*, 1907, No. 18.
- 25) Untersuchungen über den Mechanismus nichtbakterizider Immunität. *Arch. f. Hyg.*, Bd. 61, S. 293.
- 26) Versuche über die Wirkung der Leukozyten bei intraperitonealer Cholerainfektion. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 43, 1907, No. 2.
- 27) Ueber Behinderung der Reagenzglasphagozytose. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 33.
- 28) Ueber Komplementbindungsversuche bei infektiösen und postinfektiösen Erkrankungen, sowie bei Nährstoffen. *D. med. Wochenschr.*, 1907, No. 43.
- 29) Ueber Antikörperbefunde bei Lues, Tabes und Paralyse. (Mit H. Braun.) *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 49.
- 30) Die Komplementbindung und ihre praktische Verwertbarkeit. *Folia haematologica*, IV. Suppl., No. 1, S. 56.
- 31) Das Hühnercholeraaggressin und seine Wirkungsweise. *Arch. f. Hyg.*, Bd. 65, S. 81.
- 32) Ueber die Entwicklung und den gegenwärtigen Stand der Serodiagnostik gegenüber Syphilis. (Mit H. Braun.) *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907, No. 52.
- 33) Ueber die Beeinflussung von Antistoffen durch alkoholische Organextrakte. (Mit H. Braun.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 2.
- 34) Ueber die Ausflockung des Lezithins durch normales Rinderserum. *Naturwiss. Zeitschr. „Lotos“*, Bd. 56, No. 3.
- 35) Ueber die Rolle der Lipoide bei der Reaktion auf Lues. (Mit H. Braun.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 5.
- 36) Ueber die Entwicklung der Serodiagnostik bei Lues. (Mit H. Braun.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 17.
- 37) Ueber positive Wassermann-Neißer-Brucksche Reaktion bei nichtluetischen Erkrankungen. (Mit H. Braun.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 26.
- 38) Ueber Antikörper bei Tumoren. (Mit H. Braun.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 18.
- 39) Ueber die Rolle der Antikörper bei der Tuberkulinreaktion. (Mit W. Strauß.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 29.
- 40) Die phagozytosebefördernden Stoffe der Normal- und Immunsera. *Centralbl. f. Bakt., Ref.*, Bd. 42, 1908, No. 11/13.
- 41) Antigene und Antikörper. *Folia serol.*, Bd. 1, 1908, S. 283.
- 42) Welche Bedeutung besitzt die Bakterizidie des Hühnercholera-Immunsersums für seine Schutzwirkung? (Mit H. Braun.) *Foliaserol.*, Bd. 2, S. 151.
- 43) Ueber den Einfluß der Leukozyten auf die Aktivität des Blutserums. (Habilitationsschrift.) *Arch. f. Hyg.*, Bd. 70, S. 1.
- 44) Ueber das Wesen derluetischen Erkrankung auf Grund neuerer Forschungen. (Mit H. Braun.) *Wiener klin. Wochenschr.*, 1909, No. 11.

- 45) Sind in den Organzellen Antikörper nachweisbar? (Mit H. Braun.) Biochem. Zeitschr., Bd. 17, 1909, No. 4.
- 46) Ueber Immunerumwirkung. (Mit H. Braun.) Folia serol., Bd. 3, 1909, S. 272.
- 47) Bemerkungen zur Arbeit Petterssons: Ueber die Wirkung der Leukozyten bei der intraperitonealen Cholerainfektion. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 51, No. 5.
- 48) Bakterizide Reagensglasversuche mit Leukozyten. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 44, Beiheft S. 30.
- 49) Ueber die Bakterizidie der Meerschweinchen- und Rattenleukozyten gegen Schweinerotlaufbazillen. Arch. f. Hyg., Bd. 71, S. 223.
- 50) Ueber die Wirkung von Meerschweinchenleukozyten auf Cholera-vibrionen. (Mit H. Toyosumi.) Arch. f. Hyg., Bd. 71, S. 263.
- 51) Ueber die aktive Rolle der Bakterien bei der Infektion. Ergebnisse d. wissenschaftl. Medizin. Leipzig, Klinkhardt, S. 34.
- 52) Ueber die Bedeutung der Antigen-Antikörperverankerung für die spezifische Komplementbindung. Biochem. Zeitschr., Bd. 24, 1910, S. 219.
- 53) Ueber die Wirkungsweise der Meerschweinchenleukozyten auf tierische Milzbrandbazillen. (Mit K. Nunokawa.) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 54, 1910, No. 3.
- 54) Beiträge zum Studium der Milzbrandinfektion. (Mit O. Bail.) Arch. f. Hyg., Bd. 73, S. 218.
- 55) Ueber extrazelluläre Leukozytenwirkung (Aphagozidie). Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 7.
- 56) Ueber die Durchgängigkeit der Meningen, besonders bei der progressiven Paralyse. (Mit V. Kafka.) Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 7.
- 57) Ueber das Verhalten der Streptokokken im strömenden Blute bei Kaninchen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 68, 1911, S. 346.
- 58) Die Agglutinationsbehinderung durch Bakterienextrakte. Biochem. Zeitschr., Bd. 33, 1911, S. 56.
- 59) Ueber den Mechanismus der Komplementbindung bei Antieiwweißseris. (Mit W. Spät.) Biochem. Zeitschr., Bd. 33, 1911, S. 63.
- 60) Ueber die Bedeutung der Leukozyten bei der intraperitonealen Cholera-infektion des Meerschweinchens. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 59, No. 4.
- 61) Weitere Untersuchungen über den Hämolysegehalt der Zerebrospinalflüssigkeit. (Mit V. Kafka.) Mediz. Klinik, 1911, No. 34.
- 62) Ueber die Bedeutung des Anaphylatoxins für die Infektionskrankheit. Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 40.
- 63) Untersuchungen über die keimtötende Kraft der weißen Blutkörperchen. Arch. f. Hyg., Bd. 74, S. 289.
- 64) Die Schutzstoffe des Hühnercholeraimmunserums. Arch. f. Hyg., Bd. 76, S. 343.
- 65) Ueber die Wirkungsweise der Kaninchenleukozyten. Arch. f. Hyg., Bd. 78, S. 163.
- 66) Ueber die Wirkungsweise des Komplementes bei der Hämolyse. Biochem. Zeitschr., 1913, Bd. 48, No. 5.

- 67) Ueber die Wirkungsweise des Hühnercholeraimmunserums. Arch. f. Hyg., Bd. 79, S. 59.
- 68) Zur Frage der Permeabilität der Meningen. (Mit V. Kafka.) Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilkunde, Bd. 46, 1913, S. 402.
- 69) Ueber die Wirkungsweise des Streptokokkenserums. Ztschr. f. Hyg., Bd. 75.
- 70) Untersuchungen über die Antigene der antibakteriellen Schutzstoffe. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 71, 1913, No. 2.
- 71) Ueber die Wirkungsweise der beim Meerschweinchen erzeugten Hammelbluthämolyse. Biochem. Zeitschr., Bd. 58, 1913, No. 4/5.
- 72) Ueber die Bedeutung der meningealen Permeabilität für die Entstehung der progressiven Paralyse. Zeitschr. f. d. ges. Neurologie, Bd. 24.
- 73) Ueber die Beziehung der Bindung zur Wirkung des Komplementes bei der Hämolyse. Biochem. Zeitschr., Bd. 65, 1914, No. 3/4.
- 74) Die Bedeutung der Widalschen Reaktion für die Diagnose des Flecktyphus. Wiener klin. Wochenschr., 1915, No. 8.
- 75) Zur serologischen Diagnose des Fleckfiebers. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 2.
- 76) Serologische Fleckfieberdiagnose. Feldärztl. Blätter, 1916, No. 5.
- 77) Die Kurve der Fleckfieberagglutination und ihre praktische Verwertung. (Mit A. Felix.) Feldärztl. Blätter, 1916, No. 11.
- 78) Ueber die Beziehungen der Gruber-Widalschen Reaktion zum Fleckfieber. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 31.
- 79) Erfahrungen mit der Weil-Felixschen Fleckfieberreaktion. (Mit A. Felix.) Feldärztl. Blätter, 1916, No. 17.
- 80) Untersuchungen über das Wesen der Fleckfieberagglutination. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1917, No. 18.
- 81) Weitere Untersuchungen über das Wesen der Fleckfieberagglutination. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1917, No. 48.
- 82) Ueber eine Infektionskrankheit, bedingt durch einen Keim aus der Paratyphusgruppe. (Mit P. Saxl.) Wiener klin. Wochenschr., 1917, No. 17.
- 83) Die zerebralen Erscheinungen und die meningeale Permeabilität bei Fleckfieber. (Mit A. Soueek.) Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 30.
- 84) Paratyphus B-ähnliche Krankheitserreger (Typus Supester Voldagsen) in Albanien. Wiener klin. Wochenschr., 1917, No. 34.
- 85) Choleraerstatistik und Choleraerfahrungen. Wien, M. Perles, 1917.
- 86) Merkblatt zur serologischen Fleckfieberdiagnose nach Weil-Felix. (Mit A. Felix.) Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 1.
- 87) Ueber die Doppelnatur der Rezeptoren beim Paratyphus β . (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1918, No. 36.
- 88) Ueber die Doppelnatur der Rezeptoren in der Typhus-Paratyphusgruppe. (Mit A. Felix und F. Mitzenmacher.) Wiener klin. Wochenschr., 1918, No. 46.
- 89) Zur Frage der Spezifität der X-Stämme und der Weil-Felixschen Agglutination. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1918, No. 48.

- 90) Experimentelle und klinische Beiträge zum Fleckfieber. Wiener klin. Wochenschr., 1919, No. 31.
- 91) Ueber Varianten des Stammes X 19. Wiener klin. Wochenschr., 1920, No. 3.
- 92) Ueber den Doppeltypus der Rezeptoren in der Typhus-Paratyphusgruppe. (Mit A. Felix.) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, No. 1/2.
- 93) Ueber die Bewertung der Agglutinationsreaktionen bei Fleckfieber mit verschiedenen Mikroorganismen. Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 13.
- 94) Serologische Untersuchungen von Kaninchen nach Behandlung mit Fleckfiebertypus. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1920, No. 20.
- 95) Ueber die Bedingungen der Agglutininbildung durch das Fleckfiebertypus. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1920, No. 30.
- 96) Ueber das Verweilen des Fleckfiebertypus im Meerschweinchenorganismus. (Mit A. Felix.) Wiener klin. Wochenschr., 1920, No. 36.
- 97) Komplementbindungsversuche. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, 1921, No. 1.
- 98) Ueber die Beziehungen der Fleckfieberagglutination zum Fleckfiebererreger. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, 1921, No. 6.
- 99) Das Problem der Serologie der Lues in der Darstellung Wassermanns. Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 33.
- 100) Untersuchungen über die experimentelle Fleckfieberinfektion und Immunität. (Mit F. Breinl und Th. Gruschka.) Wiener klin. Wochenschr., 1921, No. 38.
- 101) Ueber die Bildung von X 19-Agglutininen beim Kaninchen nach Infektion mit Kaninchenfleckfiebertypus. (Mit Th. Gruschka.) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, No. 3.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Variationsuntersuchungen bei X 19.

Von **E. Weil.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

In dem Bestreben, den bei höheren Pflanzen gefundenen Variabilitätserscheinungen auch bei den Bakterien Geltung zu verschaffen, ist eine Fülle von Untersuchungen angestellt worden, deren experimentelle Ergebnisse, anfangs angezweifelt und geringgeschätzt, heute einen mächtigen Faktor auf dem Gebiete der Bakteriologie und Immunitätslehre darstellen. Sie bilden die moderne Strömung in diesen beiden Wissenschaften. Die große Mehrzahl dieser Arbeiten verfolgt in erster Linie die morphologische Richtung (Bakterienkolonie), erst in zweiter Linie werden die chemischen Leistungen, die Virulenz, Toxizität usw., in den Kreis der Beobachtungen gezogen. Das Studium dieser Arbeiten, an denen eine große Reihe von Forschern beteiligt ist, lehrt, daß die Variabilität der Bakterien eine außerordentlich große ist. Nahezu bei sämtlichen pathogenen Mikroorganismen sind Befunde aufgedeckt worden, welche derartige Abweichungen von den typischen Kolonieförmungen ergeben haben, daß geübte Untersucher in der Diagnostik der betreffenden Bakterienarten hätten irren müssen. Ist z. B. die typische Kolonieförmung farblos und durchscheinend, so gibt es Varianten dieser Bakterienart, welche gefärbt und undurchsichtig sind; ist die typische Kolonieförmung groß, so gibt es Abweichungen, welche winzig klein sind usw.

Es darf nicht wundernehmen, daß in einer Zeit, in der die Unwandelbarkeit der Erscheinungsform der Bakterien als Dogma galt, alle beschriebenen Varianten zunächst als Verunreinigungen angesehen wurden, und die Entdecker dieser Formen den größten und wichtigsten Teil ihrer experimentellen Bearbeitung darin sahen, sich vor diesem Einwand zu schützen. Dies um so mehr, als bald Veränderungen beschrieben wurden,

welche über die äußere Erscheinungsform weit hinausgingen. Bakterien, deren wesentlichste Eigentümlichkeit ihre Beweglichkeit war, traten in geißellosen Formen auf, Verlust des kohlehydratspaltenden Vermögens, dem diagnostisch die größte Bedeutung beigemessen wurde, konnte einwandfrei konstatiert werden, Mikroorganismen, deren Hauptcharakteristikum auch in differentialdiagnostischer Beziehung ihre hohe Tiervirulenz war (Milzbrand), traten in ganz avirulenten Modifikationen auf usw.

Ueber die Bewertung, welche den Variabilitätserscheinungen im naturwissenschaftlichen Sinne zukommt, ist eine große, auch heute noch nicht zum Stillstand gekommene Diskussion entstanden, seitdem durch Massini am *Coli mutabile* ein eklatantes, leicht zu reproduzierendes Variabilitätsphänomen demonstriert und hierfür die Bezeichnung Mutation (im Sinne von de Vries) eingeführt und von zahlreichen Autoren als zutreffend übernommen wurde. Daß es sich bei dem Befunde von Massini nicht um eine Mutation handelte, ist heute feststehend und wahrscheinlich auch vom Entdecker als richtig anerkannt. Es liegt hier eine Eigentümlichkeit einer gar nicht selten vorkommenden Coliart vor, bei der alle jene Momente, welche für die Mutationserscheinungen maßgebend sind, keine oder nur eine geringe Rolle spielen. Ja, man ist heute im Zweifel darüber, ob bei Bakterien echte Mutationen, die bei höheren Pflanzen existieren, überhaupt vorkommen. Man hat immer mehr und mehr die Schwierigkeiten, hier einen präzisen Standpunkt zu vertreten, erkannt, da infolge des Fehlens der geschlechtlichen Fortpflanzung die Entscheidung, ob bei der Vererbung von Variationen das Idioplasma resp. das Gen betroffen ist, oder ob es sich nur um phänotypische Erscheinungen handelt, sehr schwer zu treffen ist.

Von größter praktischer und theoretischer Bedeutung aber ist die Frage, ob die durch Variabilität entstandenen neuen Bakterienformen sich so weit vom Ausgangsstamm entfernen können, daß man berechtigt ist, von neuen Arten zu sprechen. Die große Schwierigkeit in dieser Beziehung liegt aber schon darin, daß es nicht gelingt, auf Grund unserer Kenntnisse über die sichere Umgrenzung einer Bakterienart zu einem klaren Urteil zu gelangen. Diese Einsicht muß sich jedem aufdrängen, der diesbezüglich in Spezialwerken eine Orien-

tierung sucht. Allerdings gilt dies hauptsächlich bei der Beurteilung des Problems vom Gesichtspunkt des Botanikers. Wesentlich einfacher scheinen uns die Verhältnisse bei den pathogenen Mikroorganismen zu liegen, da ja durch die Fähigkeit der pathogenen Wirkung auf Mensch und Versuchstier ein neues systematisierendes Moment in Erscheinung tritt. Schließlich ist auch der serologische Bau der pathogenen Mikroorganismen und die darauf gegründete Systematik derart analysiert, daß diesem Ergebnis von einer großen Gruppe von Forschern eine ausschlaggebende Bedeutung für die Artzugehörigkeit von pathogenen Bakterien zugeschrieben wird. Trotzdem aber machen sich unter den heutigen Bakteriologen zwei Gruppen geltend, deren eine den morphologisch-kulturellen und chemischen Eigenschaften der Mikroorganismen die Hauptrolle für die Artumgrenzung zuschreibt, während die andere, die weitaus die Mehrzahl darstellt, auf dem Standpunkt der serologischen Spezifität steht. Die pathogenen Eigenschaften der Bakterien aber werden von beiden Gruppen gleich hoch eingeschätzt. Welche Richtung in der medizinischen Bakteriologie mehr Berechtigung besitzt, läßt sich nicht leicht entscheiden. Jedenfalls aber beruht die Ansicht mancher Forscher, daß die Spezifität der serologischen Reaktion kein allgemein gültiges Gesetz darstellt, und daß die Ermittlungen der neuesten Zeit das beweisen, auf einem Irrtum oder einer Unkenntnis der Tatsachen. Wenn z. B. entfernt oder gar nicht verwandte Keime untereinander identische serologische Reaktionen aufweisen, so läßt sich leicht der Nachweis erbringen, daß durch Verwandtschaft bedingte oder zufällig identische Nebenrezeptoren der Grund hierfür sind; den Hauptrezeptoren aber haftet absolute Spezifität an. Was man der Bedeutung der Immunitätsreaktionen entgegenhält, ist die Tatsache, daß kulturell verwandte oder identische Keime sich serologisch vollkommen different verhalten können. Die Coligruppe ist ein Beispiel dafür. Allerdings erscheinen diese Verhältnisse in einem ganz anderen Lichte, wenn man sie folgender Betrachtung unterzieht. Die Systematik der Coligruppe ist, soweit sie sich auf kulturelle und chemische Eigenschaften bezieht, äußerst lückenhaft bearbeitet. Wir zählen jene Bakterien zur Coligruppe, welche, aus dem Darm ge-

züchtet, Traubenzucker und Milchzucker vergären, auf Agar und in Bouillon üppig wachsen, lebhaft beweglich sind und reihen auch Keime, welche die eine oder andere Eigenschaft vermissen lassen, dahin ein. Wie mangelhaft diese Systematik ist und wie viele verschiedenen Bakterienarten hier zusammengeworfen sein können, liegt auf der Hand, und es kann auch nicht wundernehmen, wenn diese zwar kulturell zusammengehörigen Bakterien weitgehende serologische Differenzen aufweisen. Versuche in dieser Richtung wurden von Breinl angestellt, welcher zeigen konnte, daß Colikolonien, welche bis nach wenigen Tagen auf der Platte ein vollkommen identisches Aussehen hatten, nach längerer Zeit untereinander ein ganz verschiedenes Aussehen aufwiesen, und es hatte den Anschein, als ob Keime, deren Kolonieform nach dieser Zeit einander glichen, auch serologisch identisch waren. Jedenfalls aber ist die Frage, ob bei der Coligruppe die serologische Systematik versagt hat, noch nicht entschieden.

Auch die Proteusgruppe weist ein ähnliches Verhalten auf. Kulturell charakterisiert durch ein progressives Wachstum der Kolonie, durch Traubenzuckervergärung und Gelatineverflüssigung sowie durch eine lebhafte Beweglichkeit, war ein serologischer Zusammenhang der einzelnen Stämme nicht zu konstatieren. Verf. und Felix konnten jedoch zeigen, daß viele Proteusstämme untereinander eine serologische Verwandtschaft aufweisen, wenn man sie mit mehreren Immunsereen prüft und die verschiedenartigen Agglutinine (O und H) berücksichtigt. Wenn sich aber trotzdem noch Stämme fanden, welche sich serologisch in verschiedene Arten aufteilen ließen, so würde das nur beweisen, daß die kulturell gemeinsamen Merkmale, wie insbesondere die progressive Wachstumsfähigkeit, auf eine Zusammengehörigkeit hinweisen, welche der Artgrenze übergeordnet ist. Diese Deutung hat allerdings nur Berechtigung bei der Voraussetzung, daß die Artzugehörigkeit von der serologischen Uebereinstimmung abhängig gemacht wird. Und gerade bei der Proteusgruppe haben wir Anhaltspunkte für die Wichtigkeit der serologischen Differenzierung, denn die X-Stämme, welche kulturell von den gewöhnlichen Proteusstämmen kaum zu unterscheiden sind, sind serologisch ohne weiteres von diesen zu trennen.

Ebenso lassen sich die Infektionserreger, die der Paratyphusgruppe angehören und die kulturell eine weitgehende Uebereinstimmung aufweisen, serologisch scharf in mehrere Gruppen und differente pathogene Arten unterscheiden. Erst in jüngster Zeit konnte der Paratyphus β , der nur serologisch vom Paratyphus B zu differenzieren ist, als der Erreger einer besonderen Infektionskrankheit erkannt werden (Neukirch, Weil und Saxl).

Alle diese Umstände, auf die wir noch zurückkommen, weisen darauf hin, daß in praktischer Hinsicht die serologischen Eigenschaften der Mikroorganismen eine scharfe Differenzierung zulassen in dem Sinne, daß pathogene Keime, welche serologisch identisch sind, auch identische Krankheiten erzeugen. Die Schwierigkeit besteht nur darin, zu entscheiden, ob eine serologische Differenz bei kultureller Identität mit Sicherheit auf eine Artverschiedenheit schließen läßt.

Wir hofften in diese schwierigen Fragen durch das Studium der serologischen Variabilität einen Einblick zu erlangen. Es war von vornherein zu erwarten, daß diejenigen Eigenschaften der Mikroorganismen, welche ihren Artcharakter bestimmen, unveränderlich sind, und zu diesen rechnet, wie bereits erwähnt, ein Teil der Bakteriologen ihren serologischen Bau. In der ersten Zeit der Variabilitätsuntersuchungen hat man auch an eine serologische Veränderung der Mikroorganismen nicht gedacht, denn man hat gerade durch die serologische Uebereinstimmung des kulturell veränderten Stammes mit dem Ausgangsstamm sich vor dem Einwand der Verunreinigung geschützt (Massini und viele andere). Aber im weiteren Verlaufe der Untersuchungen wurde das einwandfreie Ergebnis erzielt, daß auch serologische Veränderungen mehr oder weniger tiefgreifender Natur auftreten können. Die Zahl der hier vorliegenden Arbeiten ist im Vergleiche mit den Untersuchungen, welche sich mit der kulturellen Variabilität beschäftigen, gering, aber immerhin schon so reichlich, daß wir auf eine detaillierte Wiedergabe verzichten, weil viele der erzielten Ergebnisse zu sehr zu einer Kritik herausfordern, die den Rahmen unserer Darlegungen überschreiten würde. Wir wollen aus diesem Grunde nur die uns einwandfrei erscheinenden Ergebnisse in Kürze besprechen, und zwar die

von Bärthlein, Bernhardt und die äußerst wichtigen und wertvollen Feststellungen von Sobernheim und Seligmann.

Bärthlein hat bei einer Reihe von Mikroorganismen die serologischen Veränderungen von Varianten geprüft und folgende Resultate erzielt: Bei Staphylokokken sah er gut und schlecht agglutinable Stämme, die sich auch durch das Farbstoffbildungsvermögen unterscheiden ließen. Auch bei Typhus, Paratyphus A, B und Gärtner fand er neben den normal agglutinablen Varianten solche von geringerer und fehlender Agglutinabilität. Die inagglutinablen Stämme waren nicht befähigt, das Agglutinin zu verankern, erzeugten aber, von Ausnahmen abgesehen, in den meisten Fällen Agglutinine, die aber den agglutinablen, erzeugenden Stamm unbeeinflusst ließen, Stämme von normaler Agglutinabilität aber ausflockten. Weiter hat Bärthlein aus einem B-Stamm eine Variante isoliert, die vom B-Immenserum schwach, stark hingegen vom Typhus-Immenserum agglutiniert wurde. (Die Besprechung dieser Variante wird in der Arbeit von Fürth erfolgen.) Auch in der Ruhrgruppe (Shiga, Flexner und Y), bei den Kapselbazillen und bei *Pyocyanus* züchtete Bärthlein schlecht und inagglutinable Varianten.

Bernhardt, der die serologische Variation bei Typhus studierte, fand in Bestätigung der Befunde von Bärthlein schlecht agglutinable Stämme, welche ein Serum erzeugten, welches nicht den Ausgangsstamm, wohl aber die agglutinablen Stämme agglutinierte.

Aus diesen Ergebnissen, denen sich analoge Befunde anderer Autoren anschließen, ist eine wesentliche Aenderung des Rezeptorenapparates der Varianten nicht zu erkennen, denn sie lehren nur, daß sich Varianten finden, welche (infolge physikalischer Veränderung) schwer flockbar und bei welchen möglicherweise Rezeptorendefekte vorhanden sind. Eine Ausnahme allerdings bildet die erwähnte Paratyphus B-Variante von Bärthlein, welcher auch von ihm eine große Bedeutung beigelegt wird, da es hier gleichzeitig zu einem Rezeptorenverlust (Paraty B-Rezeptoren) und einer Rezeptorenneuerwerbung (Ty-Rezeptoren) gekommen sein müßte. Wir werden sehen, daß hierfür auch eine andere Deutung möglich ist.

Großes Interesse aber verdienen die in ihrer Bedeutung viel zu wenig gewürdigten Befunde von Sobernheim und Seligmann. Diese Forscher haben bei Paratyphus B ähnlichen Stämmen eine so tiefgreifende Wandlung festgestellt, daß sie neben ihren ursprünglichen Rezeptoren eine Agglutinabilität für Gärtner-Immunserum angenommen, manche sogar dabei ihre Paratyphus B-Rezeptoren verloren haben. Sehr überraschend war jedoch ihr antigenes Verhalten, da die zu Gärtner umgewandelten Stämme trotzdem ein Paratyphus B-Immunserum erzeugten. (Die genauere Besprechung dieser Versuche erfolgt in der Arbeit von Gruschka und Fürth.) Diese Angaben wurden von Stromberg einer Nachprüfung unterzogen und nur zum geringen Teil bestätigt, da die serologischen Wandlungen, die er bei seinen Stämmen feststellen konnte, sich nur im Rahmen der Mitagglutinine bewegten, die Hauptagglutinine aber aus dem Spiele ließen. Während die Versuche von Sobernheim und Seligmann den Schluß zuließen, daß in der Paratyphus B-Gärtnergruppe, die beide als verschiedene Arten gelten, ein Uebergang von der einen Art in die andere stattgefunden habe, so steht Stromberg auf Grund seiner Ergebnisse auf dem Standpunkt der Unwandelbarkeit der Art, hält jedoch eine Variation, die er im Sinne einer Degeneration (?) deutet, für möglich.

Die exakt durchgeführten Versuche von Sobernheim und Seligmann, denen wir trotz der Kritik und den abweichenden Resultaten von Stromberg eine große Bedeutung nicht absprechen können, hatten für uns Interesse wegen der ungeklärten Beziehungen der Proteusstämmen vom Typus X 19 zu denen vom Typus X 2. Beide geben mit Fleckfieberserum eine spezifische Agglutination, trotzdem sie in serologischer Hinsicht als zwei verschiedene Arten anzusehen sind. Da diese Tatsache von vielen Autoren in dem Sinne gedeutet wurde, daß die Fleckfieberagglutination nicht durch die X-Stämme hervorgerufen sein könne, da nicht die Antigene zweier verschiedener Keime bei jedem Fleckfieberfall wirken können, so mußte für diese Erscheinung eine befriedigende Erklärung gefunden werden. Da trotz der Verschiedenheit von X 2 und X 19 doch die Beziehungen dieser beiden Keime

zueinander viel innigere waren als zu allen anderen Proteusstämmen, nicht nur gegenüber dem Fleckfieberserum, sondern auch hinsichtlich der Identität von Nebenrezeptoren, so suchten wir diese Verwandtschaft damit zu erklären, daß X 2 seine Abstammung direkt von X 19 ableite, auf dem Wege einer Umwandlung, wie es Sobernheim und Seligmann bei ihren Paratyphusstämmen nachgewiesen hatten. Allerdings mußte unsere Ansicht von der Vorstellung ausgehen, daß der X 19 einer sehr tiefgreifenden Veränderung fähig wäre, da eine Umwandlung von X 19 in X 2 nur durch den Verlust des spezifischen Hauptrezeptors und die Erwerbung eines neuen Hauptrezeptors denkbar wäre. Diese Ansicht konnte nur dann auf Anerkennung rechnen, wenn der Nachweis erbracht werden konnte, daß die X-Stämme tatsächlich solcher Wandlungen fähig sind.

Um von vornherein einwandfreie Versuchsbedingungen zu schaffen, gingen wir von Einzelkulturen von HX 19 und OX 19 aus, die nach dem Burrischen Verfahren hergestellt wurden. Von diesen wurden Bouillonröhrchen angelegt, welche nach den Angaben von Bärthlein besonders geeignet sind, da in der alternden Bouillonkultur alle Bedingungen gegeben sind, um die Variationsmöglichkeiten einer Kultur zu entfalten. Aus einer 4 Monate alten, bei Zimmertemperatur aufbewahrten Bouillonkultur des Stammes OX 19 wurden auf der Agarplatte Kolonieförmigkeiten beobachtet, die von den typischen Kolonien wesentlich abwichen, insofern als sie wesentlich kleiner waren als diese und außerdem gegenüber dem leicht bläulich schimmernden und durchscheinenden O-Kolonien trübe und undurchsichtig waren. Bei längerem Stehen der Platten bei Zimmertemperatur nahmen sie an Größe zu, ohne aber die Größe der Ausgangskolonien zu erreichen. Auf Bouillon überimpft, wuchsen sie, im Gegensatz zu der gleichmäßig trüben O-Bouillon, als Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit, die sich bei Lupenbetrachtung als aus kleinsten Flöckchen bestehend erwies. Bei der Rückübertragung der Bouillonkultur auf Agarplatten wuchsen neben den typischen kleinen und kleinsten Kolonien größere, die wir anfangs für Rückschläge zur Originalform hielten und daher als R bezeichneten. Das eben geschilderte Wachstum auf Bouillon, das diese

R-Formen aufweisen, und auch das Aussehen auf der Platte läßt sie jedoch mit Sicherheit von dem Ausgangsstamm unterscheiden. Wir haben von der Originalplatte mehrere Kolonien des eben beschriebenen Aussehens isoliert und dieselben mit I, II, III usf. bezeichnet.

Es war nun, da die kulturelle Untersuchung keine näheren Aufschlüsse gab, eine genauere serologische Charakterisierung der gezüchteten Variante nötig, schon aus dem Grunde, um sicher zu sein, daß sich nicht eine Verunreinigung eingeschlichen hatte, was nicht von der Hand zu weisen wäre, wenn sich gar keine Beziehung derselben zum Ausgangsstamm ergeben würde.

Auf Grund der Untersuchungen von Weil und Felix, die eine Differenzierung der Antigene und Agglutinine in der Typhus-Paratyphus- und Proteusgruppe ergeben hatten, ist die Möglichkeit geboten, den serologischen Bau der hier gezüchteten Varianten viel schärfer zu analysieren, als dies früher der Fall war.

In einer jüngst erschienenen interessanten Arbeit haben Eisler und Silberstein durch Züchtung der Typhusbazillen auf trockenem und feuchtem Agar einen Doppeltypus von Rezeptoren und Agglutininen beschrieben, der, wie auch die beiden Autoren annehmen, mit den labilen und stabilen Rezeptoren resp. den groß- und kleinflockenden Agglutininen von Weil und Felix identisch sein dürfte. In dieser Arbeit findet sich der Hinweis, daß bereits Joos und Porges zwei verschiedenartige Agglutinine bei Typhusbazillen festgestellt hatten. Wir halten es für notwendig, hier in Kürze die Untersuchungen der beiden genannten Autoren zu besprechen, um einerseits nicht den Anschein zu erwecken, als ob wir denselben aus dem Wege gegangen wären, und andererseits zu zeigen, wie grundverschieden dieselben sich zu den Feststellungen von Weil und Felix verhalten.

Joos hat in den Typhusbazillen zwei Agglutinogene nachgewiesen, deren eines (α -Agglutinogen) nur den lebenden Bazillen eigen ist und bei 62° zerstört wird, deren anderes (β -Agglutinogen) dieser Temperatur widersteht. Jedes derselben erzeugt ein eigenes Agglutinin, ersteres das α -Agglutinin, das bei 62° nicht tangiert wird, letzteres das β -Agglutinin, das bei dieser Temperatur stark geschädigt wird. Da jedoch nach den Versuchen von Joos auch das reine β -Agglutinin nach Erhitzen auf 62° lebende Typhusbazillen agglutiniert, so ist er zu der seiner Theorie widersprechenden Annahme gezwungen, daß das β -Agglutinin auch zum Agglutinogen eine Affinität besitzt. Noch andere Unstimmigkeiten, die sich aus den Versuchen Joos' ergeben, machen die weitere Annahme nötig, daß sich beim Erhitzen des α -Agglutinogens Zersetzungsprodukte desselben bilden, welche selbst wiederum eigene Agglutinine erzeugen. Die Versuche

von Joos wurden, was Eisler und Silberstein bekannt sein dürfte von Kraus und Joachim nicht bestätigt. Wir sehen aber bereits aus dieser kurzen Wiedergabe der Experimente von Joos, deren genauere Durchsicht eine ganze Reihe von unerklärlichen Widersprüchen ergibt, daß dieselben mit den Ermittlungen von Weil und Felix nicht das geringste zu tun haben, da den Ausgangspunkt derselben die kulturelle Trennung zweier Bakterienformen mit verschiedenen serologischen Eigenschaften (O- und H-Form) bildete. Später wurden dann von H. Sachs die beiden Rezeptorentypen durch Erhitzen auf 80° zu differenzieren gesucht, aber Weil und Felix wiesen nach, daß eine 1–2stündige Erhitzung auf 100° hierzu nötig ist. Temperaturen von 62°, die Joos anwendet, reichen dazu in keiner Weise aus, und demnach können die Resultate von Joos, wenn sie richtig sind, mit unseren Ergebnissen nichts zu tun haben und müßten eine ganz andere Deutung erfahren. Auch die groß- und kleinflockenden Agglutinine, die bei Joos Erwähnung finden, hat er unter Bedingungen erzeugt, wie sie in Wirklichkeit niemals entstehen, was nur so zu deuten sein dürfte, daß er mit dieser Bezeichnung eine ganz andere Erscheinungsform der Agglutination gemeint haben muß als Weil und Felix.

Ebensowenig stehen die Versuche von Porges, dessen grundlegende Arbeiten über Agglutination uns wohlbekannt sind, in direkter Beziehung zum Doppeltypus der Rezeptoren und Agglutinine. Denn die Ansicht von Porges geht ja dahin, daß ihm durch Erhitzung der Typhusbazillen eine Umwandlung der Agglutinogene der lebenden Bakterien in einen anderen Zustand gelungen ist, und der Umstand, daß es ihm nicht möglich war, durch selektive Adsorption die „zustandsspezifischen“ Agglutinine zu trennen, ferner die Vorstellung, daß das Agglutinin der 100°-Bakterien in den lebenden Typhusbazillen nur in geringem Grade vorhanden ist (das Gegenteil ist der Fall), beweisen, wie grundverschieden diese Feststellungen von denen von Weil und Felix sind, nach welchen beide Antigene in den Bakterien präformiert sind und deren Trennung durch selektive Adsorption ohne weiteres gelingt. Wir können im Gegensatz zu Eisler und Silberstein weder Joos noch Porges als Vorgänger der von Weil und Felix ermittelten Tatsachen anerkennen.

Wir haben die Variante zunächst mit Immuns serum von HX 19 und HX 2 geprüft.

Versuch 1.

Titer	Immuns serum HX 19				Immuns serum HX 2			
	OX 2	OX 19	I	I R	OX 2	OX 19	I	I R
0,01	++	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	—	+++ m	+++ m
0,005	+	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	—	+++ „	+++ „
0,001	—	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	—	+++ „	+++ „
0,0005	—	+++ L	+++ L	+++ L	+++ L	—	+++ L	+++ L
0,0001	—	++ „	+++ „	+++ „	—	—	++ „	++ „
Kontr.	—	—	+	+	—	—	—	—

Alles in kleinen Flocken. Notiert nach 6 Stunden.

Zeichenerklärung: m bedeutet: makroskopisch sichtbar.

L „ mit der Lupe sichtbar.

Gleich dieser Versuch bringt insofern eine Ueberraschung, als beide Immunsere die Variante hoch agglutinieren, obwohl das X 19-Immunsere mit seinen O-Agglutininen auf den X 2 nur in geringem Maße, das X 2-Immunsere auf X 19 überhaupt nicht übergreift. Die Mitreaktion beider Immunsere mit der Variante ist durch die O-Agglutinine bedingt, was aus dem rein kleinflockigen Charakter der Agglutination hervorgeht. Bei der Beobachtung der Agglutination muß der Umstand berücksichtigt werden, daß die Variante eine Spontanflockung aufweist, die jedoch in den ersten Stunden nur mit der Lupe bemerkbar ist. Dort, wo eine spezifische Agglutination der Variante eintritt, ist sie in den stärkeren Konzentrationen nach 1—2 Stunden makroskopisch zu sehen, und ist auch in den Verdünnungen, wo eine Lupenbetrachtung nötig ist, ungewein viel stärker ausgesprochen als bei der spontan flockenden Kontrolle und von dieser bei einiger Uebung mit Leichtigkeit zu unterscheiden.

Die kleinflockige Agglutination der Variante mit HX-Immunsere würde zunächst nur beweisen, daß dieselbe keine Gemeinschaft der H-Rezeptoren mit den X-Stämmen besitzt; um aber zu untersuchen, ob bei der Variante H-Rezeptoren überhaupt vorhanden sind, war die Herstellung eines eigenen Immunsere nötig.

Versuch 2.

Kaninchen I und Kaninchen II dreimal mit je 1 Oese Agarkultur intravenös behandelt.

Agglutination.

Titer	Immunsere Kaninchen I				Immunsere Kaninchen II			
	I	HX 2	HX 19	OX 19	I	HX 2	HX 19	OX 19
0,02	+++ m	—	+++	+++	+++ m	+++	++	++
0,01	+++ "	—	+++	+++	+++ "	++	—	—
0,005	+++ "	—	++	+++	+++ "	+	—	—
0,0025	+++ "	—	—	+	+++ "	—	—	—
0,001	+++ "	—	—	—	+++ "	—	—	—
0,0005	+++ L	—	—	—	+++ L	—	—	—
0,00025	++ "	—	—	—	++ "	—	—	—
0,0001	+	—	—	—	+	—	—	—
Kontr.	+	—	—	—	—	—	—	—

Alles in kleinen Flocken.

3*

Komplementbindung.

	Immunserum Kaninchen I					Immunserum Kaninchen II				
	I	III	IV	OX 2	OX 19	I	III	IV	OX 2	OX 19
0,02	0	0	0	w	0	0	0	0	w	w
0,01	0	0	0	m	w	0	0	0	st	st
0,005	0	0	0	k	k	0	0	0	k	k
0,002	0	0	0	„	„	0	0	0	„	„
0,001	0	0	0	„	„	0	0	0	„	„

Kontrollen komplett.

Antigen: Von allen Emulsionen 0,1 (1 Agarkultur in 2 ccm).

Wir sehen, daß die eigenen Immunsere die Variante rein kleinflockig agglutinieren, ein Beweis, daß dieselbe eine O-Form darstellt, was ja auch schon aus ihrem nicht progressiven Wachstum mit Wahrscheinlichkeit zu erschließen war. Gleichzeitig aber zeigt sich ein Uebergreifen der Agglutinine auf X 19 und auf X 2, nicht gleichmäßig stark in beiden Immunsere. Das Uebergreifen jedoch hält sich in den Grenzen der Mitagglutination und ist viel weniger stark ausgesprochen als die Mitreaktion des X 2- und X 19-Immunserums auf die Variante. Der hier beigefügte Komplementbindungsversuch bestätigt das Ergebnis der Agglutination und zeigt auch, daß die Varianten III und IV mit Variante I identisch sind. Geht schon aus den bisherigen Versuchen mit aller Klarheit die wichtige Tatsache hervor, daß der O-Hauptrezeptor der Variante von dem O-Hauptrezeptor des X 19 und auch X 2 vollkommen verschieden ist, so hielten wir es für notwendig, diesen Befund durch eine Reihe weiterer Beweise zu sichern, indem wir zunächst noch eine Reihe von Immunsere mit verschiedenen Varianten herstellten.

Versuch 3.

Immunserum 1 (vorbehandelt mit St. I).

	I	I R	III	III H	HX 2	OX 2	HX 19	OX 19
0,01	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	+++	+++	+++	+++
0,005	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	++	+++	+++	+++
0,0025	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	—	++	++	++
0,001	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	—	—	+	++
0,0005	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	—	—	—	—
0,00025	+++ L	+++ L	+++ L	+++ L	—	—	—	—
0,0001	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	—	—	—	—
Kontr.	+ „	+ „	+ „	—	—	—	—	—

Alles in kleinen Flocken. Notiert nach 8 Stunden.

Komplementbindung.

	I	I R	III	III H	HX 2	HX 19
0,02	0	0	0	0	k	w
0,01	0	0	0	0	„	fk
0,005	0	0	0	0	„	k
0,002	0	0	0	0	—	—
0,001	0	0	0	0	—	—
0,0005	fk	st	fk	st	—	—
0,002	k	k	k	k	—	—

Kontrollen komplett. Antigen 0,15.

Versuch 4.

Immunserum 3 (vorbehandelt mit St. IV).

Resultat der Agglutination und Komplementbindung vollkommen identisch mit Immunserum 1.

Im Protokoll des vorangehenden Versuches findet sich die Bezeichnung I R und III H, die wir aus folgendem Grunde gewählt haben. Im Plattenausstrich aus einer Bouillonkultur der Variante I traten größere Kolonien auf, die wir als Rückschläge zur Ausgangskultur angesehen und daher mit R bezeichnet haben, und in einem Plattenausstrich aus einer Bouillon der Variante III fanden sich einzelne Kolonien mit hauchförmigem Wachstum, weshalb wir dieselben mit III H benannt haben. Das mit der Variante I vorbehandelte Kaninchen, welches das Immunserum 1 geliefert hatte, agglutiniert in ganz gleicher Weise die hier eingestellten Variantenstämme I, I R, III und III H rein kleinflockig, wobei bemerkenswert ist, daß die Variante III H nicht spontan flockt. Die X-Stämme werden in ihrer O-Form und H-Form nur in den Grenzen der Mitagglutinationen, und zwar ebenfalls rein kleinflockig agglutiniert. Auch die Komplementbindung ist wiederum konform mit dem Agglutinationsversuch ausgefallen. Das Immunserum 3, das mit der Variante IV hergestellt wurde, lieferte genau dasselbe Resultat.

Aus zwei Gründen war nun die Untersuchung eines Immunserums, das mit dem Stamme III H erzeugt war, interessant, und zwar um zu sehen, ob dieser Stamm auch serologisch sich wie eine H-Form verhält und, wenn dieses der Fall ist, ob die H-Rezeptoren desselben mit denen des Ausgangsstammes identisch, oder ebenso wie die O-Rezeptoren verschieden sind.

Versuch 5.
 Immuneserum 2 (vorbehandelt mit St. III HO).

	I	I R	III	III H	HX 2	OX 2	HX 19	OX 19
0,01	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++	+++ gr	+++ kl	+++ gr	+++ kl
0,005	+++ "	+++ "	+++ "	+++	+++ u.	+++ "	+++ u.	++ "
0,0025	+++ "	+++ "	+++ "	+++	+++ kl	+	+++ kl	+
0,001	+++ "	+++ "	+++ "	+++	++ gr	—	++ gr	—
0,0005	+++ "	+++ "	+++ "	+++	++ "	—	++ "	—
0,00025	+++ "	+++ "	+++ "	+++	++ "	—	++ "	—
0,0001	+++ "	+++ "	+++ "	+++	++ "	—	++ "	—
0,00005	+++ "	+++ "	+++ "	+++	++ "	—	++ "	—
Kontr.	+	+	+	—	—	—	—	—

Notiert nach 8 Stunden.

Komplementbindung.

	I	I R	III	III H	HX 2	HX 19
0,02	0	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	w	0
0,005	0	0	0	0	st	m
0,002	0	0	0	0	k	k
0,001	0	0	0	0	"	"
0,005	st	fk	fk	fk	"	"

Versuch 6.

Immuneserum 4 (ebenfalls vorbehandelt mit III H).

Resultat der Agglutination und Komplementbindung identisch mit Immuneserum 2, nur mit dem Unterschied, daß OX 2 und OX 19 um eine Verdünnung höher agglutiniert werden.

Auch das Resultat dieser Versuche ist vollkommen eindeutig und zeigt zunächst, was bereits aus dem vorangehenden Versuch ersichtlich war, daß die O-Rezeptoren des Stammes III H die gleichen sind wie die der übrigen Varianten, denn das Immuneserum agglutiniert alle Varianten gleich hoch und die O-Formen der X-Stämme viel niedriger. Dahingegen treten aber für den erzeugenden Stamm neben den kleinen auch große Flocken bis zur Titergrenze auf, und auch die H-Formen der X-Stämme werden bis zum Endtiter in großen Flocken ausgefällt. Damit ist der Beweis erbracht, daß die H-Rezeptoren der Variante III H mit denen der X-Stämme vollkommen gleich sind und daß sich dieser Stamm von den X-Stämmen nur durch die O-Rezeptoren differenzieren läßt. Daß im Komplementbindungsversuch die Reaktion mit den H-Formen der X-Stämme trotz der Gemeinschaft der großflockenden Agglutinine viel geringer ist als mit den Varianten

stimmt mit den Ermittlungen des Verfassers überein, der zeigen konnte, daß die Komplementbindung in erster Linie mit den kleinflockenden Agglutininen parallel geht.

Um unsere bisherigen Feststellungen auf eine breitere Basis zu stellen und sie zu erweitern, haben wir weitere 3 Kaninchen mit OX 2 und 3 Kaninchen mit OX 19 3 mal intravenös vorbehandelt und die Wirkung ihrer Sera auf die Varianten geprüft¹⁾.

Versuch 7.
Immuns Serum 3 (vorbehandelt mit OX 2).

	I R		III H		HX 2		HX 19	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0,01	+++	L +++ m	—	+++ m	—	+++	—	—
0,005	+	” +++ ”	—	+++ ”	—	+++	—	—
0,0025	+	” +++ ”	—	+++ ”	—	+++	—	—
0,001	—	+++ L	—	+++ L	—	+++	—	—
0,0005	—	++ L	—	++ ”	—	+++	—	—
0,0001	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontr.	+	—	—	—	—	—	—	—

Notiert nach 5 Stunden.

Komplementbindung.

	I		I R		III		III H		HX 2		HX 19	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
0,05	k	0	k	0	k	0	k	0	m	0	k	k
0,02	”	0	”	0	”	0	”	0	w	0	”	”
0,01	”	0	”	0	”	0	”	0	k	0	”	”
0,005	—	m	—	w	—	w	—	w	—	0	—	—
0,0025	—	k	—	k	—	k	—	k	—	0	—	—
0,001	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	—
0,0025	—	—	—	—	—	—	—	—	—	w	—	—

In der Rubrik a ist die Titration der Sera vor der Behandlung, in der Rubrik b nach derselben.

Die Resultate der Immunsere 4 und 5 stimmen mit dem des Immunsereums 3 fast vollkommen überein.

1) Was die Herstellung reiner OX-Immunsere betrifft, so halten wir es für angezeigt, sich jedesmal davon zu überzeugen, ob die zur Immunisierung der Tiere zu verwendende Kultur auch wirklich völlig frei von H-Individuen ist. Dies geschieht auf die Weise, daß man von einer verdünnten Aufschwemmung der fraglichen O-Kultur eine Platte streicht, dieselbe 3 Tage beobachtet und von einer isolierten Kolonie, die nicht progressiv wächst, abimpft. Man erhält auf diese Weise eine sicher reine O-Kultur, mittels welcher die Herstellung eines absolut reinen O-Immunsereums niemals mißlingt, selbst bei oftmaliger Vorbehandlung der Tiere.

Versuch 8.
Immunsrum 6 (vorbehandelt mit OX 19).

	I		I R		III H		HX 2		HX 19	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
0,01	++ L	++++ m	++ L	+++ m	—	+++ L	—	—	—	+++
0,005	+ „	+++ „	+ „	+++ „	—	+++ „	—	—	—	+++
0,001	+ „	+++ L	+ „	+++ L	—	+++ „	—	—	—	+++
0,0005	—	++ „	—	++ „	—	++ „	—	—	—	+++
0,0001	—	+ „	—	+ „	—	+ „	—	—	—	++
Kontr.	+ L	—	+ L	—	—	—	—	—	—	—

Notiert nach 5 Stunden.

Komplementbindung.

	I		I R		III		III H		HX 2		HX 19	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
0,01	k	0	k	0	k	0	k	0	k	st	k	0
0,005	„	0	„	0	„	0	„	0	„	k	„	0
0,0025	—	st	—	fk	—	fk	—	fk	—	„	—	0
0,001	—	k	—	k	—	k	—	k	—	„	—	w

Antigen 0,1.

Die Resultate der Immunsra 7 und 8 stimmen mit dem des Immuns-
 serums 6 fast vollkommen überein.

Diese Versuche lehren, was zum Teil auch schon dem
 Versuche 1 zu entnehmen war, daß die O-Rezeptoren von
 X 2 und X 19, die aufeinander nicht, oder nur geringgradig
 (in diesem Versuche überhaupt nicht) übergreifen, in gleicher
 Weise Agglutinine für die Varianten erzeugen, und zwar in
 einer Höhe, welche der der Hauptagglutination nahezu gleich-
 kommt. Nur betreffs der Komplementbindung tritt eine
 Wirkungsdifferenz zugunsten des erzeugenden Stammes zu-
 tage, was aber daran zu liegen scheint, daß die Varianten
 zur Komplementbindung noch schlechter geeignet sind, als
 der ohnehin schwach wirksame X 19. (X 2 liefert ein brauch-
 bares Antigen.)

Der Hauptgrund aber, weshalb wir die genannten 6 Immun-
 sera hergestellt haben, war der, um durch genaue Bindungs-
 versuche ein klares Bild von dem serologischen Bau der
 Varianten und deren Beziehungen zu den X-Stämmen zu
 gewinnen. Der Gang der Versuche war derart, daß wir
 sämtliche Immunsra, welche außer den homologen Stämmen
 die Varianten stark agglutinierten, mit dem erzeugenden
 Stamme und den Varianten erschöpften und gegenseitig

Versuch 9.
Immunsorum 5 (OX 2).
Behandlung: 1 cem der Serumverdünnung 1:10 wird mit je zwei Agarkulturen der lebenden Kultur erschöpft.

	Behandelt mit R I				Behandelt mit III H				Behandelt mit HX 2				Unbehandelt			
	R I	III H	HX 2		R I	III H	HX 2		R I	III H	HX 2		R I	III H	HX 2	
0,01	+++ L	-	+++ m	+++ L	-	+++ m	+++ L	+++ L	-	+++ m	+++ L	+++ L	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m
0,005	++	-	+++ "	++	-	+++ "	++	++	-	++	++	++	++	++	++	++
0,0025	+	-	+++ "	+	-	+++ "	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
0,001	+	-	+++ "	+	-	+++ "	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
0,0005	-	-	+++ L	-	-	+++ L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,0001	-	-	---	-	-	---	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontr.	+	-	L	---	-	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---

Notiert nach 5 Stunden.
 Die mit den OX 2-Immunsoren 3 und 4 nach demselben Schema angestellten Versuche ergaben genau dasselbe Resultat wie Versuch 9.

Versuch 10.
Immunsorum 7 (OX 19).
Behandlung: 1 cem der Serumverdünnung 1:10 wird mit je zwei Agarkulturen der lebenden Kultur erschöpft.

	Behandelt mit R I				Behandelt mit III H				Behandelt mit HX 19				Behandelt mit OX 19				Unbehandelt				
	R I	III H	HX 19		R I	III H	HX 19		R I	III H	HX 19		R I	III H	HX 19		R I	III H	HX 19		
0,01	++ L	-	+++ m	+++ L	-	+++ m	+++ L	+++ L	-	+++ m	+++ L	+++ L	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m	+++ m
0,005	++	-	+++ "	++	-	+++ "	++	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
0,0025	+	-	+++ "	+	-	+++ "	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,001	+	-	+++ L	+	-	+++ L	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0005	-	-	+++ "	-	-	+++ "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,0001	-	-	---	-	-	---	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontr.	+	-	L	---	-	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Die mit den OX 19-Immunsoren 6 und 8 mehrmals ausgeführten analogen Versuche ergaben ein im Versuch 10 wieder gegebenes vollkommen gleiches Resultat.

agglutinierten. Wir geben nur je einen Versuch tabellarisch wieder.

Aus den beiden Versuchen geht zunächst übereinstimmend hervor, daß die beiden Varianten (R I und III H) nur ihre eigenen Agglutinine, und zwar auch gegenseitig binden, was die serologische Identität ihrer O-Rezeptoren beweist, da die hier verwendeten Immunsera reine O-Immunsera sind. Weiter zeigen die beiden Versuche in übereinstimmender Weise, daß die Agglutinine der homologen Stämme von den Varianten nicht tangiert werden, was zu dem Schlusse berechtigt, daß die gegen die Varianten gerichteten Agglutinine von den spezifischen Agglutininen der erzeugenden Stämme völlig verschieden sind. Hinsichtlich der Behandlung der Immunsera durch die homologen Stämme tritt aber eine wesentliche Differenz zwischen X 2 und X 19 zutage, indem durch die Erschöpfung der X 2 Immunsera durch X 2 sämtliche Agglutinine, nicht nur für den erzeugenden Stamm, sondern erwartungsgemäß auch für die Varianten gebunden werden, während aus den X 19-Immunseren X 19 die eigenen Agglutinine vollkommen, die auf die Varianten wirkenden jedoch nur in ganz geringem Maße schwinden. Dieser letztere Umstand könnte die Veranlassung geben, zu glauben, daß die bindende Gruppe für die Agglutininproduktion belanglos ist, da X 19 die Variantenagglutinine erzeugt, sie aber nicht gebunden hat. Aber in diesem speziellen Falle gibt es einen Ausweg, den ja bereits Ehrlich schon gefunden hat. Denn diese Tatsache wird erklärt mit der Annahme, daß die den Variantenagglutininen entsprechenden Agglutinogene des X 19 in so geringer Menge vorhanden sind, daß sie nicht zur Bindung, wohl aber zur Agglutininproduktion ausreichen. Weil und Felix haben ja auf analoge Verhältnisse bei anderen Bakterien schon hingewiesen. Die mit den Varianten gemeinsamen Agglutinogene des X 2 sind jedoch in beträchtlicherer Menge vorhanden, so daß sie ausreichen, die von ihnen erzeugten Agglutinine zu verankern.

Ein sehr wichtiger Umstand, dem von den meisten Autoren die größte Bedeutung für die Bewertung einer erzielten Variante beigelegt wird, ist die Frage der erblichen Konstanz resp. die Dauerhaftigkeit des Bestehens der veränderten Formen.

Die komplizierten Erwägungen beinahe sämtlicher Forscher, um zu einer Entscheidung zu gelangen, ob bei Bakterien Mutationen überhaupt vorkommen und, wenn dies der Fall ist, welche Veränderungen man als maßgebend dafür anzusehen hat, beziehen sich zum größten Teil darauf, ob die gewonnenen Varianten nunmehr unveränderlich sind. Toenniessen hat in jüngster Zeit Kriterien angegeben, nach welchen der Grad der erblichen Festigung gemessen werden kann. Bleiben nämlich die veränderten Formen in sehr alten Kulturen oder nach zahlreichen Tierpassagen, da im Tierkörper ein konträrer Reiz wirkt, bestehen, so ist ein hoher Grad erblicher Konstanz anzunehmen.

Unsere Varianten wurden hinsichtlich ihrer Dauerhaftigkeit einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Wir konnten zunächst bei den auf mehr als ein halbes Jahr sich erstreckenden sehr häufigen Ueberimpfungen auf Agar und Bouillon niemals Veränderungen in den Kulturen bemerken, die als Rückschläge zum Ausgangsstamm hätten gedeutet werden können. Wir haben außerdem alte Bouillonkulturen geprüft, die sich nicht nur für das Auftreten von Varianten eignen, sondern in denen auch Rückschläge am leichtesten erfolgen, was man hinsichtlich des Umschlagens der H- in O-Formen und umgekehrt bei den X-Stämmen leicht verfolgen kann. Wir haben am 13. Dezember 1919 Bouillonkulturen geprüft, die teils vom 10. August, teils vom 1. Oktober 1919 stammten, und zwar in der Weise, daß wir auf Agarplatten ausstrichen, isolierte Kolonien auf Schrägagar abimpften und serologisch untersuchten. Wir haben insbesondere jene Kolonien ausgewählt, welche größer waren (die wir als R bezeichnet haben), da die kleinen Kolonien schon durch ihr Aussehen sich vom Ausgangsstamm als different erwiesen. Die serologische Prüfung wurde mit den Immunseren von HX 2, OX 2, OX 19 und der Variante I vorgenommen. Das H-Immunserum mußte vorhandene H-Rezeptoren anzeigen, an der starken Agglutination nicht nur des Varianten-Immunserums, sondern auch der Immunsera von OX 19 und OX 2 war die Variante zu erkennen, während ein Rückschlag zum Ausgangsstamm (X 19) dadurch kenntlich sein mußte, daß er vom OX 2-Immunserum gar nicht und vom Varianten-Immunserum nur geringgradig agglutiniert würde.

Eine Unterscheidung der O-Formen der X-Stämme von denen der Varianten ist auch dadurch möglich, daß erstere nach Agglutination mit den homologen Immunsereen einen Bodensatz bilden, der, obwohl die Agglutination ausschließlich in kleinen Flocken erfolgt, in den stärkeren Serumkonzentrationen zu einer Haut verschmolzen ist, die sich nach 18 bis 24 Stunden nur zu groben Fetzen zerschütteln läßt (was irrtümlich zur Bezeichnung der groben Flocken Anlaß gegeben hat) während der Bodensatz der Varianten auch in den stärksten Serumkonzentrationen sich durch Schütteln leicht und gleichmäßig in kleine Flöckchen zerteilen läßt.

Auf die Wiedergabe der sehr umfangreichen Tabellen, die allerdings zur Veranschaulichung des Gesagten viel beitragen würden, wollen wir aus Raumersparnis verzichten.

Die vom 10. August stammenden Bouillonkulturen zeigten bei der Plattenüberimpfung am 13. Dezember folgendes: Aus der OX 19-Kultur sind einzelne Kolonien in die H-Form umgeschlagen. Von den Variantenkulturen I R und III zeigen zahlreiche Kolonien progressives Wachstum (H-Form). Die Variantenkulturen I, II, IV wiesen dem Aussehen nach keine Veränderung auf. Serologisch waren die Variantenkulturen unverändert, denn auch die in die H-Form umgeschlagenen Kolonien von I R und III hatten den O-Rezeptor der Varianten und waren der früher beschriebenen Variante III H gleich.

Die Bouillonkulturen vom 1. Oktober wiesen folgendes Verhalten auf: Der Plattenausstrich der OX 19-Kultur zeigte nur O-Formen, die Variantenkultur III wiederum Umschläge in die H-Form. Dahingegen waren die Variantenkulturen I, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII sowohl kulturell als auch serologisch unverändert.

Eine weitere Prüfung wurde am 25. Februar 1920 vorgenommen mit Bouillonkulturen, die am 24. Oktober 1919 angelegt waren. Es wurden untersucht die Variantenkulturen I R, I RH, II R, III H, IV bis XII. Alle erwiesen sich serologisch und kulturell unverändert.

Am 8. Juli 1920 wurden dieselben, vom 24. Oktober 1919 stammenden Kulturen neuerdings untersucht. Hierbei zeigte sich zunächst die interessante Tatsache, daß aus der OX 19-Kultur kleine Kolonien wuchsen, die sich mit

der Variante als identisch erwiesen; es war also wiederum eine Abspaltung aus der Ausgangskultur erfolgt. Außer eines Umschlagens von mehreren Kolonien der Variante XII in die H-Form waren sämtliche Varianten konstant geblieben.

Um den Forderungen von Toenniessen gerecht zu werden, wurde eine letzte Prüfung auf die Weise durchgeführt, daß Agar-Stichkulturen, die 1 Jahr und 2 Monate alt waren, einer Untersuchung unterzogen wurden, und zwar in der Weise, daß von der Agarkultur reichlich auf Bouillon überimpft, 2 Tage im Brutschrank und 2 Tage bei Zimmertemperatur beobachtet wurde. Während nämlich OX 19, HX 19 sowie die H-Formen der Varianten die Bouillon gleichmäßig trüben, wachsen die O-Formen der Varianten ihrer Spontanagglutination entsprechend in der Bouillon in kleinen Flöckchen, die sich nach einiger Zeit zu Boden senken, so daß die überstehende Bouillon klar wird. Auf diesem Wege kann man schon aus der Bouillonkultur mit Sicherheit erkennen, ob sich eine Veränderung an den Varianten vollzogen hat. Wir haben auf diese Weise die Stämme I, I R, II, IV, IX R, X R, ferner die H-Formen der Varianten I RH, III H, XII H geprüft. Während die letzten 3 Stämme die Bouillon trübten, zeigten die ersten 6 eine Bodensatzbildung mit fast klar überstehender Flüssigkeit. Obwohl schon damit erwiesen war, daß die O-Formen der Varianten unverändert geblieben waren, haben wir sowohl diese als auch die H-Formen in der oben beschriebenen Weise serologisch untersucht, indem zunächst von allen Bouillonkulturen Agarplatten gestrichen und von isolierten Kolonien Schrägagarkulturen angelegt wurden. Alle Kolonien waren ausnahmslos hinsichtlich ihres sorologischen Baues konstant geblieben.

Es unterliegt nach diesen Untersuchungen keinem Zweifel, daß die hier gewonnene Variante eine erbliche Festigkeit besitzt, die so stark ist, daß sie innerhalb von mehr als zwei Jahren bei zahlreichen Ueberimpfungen und gegenüber allen jenen Prozeduren, welche geeignet sind, bei nicht ausgesprochener Konstanz einen Rückschlag zu bewirken, unverändert geblieben ist. Es ist damit natürlich nicht gesagt, daß die Konstanz eine absolute ist, und es muß betont werden,

daß diese Frage bei Bakterien auch nicht von prinzipieller Bedeutung ist. Denn es hat ja gerade das Variationsstudium bei Bakterien gelehrt, daß bei diesen Organismen eine absolute Konstanz meist nicht besteht, und daß man bei den meisten Keimen Abspaltungen erzielen kann. Wenn man z. B. aus der Bouillonkultur eines Ausgangsstammes frühestens nach 2 Monaten eine Variante erzielen kann, und diese abgespaltene Variante in der Bouillon frühestens in 3 Monaten in den Ausgangsstamm in einzelnen Exemplaren zurückschlägt, so muß man der Variante eine größere Konstanz zuschreiben als dem Originalstamm. Wenn man diese, wie uns scheint, berechtigten Erwägungen gelten läßt, so wird man bezüglich der Beurteilung der erblichen Konstanz bei Varianten hinsichtlich ihres Vergleiches mit dem Ausgangsstamm zu ganz anderen Ansichten als bisher gelangen. Von diesen Gesichtspunkten aus, betrachtet besitzt die von uns gezüchtete Variante des OX 19 eine ausgesprochenere Festigung als der Ausgangsstamm, da dieser innerhalb der Zeitdauer unserer Versuche abermals eine Variante gebildet hat, während die Variante innerhalb derselben Zeit eine Veränderung nicht erfahren hat. Sowohl aus diesem Grunde als auch wegen der geringen und schwankenden Tiervirulenz der X-Stämme haben wir darauf verzichtet, auch durch Tierpassagen uns von der erblichen Festigung unserer Variante zu überzeugen, zumal das auch nach den Feststellungen von Lingelsheim kein absolutes Kriterium dafür zu sein scheint, da die von ihm gezüchtete Typhusvariante Tierpassagen gegenüber unverändert blieb, während sie in Kulturmedien öfters in den Ausgangsstamm zurückschlug.

Bevor wir zu der Frage Stellung nehmen, in welche Kategorie der Variation wir unsere Stämme einreihen sollen, müssen wir in aller Kürze den heutigen Stand des Variationsproblems streifen, welches im Zusammenhang mit den verschiedenen Anschauungen, ob man bei Bakterien von Mutationen zu sprechen Berechtigung hat oder nicht, in eingehender Weise diskutiert wurde. Lehmann und Toenniessen, die auf Grund von experimentellen Erfahrungen in scharfsinniger und geistvoller Weise dieses Thema erörtert haben, gelangen gerade in den Hauptpunkten zu einer gegenteiligen Auffassung.

Lehmann stellt die These auf, daß man bei Bakterien schon deshalb von Mutationen nicht sprechen könne, weil es bei diesen infolge des Fehlens von Genen reine Linien nicht gebe. Da bei Bakterien nur eine vegetative Vermehrung möglich sei, habe man bei ihnen nie die Gewähr für eine homozygotische Abkunft der Nachkommen. Da aber eine Mutation nur durch Veränderung von Genen zustande komme und der Nachweis einer Genanalyse bis jetzt nur durch Bastardierung möglich sei, so sei bei den ungeschlechtlich sich vermehrenden Bakterien der Mutationsbegriff vorderhand überhaupt nicht anwendbar. Da für die asexuell entstandene Nachkommenschaft die Bezeichnung Klon eingeführt wurde, so wendet Lehmann den Ausdruck Klonumbildung statt des irreführenden Begriffes Mutation an.

Toenniessen hingegen vertritt die Ansicht, obwohl er Lehmann darin, daß man nur bei reinen Linien und bei Veränderung des Gens von Mutation sprechen könne, beipflichtet, daß die Fortpflanzung der Bakterien nicht der vegetativen Vermehrung der Metazoen gleichzusetzen sei, sondern daß Bakterien selbst Gameten darstellen und ihre Fortpflanzung als eine durch die Keimzellen bedingte anzusehen sei. Daher könne man bei Bakterien wohl von reinen Linien sprechen. Wenn es auch sicherstehe, daß durch die Mendelschen Regeln Genanalyse durchführbar sei, so gebe es doch Faktoren, die auf Gene zurückzuführen seien und die nicht den Mendelschen Gesetzen unterliegen. Folglich sei man auch berechtigt, bei Bakterien von Genen und Mutationen zu sprechen.

Wir sehen, daß hier einander Auffassungen gegenüberstehen, deren Gültigkeit und deren Entscheidung nur schwer durch Beweise zu erbringen sind. Doch auch diese beiden verschiedenen Auffassungen stimmen darin überein, daß für die Wertung einer Variation in erster Linie der Grad der erblichen Festigung maßgebend ist, und es ist für den Kernpunkt der Frage, soweit praktisch-experimentelle Ergebnisse in Betracht kommen, nicht von ausschlaggebender Bedeutung, ob man von Mutation oder von Klonumbildung spricht, wenn die erbliche Konstanz der veränderten Form eine sehr große ist. Dies dürfte auch der Meinung von Lehmann und

Toenniessen entsprechen. Wenn wir nun annehmen, ohne eine Entscheidung in den differenten Anschauungen der beiden Autoren treffen zu wollen, daß die Anwendung des Mutationsbegriffes auch für Bakterien nicht unstatthaft ist, so würde, was zunächst die erbliche Festigung anlangt, unsere Variante den an Mutanten gestellten Anforderungen, wie bereits ausgeführt wurde, entsprechen.

Sehr wichtig scheint uns die Feststellung, in welchem Grade unsere Variante vom Ausgangsstamm abweicht, und in welcher Weise diese Veränderung zu beurteilen ist. Wir haben bereits eingangs erwähnt, daß in den bisherigen Variationsversuchen den kulturellen, morphologischen und chemischen Veränderungen das Hauptaugenmerk zugewendet wurde, und auch die wenigen, von Toenniessen als echte Mutanten anerkannten Varianten weisen nur die genannten Abweichungen auf. Obwohl auch unsere Variante an dem von der Norm differenten Aussehen der Kolonie erkannt wurde, haben wir doch das Hauptgewicht auf das Studium der serologischen Veränderungen gelegt. Wie aus unseren vorangehend mitgeteilten Versuchen hervorgeht, ist die serologische Veränderung gegenüber dem Ausgangsstamm so tiefgreifend, daß die spezifischen O-Rezeptoren des X 19, welche diesen Stamm von allen anderen Proteusstämmen differenzieren, in Verlust geraten oder verkümmert sind, während neue Hauptrezeptoren aufgetreten sind. Durch eine serologische Untersuchung würde die Variante im besten Falle als verwandt mit dem Ausgangsstamm, niemals aber mit diesem als identisch angesehen werden können. Interessanterweise haben diejenigen Variantenstämme, welche in die H-Form umgeschlagen sind (III H usw.) hinsichtlich ihrer H-Rezeptoren keine Veränderung gegenüber dem Ausgangsstamm erfahren. Wie auch aus den nachfolgenden Arbeiten ersichtlich ist, sind die labilen Rezeptoren auch bei den anderen untersuchten Bakterienstämmen viel weniger zu Veränderungen befähigt als die stabilen Rezeptoren.

Wenn wir unsere jetzige Variante mit der von Verf. und Felix gefundenen O-Form des X 19 vergleichen, so wird es klar, daß die letztere viel weniger tiefgreifend verändert ist als die erstere. Denn bei der O-Form der X-Stämme handelt es

sich ja um nichts anderes als serologisch um einen Verlust der H-Rezeptoren und kulturell um einen Verlust des progressiven Wachstums. Beide Momente dürften in einem innigen Zusammenhang stehen, da durch die wichtigen Untersuchungen von Braun und Jötten der Nachweis erbracht worden ist, daß die O-Formen unbegeißelt sind. Die viel geringgradigere Veränderung der O-Form der X-Stämme dürfte auch die Ursache darstellen, daß diese viel weniger erblich fixiert sind, da Rückschläge in die H-Form, worauf schon anfangs Verf. und Felix hingewiesen haben, vorkommen, die ja in nichts anderem bestehen, als in einem Wiederauftreten der abgeworfenen Geißeln, während bei der tiefgreifend alterierten Variante ein viel komplizierterer Umbildungsprozeß eintreten müßte. Es hat den Anschein, daß die erbliche Konstanz serologisch veränderter Varianten um so dauernder ist, je tiefgehender die Veränderungen sind, die sie erfahren haben. Verlust von spezifischen Hauptrezeptoren und Erwerbung von neuen Hauptrezeptoren scheinen einen hohen Grad der Alteration anzuzeigen. Beides ist bei unserer Variante der Fall.

Aus unseren Untersuchungen scheint hervorzugehen, daß die Veränderung der Variante sprunghaft erfolgt ist, da wir Zwischenformen nicht beobachtet haben. Aber die nachfolgende Untersuchung von Felix, welcher serologische Varianten anderer X-Stämme einer eingehenderen Untersuchung unterzogen hat, zeigen, daß sowohl beim Verlust als auch beim Auftreten des Hauptrezeptors Uebergänge und Zwischenglieder zu konstatieren sind. Dies steht im Einklang mit der in neuerer Zeit immer mehr und mehr zur Anerkennung gelangenden Tatsache, daß es sich auch bei der echten Mutation nicht um eine plötzliche, sondern um eine allmählich sich vollziehende Veränderung handelt. Auch der Umstand, daß in den Kulturen, in welchen die Varianten aufgetreten sind, diese nur vereinzelte Kolonien betrafen, entspricht vollkommen den Verhältnissen, die wir bei Mutationen zu sehen gewohnt sind (Toenniessen).

Wenn wir noch in Erwägung ziehen, daß die allergrößte Mehrzahl der bei Bakterien beschriebenen Mutanten als Ver-

lustmutanten anzusehen sind, so unterscheidet sich unsere Variante von diesen ganz wesentlich dadurch, daß hier die Neuerwerbung eines für den spezifischen Bau eines Mikroorganismus sehr wichtigen Anteiles, des spezifischen Hauptrezeptors, vorliegt.

Wir haben im einleitenden Teil dieser Mitteilung erwähnt, daß wir zu den vorliegenden Untersuchungen durch die rätselhaften Beziehungen zwischen X 2 und X 19 angeregt wurden, und es fragt sich nun, ob die Resultate unserer Experimente eine befriedigende Lösung in dieser Hinsicht gestatten. Die Lösung wäre eine vollkommene, wenn wir aus dem X 19 durch Abspaltung einen X 2 erhalten hätten. Das ist uns jedoch nicht geglückt. Aber wir entnehmen aus den vorangehend mitgeteilten Versuchen, daß unsere Variante zum X 2 zumindest dieselben, vielleicht sogar innigere Beziehungen aufweist als zum X 19, denn es ist die Rezeptorengemeinschaft mit X 2 eine größere als mit X 19. Das geht klar aus den Versuchen hervor, in welchen gezeigt werden konnte, daß der Stamm X 2, dessen Immunserum die Variante hoch mitagglutiniert, die Mitagglutinine vollkommen bindet, während der Stamm X 19, dessen Immunserum die Variante ebenfalls in starkem Maße agglutiniert, die Mitagglutinine gar nicht oder nur in geringem Grade verankert. Es sei daran erinnert, daß ähnliche Verhältnisse beim menschlichen Fleckfieber vorliegen, welches bekanntlich den X 2 spezifisch, wenn auch mit niedrigem Titer agglutiniert, ohne daß jedoch X 19 die X 2-Agglutinine bindet. Diese für viele Autoren befremdende Tatsache findet in unseren jetzigen Versuchen ein vollkommenes Analogon und war allerdings schon durch die früheren Experimente von Verf. und Felix geklärt, in welchen konstatiert wurde, daß durch intensive Vorbehandlung von Kaninchen mit X 19 ein Serum gewonnen wird, welches X 2 mitagglutiniert, aus welchem jedoch die X 2-Agglutinine durch X 19 nicht oder nur unwesentlich verankert wurden. Hier wie dort ist die Ursache die geringe Menge der zwischen X 2 und X 19 gemeinsamen bindenden Gruppen, die zur Agglutininzeugung, nicht aber zur Agglutininbindung ausreichen.

Daß es uns nicht gelungen ist, den typischen X 2 aus der

X 19-Kultur als Variante zu erhalten, wird verständlich, wenn wir die beifolgenden Versuche von Felix einer Betrachtung unterziehen. Felix hat verschiedene X 19-Stämme auf ihre Variationsfähigkeit geprüft und ganz andere Varianten als die von uns beschriebenen erhalten. Es wäre demnach als ein Zufall anzusehen, wenn es glücken sollte, aus einem X 19 einen typischen X 2 zu gewinnen. Alles in allem scheint der Schluß gerechtfertigt, daß der X 2, den wir von Fleckfieberkranken gezüchtet haben, als eine Variante des X 19, der bei der damaligen Epidemie aufgetreten war, angesehen werden kann, und daß die Möglichkeit besteht, daß noch eine ganze Reihe anderer Varianten existieren, die vom Ausgangsstamme, dem X 19, so weit entfernt sein können, daß man ihre Abkunft von diesem auf serologischem Wege nicht mehr erkennen kann.

Noch auf einen Umstand müssen wir hinweisen. Es war uns, als wir unsere Variante mit hochagglutinierenden Seren von Fleckfieberkranken prüften, im höchsten Maße überraschend, daß wir eine spezifische Agglutination mit diesen nicht nachweisen konnten, obwohl, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, die künstlichen, mit X 19 hergestellten Immunsere die Variante in starkem Maße agglutinieren. Diese Tatsache wirkt jedoch nicht so befremdend, wenn man einen Vergleich zwischen der Fleckfieberagglutination und den mit X 19 erzeugten künstlichen Agglutininen zieht. Nachdem es gelungen ist, beim fleckfieberinfizierten Kaninchen Agglutinine gegen X 19 nachzuweisen, kann wohl nicht mehr daran gezweifelt werden, daß die Agglutinogene des Fleckfiebererregers mit den O-Rezeptoren des X 19 identisch sind. Der Umstand, daß weder beim fleckfieberkranken Menschen, noch beim fleckfieberinfizierten Kaninchen (von vereinzelt Ausnahmen abgesehen) H-Agglutinine auftreten, weist darauf hin, daß dem Fleckfiebererreger in der Regel antigene Gruppen, die den H-Rezeptoren identisch sind, fehlen. Da nun auch die gemeinsamen Agglutinine zwischen X 19 und der Variante im Fleckfieberserum nicht nachweisbar sind, so deutet dies darauf hin, daß dem Fleckfiebererreger außer den H-Rezeptoren auch ein beträchtlicher Teil von Nebenrezeptoren des O-Typus fehlen, was wiederum beweist, daß der Fleckfiebererreger einen viel weniger

4*

differenzierten antigenen Apparat, vielleicht auch einen wesentlich reduzierteren Bau besitzt als der X 19.

Praktisch und theoretisch von großer Wichtigkeit ist schließlich die Frage, ob die bei unserer Variante festgestellten Veränderungen so tiefgreifend sind, daß man berechtigt ist, von einer neuen Bakterienart zu sprechen. Diese Entscheidung drängt sich um so mehr auf, als unser Befund nicht vereinzelt dasteht. Die im Anschluß an unsere Versuche entstandenen Untersuchungen von Breinl, Felix, Fürth und Gruschka zeigen, daß auch bei Dysenterie, bei anderen X-Stämmen, bei Typhus, Paratyphen etc. Resultate erzielt wurden, welche den unsrigen analog sind, indem bei allen diesen Keimen Varianten zur Beobachtung gelangt sind, welche einen spezifischen Hauptrezeptor verloren und einen neuen, andersartigen erworben haben. Insbesondere bei den toxischen Dysenteriebazillen, die ja nur stabile Rezeptoren besitzen, ist die Veränderung der Varianten derart, daß serologische Beziehungen zum Ausgangsstamm überhaupt nicht mehr bestehen.

Ein genaueres Verständnis unserer eigenen Befunde hinsichtlich der Artfrage ist nur möglich, wenn wir in Kürze die Serologie der Proteusgruppe besprechen. Durch die Befunde von Verf. und Felix ist es sichergestellt, daß in der Proteusgruppe zwei Rezeptorentypen nachweisbar sind, die H-Rezeptoren, welche größere Gruppen zusammenfassen, und die O-Rezeptoren, welche eine Differenzierung innerhalb dieser Gruppen ermöglichen. Auf diese Weise waren die X-Stämme von den gewöhnlichen Proteusstämmen zu sondern. Daß unser Einteilungsprinzip kein willkürliches oder spekulatives ist, beweist der Umstand, daß H. Braun selbständig, mit Hilfe einer anderen Methodik (Unterdrückung der H-Rezeptoren durch Karbol) zu genau denselben Ergebnissen wie wir gelangt ist. Aber die Schwierigkeit besteht darin, zu entscheiden, ob es zulässig ist, die O-Rezeptoren als artdifferenzierendes Merkmal in der Proteusgruppe zu benutzen, und ob es gerechtfertigt ist, die X-Stämme von den Proteusstämmen der Gruppe III, mit denen sie die Gemeinsamkeit der H-Rezeptoren verbindet, als eigene Arten abzusondern. Aber wiederum taucht der Zweifel auf, ob man den serologischen Eigenschaften eines Mikroorganismus, vor den kulturellen,

den morphologischen, biologischen und chemischen Merkmalen das Hauptgewicht zusprechen soll, zumal diese bei vielen Bakterien nicht Hand in Hand gehen, da man insbesondere serologische Differenzen bei kultureller Uebereinstimmung oft beobachten kann (Coli-, Proteus-, Paratyphusgruppe). Ein weiteres wichtiges differenzierendes Moment tritt bei pathogenen Mikroorganismen in der spezifischen Krankheits-erzeugung hinzu. Es ist nicht zu leugnen, daß sich die serologische Differenzierung derjenigen pathogenen Mikroorganismen, welche echte Seuchenerreger darstellen, bewährt hat, und eine große Reihe von Autoren stellen auf Grund der Fülle der Arbeiten, die seit den grundlegenden Untersuchungen von R. Pfeiffer, der als der Schöpfer der Serodiagnostik angesehen werden muß, die Behauptung auf, daß alles, was serologisch zusammengehört, auch in pathogenetischer Hinsicht identisch ist. Der El Tor-Vibrio, der serologisch vom echten Cholera vibrio nicht zu unterscheiden ist, auch als Erzeuger echter Cholera anzusehen, trotzdem er biologisch von demselben bedeutend abweicht (R. Kraus). Aus der Paratyphusgruppe ließen sich noch analoge Beispiele anführen. Allerdings liegen auch Ausnahmen vor, bei welchen bisher eine entscheidende Erklärung nicht möglich war. Auf Grund der bei den pathogenen Mikroorganismen gewonnenen Erfahrungen, die nahezu allgemein anerkannt sind und zur spezifischen Diagnostik der Infektionskrankheiten und Infektionserreger geführt haben, ist die Ansicht, daß dem serologischen Bau der Wert eines artdifferenzierenden Mittels auch im naturwissenschaftlichen Sinne zukomme, nicht auf Widerspruch gestoßen, zumal ja bis in die jüngste Zeit die spezifischen serologischen Eigenschaften der Mikroorganismen als unwandelbar angesehen wurden.

Die Bedeutung der serologischen Differenzierung ist nicht nur auf das Reich der Mikroorganismen beschränkt, sondern geht weiter über dasselbe hinaus. Durch die Untersuchungen von Nutall, Uhlenhuth u. a. wissen wir, daß es mittels Präzipitine gelingt, im Tierreiche Arten zu unterscheiden, auch wenn die zoologischen Merkmale nicht immer bei den serologischen Befunden übereinstimmen. Aber der Mangel an Uebereinstimmung bezieht sich nur darauf, daß es nicht immer

möglich ist, zoologisch differente Arten serologisch auseinanderzuhalten. Es ist aber nicht bekannt geworden, daß Tiere, welche serologisch verschiedenartig reagiert haben, im zoologischen Sinne als identische Arten angesehen worden wären. Und gerade dieser Umstand ist für die vorliegende Frage von Wichtigkeit, denn bei Bakterien ist ja zu entscheiden, ob bei serologischer Verschiedenheit nicht doch dieselbe Art vorliegen kann. Wenn es nun gestattet wäre, von der hochorganisierten Tierwelt, wo sich die Serologie als artdifferenzierende Methode bewährt hat, einen Rückschluß auf die einfach organisierten Bakterien zu ziehen, so müßte er in dem Sinne ausfallen, daß auch bei den Mikroorganismen dem Rezeptorenapparat der Wert eines artdifferenzierenden Mittels zukommt. Wäre dies sichergestellt, so müßten in theoretischer und praktischer Hinsicht aus unseren und den nachfolgenden Experimenten weitergehende Schlüsse gezogen werden, die darin bestünden, daß nicht nur von den X-Stämmen, sondern auch von den Bakterien der Typhus-Paratyphusgruppe, von Dysenterie Shiga-Kruse etc. neue Arten abgespalten wurden, deren erbliche Konstanz zumindest eine so große ist, wie der Ausgangsstämme. Es wäre durch die Ergebnisse dieser Versuche ein auch für die Mikroorganismen gültiges Gesetz, das in der Unwandelbarkeit der Arten seinen Ausdruck findet, durchbrochen, und Anhänger der Richtung, welche von der Konstanz der Arten nicht überzeugt sind, werden unsere und unserer Mitarbeiter Befunde als eine experimentelle Bestätigung ihrer Ansicht betrachten. Anhänger der gegenteiligen Richtung werden in den vorliegenden Versuchsergebnissen einen Beweis dafür sehen, daß den serologischen Eigenschaften keine artbestimmende Bedeutung zukommt. Es liegen auch hier, wie in dem ganzen Komplex der die Artumgrenzung betreffenden Fragen große Schwierigkeiten vor, bedingt durch die in den Extremen sich bewegenden Anschauungen der verschiedenen Autoren.

Wenn wir nun unsere eigene Stellungnahme zu dieser Frage präzisieren wollen, so müssen wir gestehen, daß uns dies von äußerster Schwierigkeit erscheint, und wir können uns nicht verhehlen, daß wir in dieser Hinsicht über spekulative Anschauungen nicht hinauskommen. Wir sind nämlich

nicht davon überzeugt, daß unsere und unserer Mitarbeiter Versuchsergebnisse den Schluß zulassen, daß bei Bakterien verhältnismäßig leicht neue Arten entstehen. Die gegenteilige Behauptung hätte die Voraussetzung zufolge, daß wir bei Bakterien den Artbegriff mit Sicherheit fixieren können, was aber, und wir möchten das allen anderen Erwägungen voranstellen, bis jetzt nicht möglich ist. Darauf weist schon der Umstand hin, daß von den verschiedenen Systematikern verschiedene Einteilungsprinzipien der Bakterien geschaffen wurden. Die Kriterien, welche in der medizinischen Bakteriologie für die Artunterscheidung als maßgebend angesehen werden, sind in erster Linie das spezifische krankheitserzeugende Vermögen, und da sich bei den pathogenen Mikroorganismen die serologische Differenzierung — allerdings nicht ohne Ausnahmen — bewährt hat, die spezifischen Immunkörper. Diese beiden Eigenschaften haben es ermöglicht, eine Reihe von sicherstehenden Bakterienarten zu unterscheiden. Wenn wir die Typhus-Paratyphusgruppe, die ja den größten Teil der vorliegenden Untersuchungen bildet, als Beispiel nehmen, so muß zugegeben werden, daß Typhusbazillen, Paratyphus A, B Gärtner scharf voneinander zu trennen sind, und es ist zu hoffen, daß bei Berücksichtigung des Doppeltypus der Rezeptoren in dieser Gruppe noch weitere serologische Differenzierungen neben den bereits bestehenden klinischen gelingen werden. Wenn es nun möglich gewesen wäre, in den vorliegenden Untersuchungen zu zeigen, daß die verschieden garteten Stämme der Typhus-Paratyphusgruppe auf dem Wege der Variation ineinander überzuführen sind, dann würden wir nicht daran zweifeln, daß der Uebergang von einer Art in eine andere bei Bakterien vorkommt. Das ist jedoch in keinem einzigen Versuche der Fall gewesen. Ja es konnte nachgewiesen werden, daß die Behauptung derjenigen Autoren, welche in dieser Hinsicht über positive Ergebnisse berichten, auf Irrtümern beruhen. Wir können vorderhand nur den Schluß ziehen, daß die serologischen Eigenschaften der Bakterien in bisher nicht gekannter Weise variieren können, und zwar derart, daß ihr spezifischer Bau vollkommen verwischt und verändert wird. Daraus würde sich allerdings die weitere Konsequenz ergeben, daß dem serologischen Bau allein nicht

unter allen Umständen eine artdifferenzierende Bedeutung zukommt.

Zusammenfassung.

Aus einer Einzellkultur des OX 19 wurde eine Variante gezüchtet, welche sich nicht nur kulturell, sondern auch serologisch vom Ausgangsstamm weitgehend unterschied: Die spezifischen O-Rezeptoren des X 19, welche die Unterscheidung der X-Stämme von allen anderen Proteusstämmen ermöglichen, sind zu Nebenrezeptoren geworden, während ein neuer Hauptrezeptor erworben wurde, der von dem des X 19 vollkommen verschieden ist. Außerdem bestand eine Gemeinschaft von Nebenrezeptoren mit X 2, die wesentlich größer ist als die mit X 19. Diese Umstände deuten darauf hin, daß der Originalstamm X 2 als eine Variante des Stammes X 19 anzusehen ist.

An diese Befunde, welche ergeben haben, daß die spezifische Gepräge eines Mikroorganismus bedingenden Rezeptoren verloren gehen und durch neue ersetzt werden können, werden Erwägungen geknüpft, ob man bei derart veränderten Bakterien schon von neuen Arten sprechen könne. Die Frage wird jedoch vorderhand verneint.

Literatur.

- Baerthlein, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 71 u. 81.
 Bernhardt, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 79.
 Braun und Salomon, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 81 u. 82.
 Braun und Schäffer, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 89.
 Eisler und Silberstern, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 93.
 Joos, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 33.
 Joetten, *Berl. klin. Wochenschr.* 1919. No. 12.
 Kraus und Joachim, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 36 u. 37.
 Lehmann, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 77.
 Lingelsheim, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 68.
 Porges, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 39 u. 40.
 — *Zeitschr. f. exper. Path.*, Bd. 1
 Sachs, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1918, No. 7.
 Sobernheim und Seligmann, *Zeitschr. f. Imm.*, Bd. 6 u. 7
 Stromberg, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 58.
 Toenniessen, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 86.
 Weil, *Wien. klin. Wochenschr.*, 1920, No. 3.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Ueber Varianten der Proteus X-Stämme.

Von **A. Felix.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

In einer Mitteilung „Ueber Varianten des Stammes X 19“ berichtete E. Weil (1) kurz über Untersuchungsergebnisse, die ihn zu der Schlußfolgerung berechtigten, den bei Fleckfieber zuerst gezüchteten Stamm X 2 als Variante des später gezüchteten und für die Fleckfieberdiagnose wichtiger gewordenen Stammes X 19 anzusehen. Diese Folgerung war als Analogieschluß vollkommen zulässig, denn es war Weil gelungen, aus einer sicher reinen Einzellkultur des OX 19 eine Variante (in der O- und H-Form) zu gewinnen, die nach genauer serologischer Analyse (Agglutination, Bindung und Tierimmunisierung) folgende tiefgreifende Aenderungen an ihrem „stabilen“ (= O-) Rezeptorenapparat aufwies: der ursprüngliche OX 19-Hauptrezeptor war zu einem Nebenrezeptor geworden, ein neuer, vom OX 19- und OX 2-Hauptrezeptor verschiedener O-Rezeptor trat als O-Hauptrezeptor der Variante in Erscheinung, welche außerdem noch einen Nebenrezeptor besaß, der mit dem OX 2-Hauptrezeptor qualitativ identisch war. Die H-Form dieser X 19-Variante besaß neben dem aus den genannten drei Komponenten bestehenden O-Rezeptorenapparat den allen X-Stämmen und der Gruppe III der gewöhnlichen Proteusstämme gemeinsamen H-Rezeptor.

Auf die allgemeine Bedeutung dieser Feststellung in theoretischer und praktischer Beziehung sei hier nicht näher eingegangen. Die Tatsache war durch sie experimentell erwiesen, daß aus einer serologisch scharf charakterisierten Bakterienart durch Variationsvorgänge eine andere serologische Art gewonnen wurde. Die Ausgangskultur und die Variante waren untereinander so sehr verschieden, daß bei Unkenntnis

der nahen Verwandtschaft der beiden Arten und bei Anwendung der heute geltenden Ansichten über Bakterienkonstanz dieses nahe Verwandtschaftsverhältnis nicht aufgedeckt werden könnte. Auf die Frage nach den Beziehungen zwischen X 2 und X 19, die trotz langwieriger Untersuchungen immer noch ungeklärt geblieben war und die den Ausgangspunkt der Untersuchungen von Weil darstellte, war damit die Antwort gewonnen: X 2 ist als eine Variante des X 19 aufzufassen, die zu ihm in einem ähnlichen Verhältnis steht, wie die beschriebene Variante I R zum OX 19.

Das Resultat der früheren diesem Gegenstand gewidmeten Untersuchungen von Weil und Verf. (2) war die Feststellung, daß die Stämme vom Typus X 2 und vom Typus X 19 in serologischer Hinsicht als zwei verschiedene Bakterienarten angesehen werden müssen, die sich dank der Spezifität ihrer O-Rezeptoren voneinander und von den zahlreichen Arten der gewöhnlichen Proteusstämmen mit aller Schärfe abgrenzen lassen. Unter 126¹⁾ gewöhnlichen Proteusstämmen, die teils während des Krieges in verschiedenen Gegenden Europas und Asiens gezüchtet wurden, teils den Sammlungen zahlreicher Institute entstammten, konnte kein einziger gefunden werden, der den spezifischen OX 19- oder OX 2-Rezeptor aufgewiesen hätte. Daß aber bei den gewöhnlichen Proteusstämmen trotz aller Mannigfaltigkeit der O-Rezeptoren nicht selten auch gleichartige gemeinsame O-Rezeptoren vorkommen, war mühelos festgestellt worden. Demgegenüber hatte die serologische Untersuchung einerseits von 24 Stämmen vom Typus X 2, andererseits von 31 Stämmen vom Typus X 19, die teils von uns teils von anderen Autoren sämtlich von Fleckfiebrkranken gezüchtet worden waren, immer eine vollkommene Einheitlichkeit ihres Rezeptorenapparates erwiesen. Auch war bei den zahlreichen Untersuchungen, die von Weil und Verf. während etwa 4 Jahren mit den X-Stämmen und vielen saprophytischen Proteusstämmen angestellt worden waren, das serologische Verhalten der einzelnen Arten stets konstant gefunden worden.

Um so überraschender war daher der oben angegebene

1) Diese Zahl hat sich in der Folge noch bedeutend vermehrt.

Befund von Weil. Wegen seiner besonderen Bedeutung für die Beurteilung des Verhältnisses zwischen den beiden Arten X 2 und X 19 und damit für die Beziehung der X-Stämme zur Fleckfiebererkrankung, wurde nach dem Vorgange von Weil eine größere Anzahl von Stämmen der beiden Arten einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Sie sollte die Schlußfolgerung Weils, daß X 2 eine Variante von X 19 sei, auf eine breitere experimentelle Grundlage stellen.

Zur Untersuchung wurden 7 verschiedene Bakterienstämme vom Typus X 19 und 3 Stämme vom Typus X 2 herangezogen. Ihre Herkunft ist aus Tabelle A zu ersehen.

Tabelle A.
Herkunft der untersuchten X-Stämme.

Nr.	Bezeichnung	Art (Typus)	Gezüchtet		
			vom Fleckfieberkranken	von	in
1	X 19	X 19	aus dem Harn vom 5. Krankheitstage	Weil und Felix	Polen
2	33 180	„	aus dem Blute vom 13. Krankheitstage (=Entfieberung)	dgl.	„
3	X 21	„	aus dem Blute vom 14. Krankheitstage (=Entfieberung)	Weil	„
4	287	„	aus dem Blute, Krankheitstag unbekannt	Dienes	„
5	X 24	„	aus einer Fleckfieberleiche vom 14. Krankheitstage	Felix (3)	Konstantinopel
6	S 1	„	aus dem Abszeß einer Fleckfieberrekonvaleszenten	Zeiss (4)	Smyrna
7	S 5	„	aus dem Blute eines Fleckfieberrekonvaleszenten	„	„
8	X 2	X 2	aus dem Harn vom 5. Krankheitstage	Weil und Felix	Polen
9	311	„	aus dem Blute vom 6. Krankheitstage	dgl.	„
10	42 428	„	aus dem Harn eines ungeklärten Falles mitten unter Fleckfieberkranken	„	„

Die Stämme unter 1 bis 7 sind vom Typus X 19, jene unter 8 bis 10 vom Typus X 2. Als Ausgangskulturen dienten ganz alte Stichgarkulturen, die mit Paraffin vergossen etwa 1 Jahr lang in einem kühlen Zimmer gelagert hatten. In früheren Untersuchungen waren an den einzelnen Stämmen

wohl manche Verschiedenheiten in ihren kulturellen Eigenschaften festgestellt worden: So verflüssigten z. B. die Stämme S 1, S 5 und X 21 im Gegensatz zu allen anderen auch in ihrer H-Form 10%ige Gelatine gar nicht; in der Lackmusmolke zeigten sich geringe Differenzen; aus den Stämmen 287 und X 24 z. B. gelang es niemals, andere als mit Hauch (progressiv) wachsende Kolonien zu isolieren. In ihrem serologischen Verhalten dagegen, in Agglutinations-, Agglutininbindungs- und Komplementbindungs-Versuchen hatten sich alle Stämme der beiden Arten konstant untereinander identisch erwiesen. Etwa feststellbare Differenzen bezüglich des Agglutinationstiters gegenüber dem homologen Immuserum, oder des Erscheinens einer Hemmungszone in den stärksten Serumkonzentrationen oder bezüglich der geringgradigen Mitagglutination mit dem heterologen Immuserum traten niemals in stärkerem Grade auf, als sie auch an einzelnen Kulturen desselben Stammes — durch Verschiedenheit der Nährbodenzusammensetzung bedingt — beobachtet wurden oder bei Verwendung mehrerer Immusera mit der individuellen Verschiedenheit der immunisierten Tiere erklärt werden konnten.

Wie bereits angegeben, gelingt es nicht bei allen Stämmen derselben Art in gleicher Weise leicht, die hauchlos wachsenden O-Formen zu isolieren. Bei manchen Stämmen führt der Verlust der progressiven Wachstumsfähigkeit zu der in einer früheren Mitteilung von Weil u. Verf. (5) bereits beschriebenen „Tröpfchen“-Form (=Tr), die auf der Agarplatte ihre Schwärmkolonien nur in Gestalt von kleinen Tröpfchen und unscharf begrenzten, strahlenförmigen Verästelungen aussendet. Diese Tröpfchenform verhält sich in serologischer Hinsicht wie die gewöhnliche H-Form. Aber auch in jenen Fällen, in welchen Kolonien isoliert werden können, die ihrem Wachstum auf der Agarplatte nach als O-Formen anzusprechen wären (auch nach vielen Tagen keine Andeutung von progressivem Wachstum), zeigt die serologische Prüfung der Kultur oft, daß es sich nicht um die wirkliche O-Form handelt, da sie mit den H-Agglutininen in derselben Weise reagieren wie die schwärmenden H-Formen. Wir bezeichnen sie in der Folge als „scheinbare“ O-Formen (=O?). Für unsere Varianten-Untersuchung stellte dieser Umstand insofern eine

Erschwerung dar, als die Beurteilung der Versuche bei Anwesenheit der grobflockenden H-Agglutinine und der grobflockbaren H-Rezeptoren schwerer ist, als bei der rein kleinflockigen O-Agglutination.

Zunächst wurden von allen zu untersuchenden Stämmen aus den ganz alten Stichagarkulturen Agarplatten in solcher Verdünnung beimpft, daß isolierte Kolonien gewonnen wurden. Die Stichagarkulturen von X 19 und X 2 stammten von isolierten O-Formen dieser Stämme, jene aller anderen Stämme dagegen von den H-Formen. Auf den Agarplatten resultierten auch bei X 19 und X 2 nur wirkliche O-Formen, denn auf Agar wird ein Umschlagen der O-Form in die H-Form selten beobachtet (Verf. und Mitzenmacher, 6). Bei den Stämmen 33 180, 287, X 24 und 311 wuchsen nur H-Formen, bei S 1 neben Tröpfchenformen (= S 1 Tr) auch wirkliche O-Formen (= OS 1) und bei S 5, X 21 und 42 428 nur scheinbare O-Formen. Auf den Platten der Stämme X 21, OX 2 und 42 428 fielen ziemlich viele Kolonien durch ihre besondere Kleinheit auf, ganz ähnlich der von Weil beschriebenen Kolonieform der Variante I R. Von X 21 wurden 8 solcher Kolonien auf Schrägagar abgeimpft, von OX 2 und 42 428 ihrer je drei, und mit OX 19- und OX 2-Immunsrum geprüft. Keiner der Tochterstämmen zeigte jedoch ein abweichendes serologisches Verhalten. Dagegen wurde aus der OX 19-Platte eine auffallend kleine Kolonie isoliert (= OX 19 b), die sich serologisch von dem Ausgangsstamm (= OX 19 a) durch ihre geringere Agglutinabilität durch das I.-S. OX 19 unterschied.

Von den Agarplatten wurden nun isolierte Kolonien in Bouillonröhrchen verimpft, die von Baerthlein für Variabilitätsversuche besonders empfohlen werden. Auf die Anwendung des Burrischen Verfahrens zur Isolierung von Einzelkulturen der Ausgangsstämme wurde in Uebereinstimmung mit anderen Untersuchern der Bakterienvariabilität verzichtet. Die Bouillonröhrchen wurden 2 Tage im Brutschrank, dann bei Zimmertemperatur gehalten und nach 3 Wochen auf Agarplatten ausgesät. Die Durchmusterung der Platten nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt mit freiem Auge und mit der Lupe ergab das in Tabelle I zusammengestellte Resultat. Die in den folgenden Tagen, nach Auf-

bewahrung der Platten bei Zimmertemperatur, etwa auftretenden Veränderungen wurden ebenfalls verzeichnet.

Tabelle I.
Kolonieformen auf Agarplatten aus 3 Wochen alten
Bouillonkulturen.

Bouillonkultur von Stamm	Kolonieformen
OX 19 a	nur O-Kolonien; glatte, griesige und sehr wenige kleine
OX 19 b	ebenso
33 180	vorwiegend H- und Tr-Kolonien; vereinzelte scheinbare O-Kolonien; einige kleine
X 21	nur scheinbare O-Formen etwa gleichviel glatte und griesige; zahlreiche kleine
287	vorwiegend H, zahlreiche Tr; vereinzelte scheinbare O; keine kleinen
X 24	nur H und Tr
OS 1	nur O; ziemlich zahlreiche kleine
S1 Tr	nur O; ziemlich zahlreiche kleine
S 5	nur scheinbare O; ziemlich zahlreiche kleine
OX 2	nur O; viele kleine
311	vorwiegend scheinbare O (nur glatte); ziemlich viele kleine
42 428	vorwiegend scheinbare O; zahlreiche kleine.

Der Einfachheit halber wurden die auf den Platten immer wiederkehrenden verschiedenen Kolonieformen, von welchen stets mehrere zur serologischen Prüfung auf Schrägagar abgeimpft wurden, in folgender Weise bezeichnet:

1) „glatt“: durchscheinende, scharf konturierte, homogen (glatt) zusammengesetzte Kolonien von der für OX 19 auf 24stündigen Agarplatten normalen Größe;

2) „griesig“: opake, unscharf konturierte, nicht homogen (griesig) zusammengesetzte Kolonien, gleich groß oder zumeist noch größer als jene sub 1);

3) „klein“: auffallend kleine Kolonien, die nach 24 Stunden auf der Agarplatte dem freien Auge fast unsichtbar sind und mit einer guten Lupe aufgesucht werden müssen. Sie erreichen auch nach vielen Tagen selbst nicht in entferntester Annäherung die Größe der beiden ersteren Kolonieformen.

Tabelle II.

Agglutination mit den aus drei Wochen alten Bouillonkulturen isolierten Tochterstämmen.

Verwendete Immunsera: Kaninchensera gewonnen nach 3 intravenösen Injektionen von OX 19, OX 2, I R (= von Weil (1) beschriebene Variante aus OX 19) und Proteus Landsteiner (= Proteus Gruppe III). Notierung nach 2 Stunden Brutschrank.

I. Schrägagargeneration von isolierten Kolonien		Immunsorum				Kontrolle NaCl
		OX 19	OX 2	I R	Landsteiner	
aus Platte	Bezeichnung	1 : 500	1 : 200	1 : 200	1 : 200	
OX 19 a	1 klein	+++	—	+	—	—
	2 glatt	+++	—	+	—	—
	3 grießig	+++	—	+	—	—
OX 19 b	1 klein	+++	—	—	—	—
33 180	1 klein	+	+	±	+++ gr	±
	2 „	+	±	±	+++ „	±
	3 „	+	±	±	+++ „	±
	4 glatt	+++	—	+	+++ „	—
X 21	1 klein	+++	—	+	++ „	—
	2 glatt	+++	—	++	++ „	—
	3 grießig	+++	±	+++	++ „	±
OS 1	1 klein	+	+	±	++	—
S 1 Tr	1 klein	+	±	+	±	—
	2 klein	—	—	—	—	—
	3 glatt	+++	—	—	—	—
	4 grießig	+++	±	+	±	±
S 5	1 klein	+++	—	+	+++ gr	—
	2 glatt	+++	—	+	+	—
	3 grießig	+++	—	±	++ „	—
OX 2	1 glatt	—	+++	+	—	—
	2 grießig	+	+++	±	±	±
	3 klein	±	+++	±	±	±
	4 „	±	+++	±	±	±
	5 „	±	+++	±	±	±
311	1 klein	+	+++	+	+++ gr	+
	2 „	+	+++	+	+++ „	+
	3 „	+	+++	+	+++ „	+
42 428	1 klein	±	+++	±	± „	±
	2 glatt	—	+++	++	± „	—
Kontrollen						
Stamm OX 19		+++	—	+	—	—
„ H III (= H-Form v. I R)		+++	+++	+++	+++ gr	—
„ OX 2		—	+++	+	—	—

Zeichenerklärung: bei Notierung nach 18 Stunden (2 Stunden Brutschrank, dann Zimmertemperatur):

+++ vollständige Klärung der Flüssigkeit;
 ++ Bodensatz, überstehende Flüssigkeit trüb;
 + geringer Bodensatz, in der Flüssigkeit Flocken bei Lupen-
 betrachtung.

bei Notierung nach 2 Stunden (Brutschrank):

+++ sehr starke Flockenbildung }
 ++ starke Flockenbildung } bei Lupenbesichtigung.
 + geringe Flockenbildung }

Die Agglutinationsversuche wurden stets mit NaCl-Emulsionen von lebenden Bakterien angestellt. Der Rasen einer etwa 48stündigen Schrägagarkultur wurde in ca. 1,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und in jedes Röhrchen auf 1 ccm Serumverdünnung je ein Tropfen dieser Emulsion gegeben. Wo es sich um grobflockige (H-) Agglutination handelt, ist dies ausdrücklich durch das Zeichen „gr“ hervorgehoben. **Wo sich über das Aussehen der Agglutination gar keine Angabe vorfindet, zeigen die + Zeichen immer die kleinflockige (O-) Agglutination an.**

Die Abimpfung der isolierten Kolonien auf Schrägagar erfolgte in der Regel nach zweitägiger Aufbewahrung der Platten bei Zimmertemperatur, zu welcher Zeit die „kleinen“ Kolonien erst jene Größe erreichten, die eine sichere Abimpfung gestattete. Nur in jenen Fällen, wo die Platten auch zahlreiche schwärmende Kolonien (H- oder Tr-Formen) enthielten, mußte die Isolierung möglichst frühzeitig (nach 16—24 Stunden Brutschrankaufenthalt) erfolgen.

Die verschiedenen Kolonieformen wurden bezüglich ihrer kulturellen Eigenschaften nicht weiter geprüft, sondern nur ihr serologisches Verhalten untersucht. Da nach den Befunden von Weil (1) in den „kleinen“ Kolonien serologische Varianten vermutet werden durften, wurde das Augenmerk hauptsächlich auf diese Kolonieformen gerichtet und von ihnen stets eine größere Zahl untersucht als von jenen normaler Größe. Da auf den Agarplatten der Stämme 287 und X 24 keine vom normalen Typus abweichenden Kolonieformen enthalten waren, wurden diese beiden Platten vernachlässigt, aus allen anderen dagegen eine Anzahl isolierter Kolonien auf Schrägagar abgeimpft und mit dem in der Tabelle II (S. 62) verzeichneten Resultat im Agglutinationsversuch geprüft.

In Tabelle II fällt zunächst die große Zahl von spontan-agglutinablen Stämmen auf, die sowohl bei O-Formen (OX 2) als auch bei H-Formen (33180, 311 und 42428) auftraten. Während aber alle Kulturen aus den Stämmen vom Typus

X 2 ihre Reagierbarkeit mit dem homologen Immunsrum unverändert beibehalten hatten, waren die ersten Generationen der „kleinen“ Kolonien aus Stamm 33 189 für das homologe OX 19-Immunsrum vollständig inagglutinabel. Aus der Reihe der übrigen Kulturen vom Typus X 19 traten, durch die gleiche auffallende Eigenschaft scharf gekennzeichnet, die Stämme OS 1 No. 1 sowie S 1 Tr No. 1 und S 1 Tr No. 2 deutlich heraus.

Auf Grund unserer früheren Erfahrungen beim Nachweis der labilen und stabilen Rezeptoren in der Proteus- und Typhus-Paratyphus-Gruppe wurde zur Entscheidung der Frage, ob es sich nur um inagglutinabel gewordene Stämme handelt oder aber um solche, die ihren agglutinogenen Rezeptor (OX 19-Rezeptor) vollständig verloren haben, das empfindlichste Reagens: die Tierimmunisierung herangezogen. Mit der fünften Agargeneration der Stämme OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2 wurde je ein Kaninchen intravenös behandelt (mit bei 60° C 1/2 Stunde erhitzten Bazillenemulsionen). Als Schema für die Gewinnung der im folgenden verwendeten Immunsra diene das Protokoll über die Immunisierung des Kaninchens No. 1.

Injektion (intravenös)		Blutentnahme (aus der Jugularvene)	
—	—	17. II. 1920	I. Blutentnahme = I.-S. No. 1I
18. II. 1920	1/2 Oese von OS 1 No. 1	—	—
21. II. 1920	1 Oese von OS 1 No. 1	25. II. 1920	II. Blutentnahme = I.-S. No. 1II
26. II. 1920	1 Oese von OS 1 No. 1	5. III. 1920	III. Blutentnahme = I.-S. No. 1III
12. III. 1920	1 Oese von OS 1 No. 1	19. III. 1920	IV. Blutentnahme = I.-S. No. 1IV

Dieser Versuch zeigt, daß die nach zwei Injektionen gewonnenen Immunsra von OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2 von dem normalen OX 19-Immunsrum vollständig verschieden waren. Sie waren reine O-Immunsra, wie aus den Rubriken für HX 19 und HX 2 zu ersehen ist. Beide Sera enthielten für die beiden erzeugenden Stämme Agglutinine bis zu fast gleichen Serumverdünnungen. Gegenüber HX 19 und dem mit ihm in serologischer Hinsicht identischen

Stamm S 1, aus dem die zwei Tochterstämme durch Variationsvorgänge in der Bouillon hervorgegangen waren, zeigten die beiden Sera ein verschiedenes Verhalten: I.-S. No. 1_{II} agglutinierte die Stämme HX 19 und S 1 in den stärksten Konzentrationen (Mitagglutination bis etwa $\frac{1}{40}$ des Titers), I.-S. No. 2_{II} dagegen ließ sie vollkommen unbeeinflusst.

Tabelle III.

Agglutinationsversuch mit I.-S. OS 1 No. 1 und I.-S. S 1 Tr No. 2.

Stamm OS 1 No. 1_V = V. Agargeneration von OS 1 No. 1.

Stamm S 1 Tr No. 2_{VI} = VI. Agargeneration von S 1 Tr No. 2.

Stamm S 1 ist der Ausgangsstamm, von welchem die beiden ersteren abgespalten wurden. — Notiert nach 18 Stunden.

Immunserum	Verdünnung	Stamm				
		OS 1 No. 1 _V	S 1 Tr No. 2 _{VI}	S 1	HX 19	HX 2
No. 1 _{II} = I.-S. OS 1 No. 1	1:100	+++	+++	+++	+++	—
	1:200	+++	+++	+++	+++±	—
	1:500	+++	+++	+±	±	—
	1:1000	+++	+++	±	—	—
	1:10 000	+±	+±	—	—	.
	1:20 000	+±	+	—	—	.
No. 2 _{II} = I.-S. S 1 Tr No. 2	1:100	+	+	—	—	—
	1:200	+++	+++	—	—	—
	1:1000	+++	+++	—	—	—
	1:2000	+++	+++	—	—	—
	1:10 000	+	++	.	.	.
	1:20 000	+	+	.	.	.
No. 5 _{II} = I.-S. OX 19	1:100	—	—	+++	+++	—
	1:200	—	—	+++	+++	—
	1:1000	—	—	+++	+++	—
	1:5000	—	—	+	+	—
NaCl		—	—	—	—	—

Dieses Versuchsergebnis wurde durch Komplementbindung bestätigt, wobei neben dem Stamm S 1 Tr No. 2 fünf verschiedene Stämme vom Typus X 19 untersucht wurden. Der Stamm OS 1 No. 1 konnte als Antigen nicht verwendet werden, da er schon in ganz geringer Menge stark selbsthemmend wirkte.

Auch durch Bindungsversuche ließ sich nachweisen, daß die auf die homologen Stämme wirkenden Agglutinine der Sera No. 1_{II} und No. 2_{II} durch die Originalstämme HX 19 und

S 1, sowie durch die Variante H III von Weil nicht verankert wurden. Umgekehrt ließen die Stämme OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2 ebenso wie H III im Immuserum X 19 die Agglutinine für HX 19 und für S 1 vollkommen unverändert.

Tabelle IV.

Komplementbindung mit den Immuseren von OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2.

Komplementbindung im Gesamtvolumen von 2 ccm.

Antigenmenge: 0,2 ccm einer dichten Bazillenemulsion (1 Agarkultur in etwa 1 ccm NaCl), die zur Abtötung $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° C erhitzt wurde.

Komplement: 0,05 Meerschweinchenserum.

Hammelblutkörperchen vierfach sensibilisiert.

Notierung: Hämolyse nach 2 Stunden, Agglutination nach 18 Stunden.

H ä m o l y s e.												
Serumverdünnung	Antigen S 1 Tr No. 2		S 1		33 180		X 21		S 5		HX 19	
	I.-S. 1II	I.-S. 2II	I.-S. 1II	I.-S. 2II	I.-S. 1II	I.-S. 2II	I.-S. 1II	I.-S. 2II	I.-S. 1II	I.-S. 2II	I.-S. 1II	I.-S. 2II
1:50	0	0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
1:100	0	0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
1:200	0	Spur	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
1:500	stark	wenig	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
1:1000	k	k

A g g l u t i n a t i o n.												
1:100	+++	+	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-
1:200	+++	+++	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-
1:500	+++	+++	±	-	+	-	+	-	+	-	±	-
1:1000	+++	+++	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1:2000	+++	+++										
1:5000	+++	+++										
1:10 000	++±	++										
1:20 000	±±	+										
NaCl	-		-		-		-		-		-	

Obwohl der homologe Stamm, der ebenso wie der Stamm OS 1 No. 1 nur schwach bindend wirkt, das Serum No. 2II im Versuch Tabelle V auch nur unvollständig erschöpfte, ist der Unterschied gegenüber den drei anderen Stämmen doch mit aller Deutlichkeit zu erkennen.

Aus den bisher beschriebenen Versuchen geht also hervor, daß die aus nur 3 Wochen alten Bouillonkulturen isolierten

Stämme OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2 gegenüber ihrem Ausgangsstamm S 1 und vier anderen Stämmen vom Typus X 19 dadurch scharf charakterisiert sind, daß sie den spezifischen

Tabelle V.

Agglutininbindungsversuch mit I.-S. S 1 Tr No. 2 und I.-S. OX 19.

Technik gleich der von Weil und Verf. (7) beschriebenen, nur dahin abgeändert, daß die zur Erschöpfung angewendeten Bakterien durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 60° C abgetötet wurden. Wie in der zitierten Mitteilung wird auch hier darauf aufmerksam gemacht, daß zur Vermeidung unspezifischer Hemmung der Agglutination durch die Bakterienextrakte die Aufschwemmungsflüssigkeit (NaCl) auf der elektrischen Zentrifuge klar zentrifugiert und möglichst vollständig abgegossen oder mit einer Kapillarpipette entfernt wurde. Zum Bakterienrückstand wurde dann die zu erschöpfende Serumverdünnung hinzugefügt. — Notierung nach 18 Stunden.

Agglutination mit Stamm	Verdünnung	I.-S. No. 2 _{II} = I.-S. S 1 Tr No. 2 je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 1 Agarkultur der Stämme				Kontrolle		
		S 1 Tr No. 2	S 1	HX 19	H III	Serum unbehandelt		
S 1 Tr No. 2	1:1000	+±	+++	+++	+++	+++	+++	
	1:2000	+	+++	+++	+++	+++	+++	
	1:5000	±	+±	+±	+±	+±	+±	
	1:10 000	±	++	++	++	++	++	
	1:20 000	—	±	±	±	±	±	
	1:50 000	—	±	±	±	±	±	
Agglutination mit Stamm	Verdünnung	I.-S. No. 5 _{II} = I.-S. OX 19 je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 1 Agarkultur der Stämme					Kontrolle	
		S 1 Tr No. 2	OS 1 No. 1	H III	S 1	OX 19	Serum unbehandelt	
HX 19	1:200	+++	+++	+++	—	—	+++	
	1:500	+++	+++	+++	—	—	+++	
	1:1000	+++	+++	+++	—	—	+++	
	1:2000	+±	++	+±	—	—	+±	
	1:5000	+	—	+	—	—	+	
	1:10 000	—	—	—	—	—	—	

OX 19-Rezeptor verloren haben. Als gemeinsamer O-Hauptrezeptor dieser beiden Stämme tritt ein vom OX 19-Rezeptor gänzlich verschiedener in Erscheinung, der in keinem näheren

Verhältnis zu ihm steht, als z. B. der OX 2- zum OX 19-Rezeptor. Untereinander unterscheiden sich die beiden Stämme dadurch, daß am OS 1 No. 1 schon mit Hilfe des nach zwei Injektionen gewonnenen Immunserums ein Nebenrezeptor (Antigen für Mitagglutinine) nachgewiesen werden kann, der mit dem OX 19-Rezeptor qualitativ identisch ist, während er am S 1 Tr No. 2 fehlt. Danach sind diese beiden Stämme als von ihrem Ausgangsstamm S 1 verschiedene, neue serologische Arten aufzufassen, wobei OS 1 No. 1 seines Nebenrezeptors wegen als Uebergangsform zwischen S 1 und S 1 Tr No. 2 zu stellen ist. Die von Weil festgestellte Abspaltung von variierten Kulturen aus OX 19, die ihrem serologischen Verhalten nach als neue Arten angesehen werden müssen, war damit an dem Stamm S 1 bestätigt.

Ohne die in der bisherigen Variabilitätsforschung bei Bakterien von den verschiedenen Autoren verwendete Terminologie irgendwie zum Vergleich heranzuziehen, wollen wir — nach dem Vorgange von Weil — die oben beschriebenen Stämme als „serologische Varianten“ bezeichnen. Unter dieser Bezeichnung wollen wir in den folgenden Ausführungen von jenen durch Variationsvorgänge aus einer Bakterienart abgeleiteten neuen Arten sprechen, die den spezifischen Hauptrezeptor des Ausgangstammes verloren und einen neuen erworben haben. Dabei sei an dieser Stelle die bemerkenswerte und bisher unverständliche Tatsache hervorgehoben, daß im Laufe unserer Untersuchungen an den 10 verschiedenen X-Stämmen Variationsvorgänge am H-Rezeptor trotz seiner bekannten Labilität nicht beobachtet wurden. Alle die im folgenden beschriebenen serologischen Varianten sind vielmehr — ebenso wie OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2 — durch Variationsvorgänge am O-Rezeptor entstanden, der sich bekanntlich — im Gegensatz zum H-Rezeptor gerade durch seine große Stabilität verschiedenen chemischen und physikalischen Eingriffen gegenüber auszeichnet.

Aus der Untersuchung der 3 Wochen alten Bouillonkulturen der 10 X-Stämme war schon die Schlußfolgerung möglich, daß die Entstehung serologischer Varianten nicht bei allen gleich rasch und leicht vor sich geht. Außer den beiden beschriebenen Varianten von S 1 ergab der Agglutinations-

versuch in Tabelle II nur noch für die drei „kleinen“ Kolonieförmungen aus 33 180 den Verlust des spezifischen Hauptrezeptors. Die nähere Untersuchung der einen von ihnen (Stamm 33 180 No. 3, dessen Immunserrum in den folgenden Versuchen mitverwendet wurde) bestätigte sie als serologische Varianten. Bei den 8 anderen X-Stämmen dagegen waren trotz Untersuchung einer viel größeren Anzahl von isolierten Kolonien als in Tabelle II aufgenommen und trotz sorgfältigster Beachtung der morphologischen Unterschiede der abgeimpften Kolonieförmungen nur solche gewonnen worden, die den spezifischen O-Rezeptor des Ausgangsstammes unverändert besaßen.

Ihres gleich großen theoretischen und praktischen Interesses wegen wurden folgende Fragen zu beantworten versucht:

1) Ob es bei allen untersuchten Stämmen gelingt, serologische Varianten nachzuweisen;

2) ob die Variationsbreite (Variabilitätskreis) groß oder klein ist, d. h. ob von den einzelnen Stämmen derselben Art eine große Anzahl untereinander verschiedener oder eine beschränkte Anzahl untereinander identischer oder verwandter Varianten abgespalten werden;

3) ob als Resultat des Variationsvorganges nur so weit vom Ausgangsstamm entfernte Arten entstehen, wie sie die serologischen Varianten darstellen, oder ob als Zwischenglieder Bakterienstämme auftreten, die sich bei gleichem O-Hauptrezeptor durch qualitativ oder quantitativ verschiedene Nebenrezeptoren unterscheiden.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden die mit gewöhnlichen Wattepfropfen verschlossenen und bei Zimmertemperatur gehaltenen Bouillonkulturen nach 7 Wochen, $3\frac{1}{2}$ und 5 Monaten untersucht. Nach dieser Zeit mußte die Untersuchung aus äußeren Gründen abgebrochen werden. In Tabelle VI ist die Zusammensetzung der nach dieser Zeit beimpften Agarplatten nach Kolonieförmungen neben jene aus den 3 Wochen alten Bouillonkulturen gestellt.

Der Vergleich der einzelnen Rubriken in Tabelle VI ergibt zunächst, daß sich irgendeine gesetzmäßige Beziehung zwischen dem Auftreten der verschiedenen Kolonieförmungen und dem Alter der Bouillonkulturen (d. i. der Dauer der Variations-

Tabelle VI.
Kolonieformen auf Agarplatten aus alten Bouillonkulturen.

Bouillonkultur von Stamm	Agarplatten angelegt		
	nach 3 Wochen	nach 7 Wochen	nach 3 ¹ / ₂ Monaten
OX 19 a	nur O-Kolonien; glatte; griefige und sehr wenige kleine	vorwiegend H! wenige O; sehr wenige kleine	vorwiegend O (mehr griefige als glatte); zahlreiche H! sehr wenige kleine
OX 19 b	ebenso	nur O; glatte und griefige; ziemlich zahlreiche kleine	nur O, mehr griefige als glatte; ziemlich zahlreiche kleine
33 180	vorwiegend H- und Tr-Kolonien; vereinzelt scheinbare O-Kolonien; einige kleine	überwiegend Tr; daneben H und scheinbare O	vorwiegend H und Tr; scheinbare O, keine kleinen
X 21	nur scheinbare O-Kolonien, etwa gleichviel glatte und griefige; zahlreiche kleine	nur scheinbare O, glatte und griefige; wenige kleine	vorwiegend scheinbare O (fast nur griefige); einzelne H; wenige kleine
287	vorwiegend H, zahlreiche Tr; vereinzelt scheinbare O; keine kleinen	vorwiegend H, zahlreiche Tr, vereinzelt scheinbare O; sehr wenige kleine	vorwiegend H und Tr; scheinbare O, nur griefige; einzelne kleine
X 24	nur H und Tr	vorwiegend H, zahlreiche Tr, einzelne scheinbare O	vorwiegend H; wenige scheinbare O (mehr griefige als glatte); einzelne kleine
OS 1	nur O; ziemlich zahlreiche kleine	überwiegend O, glatte und griefige gleich viel; seltene kleine; wenige H und Tr	weit überwiegend H! zahlreiche O, mehr griefige als glatte; zahlreiche kleine
S 1 Tr	nur O; ziemlich zahlreiche kleine	überwiegend Tr, wenige H; zahlreiche O, glatte und griefige; sehr wenige kleine	vorwiegend H! zahlreiche O, mehr griefige als glatte; spärliche kleine
S 5	nur scheinbare O; ziemlich zahlreiche kleine	nur scheinbare O; einzelne kleine	vorwiegend scheinbare O (nur griefige); zahlreiche H! einzelne auffallend kleine
OX 2	nur O; viele kleine	nur O; einzelne kleine	nur O; sehr viele kleine
311	vorwiegend scheinbare O; (nur glatte) ziemlich viele kleine	vorwiegend H und Tr; einzelne kleine	viele H und Tr; zahlreiche scheinbare O (nur glatte); einzelne kleine
42 428	vorwiegend scheinbare O; zahlreiche kleine	vorwiegend scheinbare O; viele Tr; keine kleinen	nur scheinbare O (mehr griefige als glatte); ziemlich viele kleine

vorgänge) nicht auffinden läßt. Dies gilt nicht nur bezüglich der oben beschriebenen drei Formen von O-Kolonien, sondern überraschenderweise auch für das Verhältnis der O- und H-Kolonien zueinander. So konnte die schon früher (6) beobachtete Tatsache, daß die O-Formen der X-Stämme, die bei jahrelanger Fortzucht auf Schrägagar meist unverändert blieben, in flüssigen Nährböden (Bouillon oder Milch) öfters in die H-Formumschlag en, an der Bouillonkultur von OX 19 a wieder bestätigt werden. Das auslösende Moment für diese Erscheinung ist uns jedoch unbekannt, ebenso wie die Ursache des zeitweiligen Ueberwiegens der H-Formen über die O-Formen in einzelnen der untersuchten Kulturen (z. B. OS 1 und S 1 Tr).

Mit einer gewissen Regelmäßigkeit war mit zunehmendem Alter der Bouillon nur das Ueberwiegen der „grißigen“ gegenüber den „glatten“ Kolonien zu konstatieren. Doch war ein gesetzmäßiger Unterschied im serologischen Verhalten dieser beiden ebenso wie auch der „kleinen“ Kolonieformen nicht vorhanden. Zwar wurde die Mehrzahl der serologischen Varianten unter den „kleinen“ Kolonien gefunden, doch fehlten sie auch unter den „glatten“ und grißigen“ nicht. Ja selbst bezüglich der rein physikalischen Erscheinung der Spontanagglutinabilität zeigten sich keine scharfen Grenzen. So kann wohl ausgesagt werden, daß beim Aufsuchen von serologischen Varianten die „kleinen“ Kolonien zwar in erster Reihe als verdächtig zu betrachten, die anderen jedoch auch nicht zu vernachlässigen sind.

Bei der sorologischen Prüfung der isolierten Kolonien war zu beachten, daß zur Entscheidung der Fragen unter 1) und 2) mit Vorteil von Mitagglutininen möglichst freie Immunsera geeignet waren, während zur Untersuchung der dritten Frage an Mitagglutininen möglichst reiche Immunsera angewendet werden mußten. Für diesen letzteren Fall dienten demnach die nach drei oder vier Injektionen gewonnenen Sera, für die beiden ersteren Fragen dagegen die nach zwei Injektionen entnommenen. Tabelle VII soll an zwei Beispielen den Unterschied zwischen der mehr oder weniger intensiven Vorbehandlung der Kaninchen bezüglich des Gehaltes an Mitagglutininen illustrieren.

Tabelle VII.
 Auftreten von Mitagglutininen nach intensiver
 Vorbehandlung.

Immunserum	Entnahme	Vom Tage der ersten Injektion nach	Agglutination mit	
			S1 Tr No. 2	OX 19
No. 2 = I.-S. S1 Tr No. 2	II: nach 2 iv. Injekt.	7 Tagen	1:20 000 +	1:100 —
	III: " 3 " "	16 "	1:5000 ++	1:100 —
	IV: " 4 " "	30 "	.	1:100 +
No. 5 = I.-S. OX 19	II: " 2 " "	12 "	1:100 —	1:5000 +
	III: " 3 " "	29 "	1:100 ++	1:2000 +

Wir entnehmen der Tabelle VII, daß das Immunserum des Stammes S1 Tr No. 2 erst nach vier Injektionen die geringgradige Mitagglutination für OX 19 aufwies; ebenso zeigte das OX 19-Serum erst nach drei Injektionen die Mitagglutinine für S1 Tr No. 2.

Zur serologischen Prüfung der aus den 7 Wochen alten Bouillonkulturen isolierten verschiedenen Kolonieförmungen (Tabelle VIII) dienten folgende Sera:

I.-S. OX 19 (= No. 5II) I.-S. S1 Tr No. 2 (= No. 2III)
 I.-S. OX 2 (= No. 7II) I.-S. 33 180 No. 3 (= No. 8III)
 I.-S. Landsteiner I.-S. I R (= No. 6III)

Das Serum Landsteiner (= Proteus-Gruppe III) sollte durch seinen sehr hohen Gehalt an H-Agglutininen entscheiden, ob eine O- oder H-Form vorliegt. Die Sera No. 2III, No. 8III und No. 6III — „Variantensera“ mit einem vom OX 19-Agglutinin verschiedenen Hauptagglutinin — dienten der Prüfung der Variationsbreite. Das I.-S. 33 180_s ist ein H-Immunserum, das die allen X-Stämmen (und den Proteusstämmen der Gruppe III) gemeinsamen H-Agglutinine enthält, die beiden anderen Variantensera sind O-Immunsera.

Tabelle VIII zeigt das serologische Verhalten der isolierten Kolonieförmungen. Auf die nähere Untersuchung der zahlreichen spontanagglutinablen Stämme wurde der Einfachheit der Versuchsanordnung halber verzichtet, trotzdem viele von ihnen ein der Ausgangskultur gegenüber nicht nur durch die Spontanagglutinabilität abweichendes serologisches Verhalten aufwiesen. Denn die X-Stämme sind als Antigen für Komplementbindungsversuche wenig geeignet, so daß für die Prüfung der spontan-

agglutinablen Kulturen nur der umständlichere Weg der Agglutininbindung übrig bliebe. Nur jene Stämme, welche

Tabelle VIII.

Agglutination mit den aus 7 Wochen alten Bouillonkulturen isolierten Kolonien.

Notiert nach 2 Stunden.

I Schrägagar- generation von isolierten Kolonien		Verdünnung 1:100 von Immunsrum					Ldst.	NaCl- Kon- trolle
		OX 19	I R	S1 Tr No. 2	33180 No. 3	OX 2		
ausPlatt.	Bezeichnung	5 II	6 II	2 III	8 III	7 II		
OX 19 a	1 glatt	+++	—	—	—	—	—	—
	2 Hauch	+++	—	—	+++ gr	—	+++ gr	—
OX 19 b	1 klein	++	+	++	++	+++	++	+
	2 „	++	+	+++	+	+++	++	+
	4 „	+++	+++	++	++	+++	—	—
	6 grießig	+	+	+	++	—	—	—
33 180	1 glatt	+++	—	+++	++ gr	+++	++ gr	—
	2 „	+++	—	+++	++ „	+++	++ „	—
X 21	1 klein	+++	+++	+++	+++ gr u.kl	+++	++ „	+
	2 „	+++	+++	+++	+++ „	+++	++ „	+
	3 grießig	±	—	+++	+++ gr	±	+++	—
	4 glatt	+++	—	—	+	—	+	—
OS 1	1 klein	—	—	+++	+++ gr u.kl	—	+++ „	—
	2 „	—	—	+++	+++ „	—	+++ „	—
	3 Hauch	+++	—	—	+++ gr	—	+++ „	—
	4 grießig	+++	+++	±	±	+++	±	±
	5 glatt	++	+++	+++	+++	++	++	±
S 1 Tr	1 klein	+++	—	—	+	gr	+	gr
	2 grießig	—	—	+++	+++	—	—	—
	3 Hauch	+++	—	—	+	„	+	gr
X 24	1 glatt	+++	—	—	+±	„	+±	—
	2 Tröpfchen	+++	—	—	++	„	++	—
287	1 glatt	+++	—	—	+	„	+	—
	2 Tröpfchen	+++	—	—	++	„	++	—
S 5	1 klein	+++	—	—	+++	„	+++	—
	2 „	+++	—	—	+++	„	+++	—
OX 2	1 klein	—	—	—	—	+++	—	—
42 428	1 grießig	—	—	+++	+++	„	+++ gr	—
	2 Hauch	—	—	—	+++	„	+++	—
Kontrollen								
Stamm OX 19		+++	—	—	—	—	—	—
Variante H III		++	+++	++	+++ gr	+++	+++ gr	—
„ S 1 Tr No. 2		—	—	+++	+	—	—	—
„ 33180 No. 3		±	±	±	+++ gr u.kl	—	++ gr	grießig

stabile NaCl-Emulsionen lieferten, wurden daher in der Folge näher untersucht.

Ebenso wie früher bei der Untersuchung der 3 Wochen alten Bouillonkulturen (Tabelle II) zeigte sich auch nach 7 Wochen, daß an allen aus den Bouillonkulturen der Stämme OX 19 a, X 24, 287 und S 5 isolierten Kolonieformen der OX 19-Hauptrezeptor des Ausgangsstammes unverändert erhalten war. (Auch der H-Rezeptor der in der Bouillon von OX 19 a aufgetretenen progressiv wachsenden H-Form erwies sich als identisch mit dem typischen H-Rezeptor der X-Stämme.) Aus den Bouillonkulturen von OS 1 und S 1 Tr ließen sich neben den Ausgangskulturen die beiden früher beschriebenen Varianten unschwer wieder isolieren; während aber bei OS 1 die Variante wieder in Gestalt der „kleinen“ Kolonieformen erschien (No. 1 u. 2), trat sie bei S 1 Tr als „grießige“ auf (No. 2).

Aus Stamm 33 180 wurden zwei „scheinbare“ O-Kolonien isoliert, die sich als untereinander serologisch identisch erwiesen. Von der Ausgangskultur unterscheiden sie sich durch die deutliche Mitagglutination mit den Immunsereen No. 7_{II} und 2_{III}, von der nach Tabelle II isolierten Variante 33 180 No. 3 durch das Fehlen des dieser Variante eigenen O-Hauptrezeptors. Die nähere Untersuchung des einen dieser beiden Stämme (33 180 No. 2) zeigt Tabelle IX.

Es ließ sich feststellen, daß der Stamm 33 180 No. 2 den O-Hauptrezeptor des Ausgangsstammes unverändert besaß, daneben aber auch noch Nebenrezeptoren, die mit den Immunsereen von OX 2 und S 1 Tr No. 2 reagierten. Nach unserer früher gegebenen Definition des Begriffes der serologischen Varianten ist also der Stamm 33 180 No. 2 ihnen nicht zuzuzählen, er stellt vielmehr einen Uebergang zu ihnen dar, da er sich von seinem Ausgangsstamm nur durch den Gehalt an Nebenrezeptoren unterscheidet.

Daß das Auftreten solcher Uebergangsformen, die bei unverändertem Hauptrezeptor neue Nebenrezeptoren ausgebildet haben, keine seltene Erscheinung ist, konnte im Verlaufe dieser Untersuchungen an mehreren Stämmen beobachtet werden. Die derart variierten, noch wenig veränderten Stämme stellen die erste Stufe der Entwicklung vom Ausgangstyp zur

serologischen Variante dar, die von ihm am weitesten entfernt ist.

Tabelle IX.
Agglutinations- und Bindungsversuch mit Stamm
33180 No. 2.

Agglutination mit Stamm	Verdünnung	Immuns Serum		
		No. 5 _{II} = I.-S. OX 19	No. 2 _{III} = I.-S. S1 Tr 2	No. 4 _{III} = I.-S. OX 2
33180 No. 2	1:100	+++	+++	+++
	1:200	+++	++	++±
	1:500	+++	+	+
	1:1000	+++	—	—
	1:2000	++±	—	—
	1:5000	+	—	—
(= Ausgangs- stamm)	1:100	+++	—	—
	1:1000	+++	—	—
	1:2000	++±	—	—
	1:5000	+	—	—
Agglutination mit Stamm	Verdünnung	Je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100 der Immunsere behandelt mit je 1 Agarkultur des Stammes 33180 No. 2		Kontrolle Serum unbehandelt
		I.-S. No. 5 _{II} = I.-S. OX 19		
OX 19	1:200	—	—	+++
	1:500	—	—	+++
	1:1000	—	—	+++
	1:2000	—	—	+++
	1:5000	—	—	+
		I.-S. No. 2 _I = I.-S. S1 Tr 2		
S1 Tr 2	1:200	+++	—	+++
	1:500	+++	—	+++
	1:1000	+++	—	+++
	1:2000	+±	—	+±
	1:5000	—	—	±
		I.-S. No. 4 _{III} = I.-S. OX 2		
OX 3	1:500	+++	—	+++
	1:1000	+++	—	+++
	1:2000	+++	—	+++
	1:5000	+	—	++
	1:10000	—	—	—

Während der eben beschriebene Stamm 33180 No. 2 ein Zwischenglied zwischen Ausgangsstamm und serologischer Variante darstellt, welches dem ersteren noch sehr nahe steht,

konnte aus der Bouillonkultur von OX 19 b ein variiertes Stamm isoliert werden (Tabelle VIII, Stamm No. 4 aus OX 19 b), der nach der früher gegebenen Definition als serologische Variante bezeichnet werden muß, obwohl er zum Ausgangsstamm in näherer Beziehung steht, als dies bei den beiden Varianten OS 1 No. 1 und S 1 Tr No. 2 sowie bei der Weilschen Variante I R der Fall ist. In den Tabellen X, XI und XII sind diese Verhältnisse dargestellt.

Tabelle X.

Vorversuche für die Versuche der Tabellen XI und XII.

Da die Variante H III (= H-Form von I R) eine stabilere NaCl-Emulsion gibt als I R, wurde sie in den folgenden Versuchen an Stelle von I R verwendet. Bei der Gewinnung des Immuserums dagegen war der Variante I R (= der O-Form von H III) der Vorzug zu geben, da sie ein reines O-Immuserum erzeugt.

Agglutination mit	Verdünnung	Immuserum			
		No. 5 _{II} = OX 19	No. 6 _{IV} = I R	No. 4 _{II} = OX 2	•
Stamm OX 19 b 4	1:200	+++	+++	+++	
	1:500	+++	+++	+++	
	1:1000	+++	++	+++	
	1:2000	++±	±	++	
	1:5000	++	—	—	
	1:10 000	—	—	—	
Ausgangsstamm OX 19	1:100	+++	—	—	
	1:200	+++	—	—	
	1:1000	+++	—	—	
	1:2000	++±	—	—	
	1:5000	+	—	—	
		Agglutination mit Stamm			
		OX 19	H III	OX 2	OX 19 b 4
I.-S. No. 10 _{III} = I.-S. OX 19 b 4	1:200	+++	+++	+++	+++
	1:500	+++	+++	++±	+++
	1:1000	+++	++	±	+++
	1:2000	±	+	—	+++
	1:5000	—	—	—	++±
	1:10 000	—	—	—	±

Nach dem Bindungsversuch aus Tabelle XI kommt dem Stamm OX 19 b 4 ein O-Rezeptor zu, der sowohl dem OX 19, dem OX 2 als auch der Variante H III fehlt, da das Immuserum von OX 19 b 4 nach der Behandlung mit jedem dieser drei Stämme für den homologen Stamm unverändert stark

wirksam bleibt. Die OX 19 b 4-Emulsion dagegen verhält sich dem Immuns serum von OX 19 gegenüber anders als den Immuns eren von IR und OX 2: dem ersteren entzieht sie sein Hauptagglutinin in hohem Grade (bis auf $\frac{1}{10}$ des Titers), den beiden letzteren läßt sie es vollkommen intakt (s. Tabelle XII). Das Verhalten des Stammes OX 19 b 4 dem OX 19-I.-S. gegenüber ist also prinzipiell gleich jenem des homologen Stammes OX 19. Denn die in geringem Grade schwächere Bindungsfähigkeit von OX 19 b 4 ändert nichts an dem Ergebnis dieses Bindungs-

Tabelle XI.
Bindungsversuch mit I.-S. OX 19 b 4.

Agglutination mit Stamm	Verdünnung	I.-S. No. 10 ^{III} = I.-S. OX 19 b 4 je 4,5 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 3 Kulturen von Stamm				Kontrolle Serum un- behandelt
		OX 19 b 4	OX 19	H III	OX 2	
OX 2	1:100	—	+++	—	—	+++
	1:200	—	+++	—	—	+++
	1:500	—	++	—	—	+++±
	1:1000	—	—	—	—	±
	1:2000	—	—	—	—	—
OX 19	1:200	—	—	+++	+++	+++
	1:500	—	—	+++	+++	+++
	1:1000	—	—	+++±	+++±	+++±
	1:2000	—	—	++	++	++
	1:5000	—	—	—	—	—
OX 19 b 4	1:200	±	+++	+++	+++	+++
	1:500	—	+++	+++	+++	+++
	1:1000	—	+++	+++	+++	+++
	1:2000	—	+++	++	+++	+++
	1:5000	—	++	+	++	+++±
	1:10 000	—	—	—	—	±

versuches, daß das Hauptagglutinin des OX 19-I.-S. durch den Stamm OX 19 b 4 verankert wird¹⁾).

Da aber als Hauptagglutinin des I.-S. OX 19 b 4 nur jenes gelten kann, welches von keinem der heterologen Stämme verankert wird und da weiter jedem Antigen nur ein Haupt-

1) Daß nicht alle Stämme einer Bakterienart in gleichem Grade imstande sind, das homologe Agglutinin zu binden, ist eine bekannte Tatsache, für die auch unsere Tabelle V ein Beispiel zeigt: die Variante S 1 Tr No. 2 (und ebenso auch OS 1 No. 1) verankerte das Hauptagglutinin aus ihrem homologen Immuns serum in keinem Versuche so vollständig, wie etwa die OX 19-Kultur das OX 19-Agglutinin.

agglutinin zukommen kann, muß das in diesem Serum enthaltene, mit OX 19 reagierende Agglutinin als Nebenagglutinin angesehen werden. Der ihm entsprechende agglutinogene Rezeptor ist somit ein Nebenrezeptor. Mittels dieses Nebenrezeptors verankert aber der Stamm OX 19 b4 das Hauptagglutinin des OX 19-Immunsersums — eine Tatsache, die mit

Tabelle XII.

Bindungsversuche mit Stamm OX 19 b4 und heterologen Immunsereen.

Agglutination mit Stamm	Verdünnung	I.-S. No. 5II = I.-S. OX 19 je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 1 Agarkultur des Stammes				Kontrolle Serum unbehandelt
		OX 19	OX 19 b4	H III	OX 2	
OX 19	1:200	—	++±	+++	+++	+++
	1:500	—	±	+++	+++	+++
	1:1000	—	—	+++	+++	+++
	1:2000	—	—	++±	++±	++±
	1:5000	—	—	+	+	+
	1:10 000	—	—	—	—	—
		I.-S. No. 4III = I.-S. OX 2 je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 1 Agarkultur des Stammes			Kontrolle Serum unbehandelt	
		OX 2	OX 19 b4			
OX 2	1:500	—	+++	+++	+++	
	1:1000	—	+++	+++	+++	
	1:2000	—	+++	+++	+++	
	1:5000	—	+	+	++	
	1:10 000	—	—	—	—	
		I.-S. No. 6IV = I.-S. I R je 2,2 ccm der Verdünnung 1:500, behandelt mit je 1 Agarkultur des Stammes				
		H III	OX 19 b4			
H III	1:500	±	+++	+++	+++	
	1:1000	—	+++	+++	+++	
	1:2000	—	++	++	++	
	1:5000	—	+	+	+	
	1:10 000	—	—	—	—	

der geltenden Auffassung über Haupt- und Nebenagglutinin, bzw. Haupt- und Nebenrezeptoren, nicht im Einklang steht.

Der OX 19-Rezeptor an der OX 19 b4-Kultur läßt sich also in keine der beiden Kategorien: Haupt- und Nebenrezeptor einreihen: dem I.-S. OX 19 b4 gegenüber würde er

als Nebenrezeptor wirken, gegenüber dem I.-S. OX 19 aber als Hauptrezeptor. Wir müssen ihm also eine Uebergangstellung zuweisen. Da nun das verschiedene Verhalten von Haupt- und Nebenrezeptoren bei qualitativer Identität ihrer bindenden Gruppen nur mit der Differenz ihrer Anzahl in Zusammenhang gebracht werden kann, derart, daß der Hauptrezeptor viele, der Nebenrezeptor wenige bindende Gruppen besitzt, beweist das Vorkommen von Rezeptoren, wie der eben beschriebene, daß es zwischen diesen beiden Extremen keine scharfe Grenze, sondern auch Uebergänge gibt.

Der Stamm OX 19 b 4 ist also ebenso wie I R eine serologische Variante von OX 19, da er einen ihm eigenen Hauptrezeptor besitzt. Während aber die Variante I R, die vom Hauptagglutinin des OX 19-I.-S. ebensowenig zu binden imstande ist als z. B. der Stamm OX 2 (s. Tabelle XII), von ihrer Ausgangskultur so weit entfernt erscheint, daß mit den gegenwärtig zur Verfügung stehenden Mitteln der serologischen Diagnostik die tatsächlich vorhandene verwandtschaftliche Beziehung der beiden Kulturen nicht mehr nachweisbar ist — gelingt dieser Nachweis bei der Variante OX 19 b 4 ohne Schwierigkeit, wie aus dem ersten Teil des Bindungsversuches in Tabelle XII zu ersehen ist. Die Uebergangstellung, die die Variante OX 19 b 4 zwischen der Ausgangskultur und der Variante I R (oder H III) einnimmt, wird dadurch mit aller Schärfe deutlich. Sie verdankt sie ihrem OX 19-Rezeptor, dem nach der Zahl seiner bindenden Gruppen eine Mittelstellung zwischen Hauptrezeptor und Nebenrezeptor zukommt.

Als ähnliches Beispiel für das Vorkommen von Rezeptoren der eben beschriebenen Art sei noch der Stamm X 21 No. 3 aus Tabelle VIII, ein Abkömmling von X 21, angeführt. (Tabelle XIII.)

An der Kultur X 21 No. 3 kann besonders deutlich festgestellt werden, daß bei den Variationsvorgängen, die in ihrem Endstadium zum Verlust des ursprünglichen und zur Ausbildung eines neuen Hauptrezeptors führen, Zwischenglieder vorkommen. Der ursprüngliche OX 19-Hauptrezeptor der Ausgangskultur X 21 ist an dem untersuchten variierten Stamm X 21 No. 3 bereits so weit geschädigt, daß seine Verankerungsfähigkeit für die OX 19-Agglutinine auf einen Bruch-

teil der ursprünglichen zurückgegangen ist. Demgegenüber hat der neuerworbene Rezeptor, der mit dem Hauptagglutinin des I.-S. von S 1 Tr No. 2 reagiert, bereits eine Bindungs-

Tabelle XIII.
Bindungsversuche mit Stamm X 21 No. 3 und heterologen Immunsereen.

Verdünnung	Vorversuch					
	Agglutination					
	I.-S. OX 19 = I.-S. No. 5II			I.-S. S 1 Tr 2 = I.-S. No. 2III		
	Stamm OX 19	Stamm X 21 No.3	Stamm X 21	Stamm S 1 Tr 2	Stamm X 21 No.3	Stamm X 21
1:200	+++	±	+++	+++	+++	—
1:500	+++	—	+++	+++	+++	—
1:1000	+++	—	+++	+++	++±	—
1:2000	++±	—	+++	+±	+±	—
1:5000	+	—	+	±	±	—
1:10 000	—	—	—	—	—	—

Agglutination mit Stamm	Verdünnung	I.-S. No. 5II = I.-S. OX 19 je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 1 Agarkultur von			Kontrolle Serum un-behandelt
		OX 19	X 21	X 21 No.3	
OX 19	1:200	—	—	+++	+++
	1:500	—	—	++	+++
	1:1000	—	—	±	+++
	1:2000	—	—	—	++±
	1:5000	—	—	—	+
	1:10 000	—	—	—	—

	Verdünnung	I.-S. No. 2III = I.-S. S 1 Tr 2 je 1,2 ccm der Verdünnung 1:100, behandelt mit je 1 Agarkultur von			
		X 21	X 21 No.3	S 1 Tr 2	
S 1 Tr 2	1:200	+++	++±	+±	+++
	1:500	+++	++	+	+++
	1:1000	+++	+	+	+++
	1:2000	+±	+	±	+±
	1:5000	±	—	—	±
	1:10 000	—	—	—	—

fähigkeit erlangt, die jener des homologen Stammes nur ganz wenig nachsteht. Der Variationsvorgang erscheint danach als ein allmählicher Abbau der alten und allmählicher Aufbau der neuen antigenen Gruppen.

Auf die letzte der oben gestellten drei Fragen ergeben also unsere Untersuchungen die Antwort, daß als Resultat des Variationsvorganges nicht allein die als serologische Varianten bezeichneten Endprodukte der Reaktion entstehen, daß vielmehr im Verlaufe dieses komplizierten Vorganges auch zahlreiche Uebergangsformen auftreten, die alle Verwandtschaftsgrade zwischen der Ausgangs- und Endform repräsentieren. Demnach würde es sich bei den beschriebenen Variationsvorgängen nicht um eine plötzliche, sprunghafte Aenderung jener Anteile der Bakterienleibessubstanz handeln, welche die Träger der agglutinogenen Funktion sind, sondern um eine allmähliche Entwicklung, die die Resultante zweier Komponenten darstellt: der allmählichen Zerstörung und der allmählichen Neubildung jener Leibessubstanzanteile. Die Endstadien dieser Entwicklung: die serologischen Varianten sind verhältnismäßig leichter zu fassen als die Zwischenstadien, da die sehr wesentlichen Unterschiede im serologischen Verhalten die Abgrenzung der Varianten vom Ausgangsstamm ohne Schwierigkeiten ermöglichen. Eine gründliche serologische Analyse einer größeren Anzahl von Kolonien aus den variierenden Bouillonkulturen förderte aber fast bei allen untersuchten Stämmen die Uebergangsformen zutage.

Für jene Komponente des Variationsvorganges, die zum Verlust des ursprünglichen Rezeptors führt, erscheint die Feststellung, daß sie nicht unvermittelt, sprunghaft, sondern allmählich fortschreitend wirkt, nicht weiter überraschend. Denn der Verlust der agglutinogenen Gruppen ist in ungezwungenster Weise auf eine Schädigung der Bakterienleibessubstanz in der alternden Bouillonkultur zurückzuführen und findet ein Analogon in der Schädigung, die die „labilen“, großflockbaren Rezeptoren durch verschiedene chemische und physikalische Eingriffe erleiden und die im Endresultat zu einer völligen Zerstörung dieser agglutinogenen Gruppen führen können. Für die Proteusgruppe sind diese Verhältnisse von Verf. und Mitzenmacher (6), für die Typhus-Gärtner-Paratyphusgruppe von Weil und Verf. (7) ausführlich beschrieben worden. Es zeigte sich immer, daß sowohl bei der Einwirkung höhere Temperaturen als auch verschiedener chemischer Agentien die labilen Rezeptoren an den einzelnen Bakterien

derselben Agarkultur nur allmählich zerstört werden, ein Vorgang, der durch Anwendung der Agglutination, Agglutininbindung und Tierimmunisierung (entsprechend der steigenden Empfindlichkeit der Reaktion) genau verfolgt werden konnte. Ebenso ließ sich in einfacher Weise feststellen, daß in der gewöhnlichen, nur 24 Stunden alten Agarkultur der Bakterien der genannten Gruppen an einem kleineren oder größeren Teil der Individuen immer schon unter den gewöhnlichen günstigen Nährbodenbedingungen der labile (großflockbare) Rezeptor sehr weitgehend geschädigt erscheint — ein weiterer Beweis dafür, daß die Widerstandsfähigkeit derselben großflockbaren bindenden Gruppen an den einzelnen Individuen derselben Bakterienkultur innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankt. Auch die mißlungenen Versuche, die zur Züchtung der „O“-Form der Bakterien der Typhusgruppe aus dem großflockig inagglutinablen Anteil der Bakterienemulsion unternommen wurden (s. Weil und Verf., 7), zeigten, daß diese hochgradig geschädigten (zerstörten?) Rezeptoren bei weiterer Züchtung allmählich wieder bis zur ursprünglichen Größe (Anzahl) ausgebildet wurden.

Unsere Feststellungen über das Auftreten von Uebergangsformen bei Variationsvorgängen, die im Endstadium zur Entstehung von serologischen Varianten führen, stehen in vollster Uebereinstimmung zu den Befunden, die — im Gegensatz zu anderen Autoren — von Bernhardt (8) und von Eisenberg (9) bei Untersuchungen über die Bakterienvariabilität erhoben wurden. Bernhardt konnt beim Stadium der morphologischen und kulturellen Veränderung stets eine große Anzahl von abweichenden Kolonieförmungen finden, die eine kontinuierliche Reihe von Zwischenformen darstellten zwischen dem eingesäten Normaltyp und dem herausgezüchteten divergentesten Kolonietyp — Bernhardt legt — unseres Erachtens mit Recht — dieser Feststellung große Bedeutung bei und basiert auf ihr [gegenüber Baerthlein (10) und anderen Autoren] die Ansicht, daß die Bakterienvariation nicht auf ein spontanes, sprunghaftes Auftreten von Umwandlungen aus rätselhaften inneren Gründen zurückzuführen ist („Mutation“ im Sinne von de Vries), sondern auf eine schrittweise Umwandlung, deren ausschließliche Ursache

6*

Tabelle XIV.

Agglutination mit den aus 5 Monate alten Bouillonkulturen isolierten Tochterstämmen (Stämme vom Typus X 19).

Neben den drei im Versuch Tabelle VIII verwendeten Variantenseren wurde noch das Immuneserum der Variante OX 19 b 4 angewendet. Das Immuneserum 33 180 No. 3 (= Immuneserum No. 8v) machte als H-Serum die Einstellung des Immuneserums Landsteiner überflüssig. — Notiert nach 2 Stunden.

I. Schrägagargeneration von isolierten Kolonien		Verdünnung 1:100 von Immuneserum						NaCl-Kontrolle
		OX 19	I R	OX 19 b 4	33 180 No. 3	S 1 Tr 2	OX 2	
aus Platte	Bezeichn.	5IV	6IV	10III	8v	2III	7IV	
OX 19 a	1 klein	++	—	±	+++ gr	—	—	—
	2 „	+++	—	+++	—	—	—	—
	3 griebig	+++	—	+++	—	—	—	—
	4 glatt	++	—	±	+++ gr	—	—	—
OX 19 b	1 klein	+++	—	+++	—	—	—	—
	2 „	++	+++	++	—	—	—	—
	3 „	+++	—	+++	—	—	—	—
	4 griebig	+++	—	+++	—	—	—	—
	5 klein	++	+++	++	+	++	—	—
33 180	1 glatt	+++	+++	+++	+++ gr	—	—	—
	2 „	+++	+++	+++	++	—	—	—
X 24	1 klein	+++	—	+++	± gr	—	—	—
	2 „	+++	—	++	++ „	—	—	—
	3 griebig	+++	—	+++	+	—	—	—
	4 glatt	+++	—	+	+++ „	—	—	—
287	1 klein	—	—	—	+++ gr	±	—	—
	2 griebig	+++	+++	+++	+++ „	—	—	—
X 21	1 klein	+++	—	+++	+++ gr	—	—	—
	2 griebig	+++	—	+++	+++ „	—	—	—
	3 klein	+++	—	+++	+++ „	—	—	—
OS 1	1 „	+	+	+++	+++ gr?	+	+	+
	2 „	+	+	++	+++	++	+	+
	3 griebig	+++	—	+++	—	—	—	—
	4 glatt	—	—	—	+++ gr	—	—	—
S 1 Tr	1 klein	—	—	—	+++ gr	+	—	—
	2 „	—	—	—	+++ „	++	—	—
	3 griebig	+++	—	+++	—	—	—	—
	4 glatt	—	++	++	+++ gr u. kl	+	—	—
S 5	1 sehr klein	+++	—	+++	+++ gr	—	—	—
	2 „	±	±	—	+++ „	—	—	—
	3 griebig	+++	—	+++	+++ „	—	+	—
Kontrollen:								
Stamm	OX 19	+++	—	+++	—	—	—	—
Variante	OX 19 b 4	+++	+++	+++	++	++	+++	—
„	H III	+++	+++	+++	+++ gr	++	+++	—
„	S 1 Tr 2	—	—	±	+	+++	—	—
„	33 180 No. 3	±	±	±	+++ gr u. kl	+	—	griebig

in der allmählich fortschreitenden Aenderung der äußeren Einwirkungen zu suchen ist. Unsere Versuche können nur in eben demselben Sinne gedeutet werden.

Die Fragen nach der Gültigkeit der beschriebenen Variationsvorgänge bei allen untersuchten X-Stämmen und nach der Variationsbreite wurden unter Mitberücksichtigung der folgenden Versuche beantwortet (Tabelle XIV und XV).

Tabelle XV.

Agglutination mit den aus 3 1/2 und 5 Monate alten Bouillonkulturen isolierten Tochterstämmen (Typus X2).

Verwendete Immunsera: neben jenen aus Tabelle XIV noch
 No. 12_{III} = I.-S. 42 428, } aus zwei in Tabelle VIII untersuchten Kul-
 No. 13_{III} = I.-S. 42 428, } turen von 42 428.

Notiert nach 2 Stunden.

I. Schrägagargeneration von isolierten Kolonien		Verdünnung 1:100 von Immunsorum							NaCl-Kontrolle	
		OX 19	I R	33 180 No. 3	OX 19 b 4	S1 Tr 2	OX 2	42 428 N. 1		42 428 No. 2
aus Platte	Bezeichn.	5 _{IV}	6 _{IV}	8 _V	10 _{III}	2 _{III}	7 _{IV}	12 _{III}	13 _{III}	
Bouillonkultur										
3 1/2 Monate alt										
311	a klein	—	—	+++ kl u. gr	—	—	±	+ gr	+ gr	—
	b „	—	—	+	—	—	±	—	—	—
	c „	—	—	++ ± kl u. gr	—	—	+	++ gr	+ ± gr	—
	d glatt	—	—	+ ± kl u. gr	—	—	+	+	+	—
	f „	—	—	++ ± kl u. gr	—	—	+	+	+	—
42 428	g „	—	—	++ ± kl u. gr	—	—	+	+	+	—
	a klein	—	—	++ ± gr	—	—	—	++ ± gr	++ ± gr	—
	b „	—	—	++ ± „	++	—	+++	++ ± „	++ ± gr u. kl	—
	c grießig	—	—	++ ± „	—	—	—	++ ± „	++ ± gr	—
d „	—	—	++ ± „	—	—	—	++ ± „	++ ± „	—	
Bouillonkultur										
5 Monate alt										
OX 2	1 klein	—	—	—	±	—	+++	—	±	—
	2 „	—	—	—	+	—	++	±	+	—
	3 „	—	—	±	+++	—	+++	+	+++	—
	4 „	—	—	±	+++	—	+++	+	+++	—
	5 „	—	—	±	+++	—	+++	+ ±	+++	—
	6 „	—	—	±	+++	—	+++	+	+++	—
	7 „	—	—	+	+++	—	+++	+ ±	+++	—
311	2 „	—	—	++	—	—	—	—	—	—
	3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4 glatt	—	—	++ gr	++	—	+++	++ gr	+++ gr u. kl	—
42 428	1 klein	—	—	++ gr	±	—	+++	++ gr	+++ gr u. kl	—
	2 „	—	—	++ ± „	+	—	+++	++ ± „	+++ gr u. kl	—
	3 grießig	—	—	++ ± „	—	—	—	++ ± „	++ ± gr	—
	4 glatt	—	—	++ ± „	+	—	+++	++ ± „	+++ gr u. kl	—

Aus Tabelle XIV (und Tabelle VIII) ergibt sich, daß von den 7 untersuchten Stämmen vom Typus X 19 nur beim Stamm X 24 die Isolierung einer serologisch variierten Kultur nicht gelungen ist. Denn die Stämme 287 No. 1 und S. 5 No. 2 aus Tabelle XIV, die nicht näher untersucht wurden, zeigen schon nach dem Ausfall des Agglutinationsversuches sehr weitgehende Abweichungen gegenüber ihren Ausgangskulturen, und von den übrigen Stämmen sind in den vorangehenden Versuchen die serologischen Varianten OX 19 b 4, OS 1 No. 1, S 1 Tr No. 2, 33180 No. 3 sowie die serologisch stark abweichenden Stämme X 21 No. 3 und 33180 No. 2 beschrieben. [An dieser Stelle sei auch erwähnt, daß die aus S 5 isolierten „sehr kleinen“ Kolonien No. 1 und No. 2 in den ersten zwei Generationen auf Agar überaus langsam wuchsen, so daß sie nach 48 Stunden auch unter der Lupe kaum sichtbar waren!]

Bei den drei untersuchten Stämmen vom Typus X 2 war die den gleichen Zeitraum hindurch unter den gleichen Bedingungen beobachtete Variabilität wesentlich geringer. In der Bouillonkultur von OX 2 blieb jeder Variationsvorgang vollkommen aus. Aus den Ausgangskulturen von 311 und 42428 gelang es zwar, wie aus Tabelle XV hervorgeht, eine größere Zahl von Tochterstämmen zu isolieren, die im Agglutinationsversuch mit dem OX 2-I.-S. entweder gar nicht oder nur sehr schwach reagierten. Im Bindungsversuch (Tabelle XVI) zeigte sich jedoch, daß die meisten dieser Kulturen das Hauptagglutinin des OX 2-I.-S. verankerten. Eine Ausnahme bilden die Stämme 311 No. 2 und 311 No. 3, an welchen die allmählich fortschreitende Entfernung von der Ausgangskultur wieder deutlich zum Ausdruck kommt (Tabelle XVI).

Als serologische Variante im Sinne der oben gegebenen Definition erwiesen sich dagegen der Stamm 42428 No. 1, der aus der 7 Wochen alten Bouillonkultur isoliert wurde (s. Tabelle VIII). Das mit dieser Kultur gewonnene I.-S. No. 12, ein grobflockendes (H-)Serum, das im Versuch Tabelle XV als Variantenserum mitverwendet wurde, agglutinierte mit den typischen X 2-Stämmen kleinflockig entweder gar nicht oder nur in der einer Mitagglutination entsprechenden Titerhöhe.

Bezüglich der Variationsbreite der X-Stämme vom Typus X 19, deren Tochterstämmen in Tabelle VIII und

Tabelle XVI.

Bindungsversuch mit variierten Stämmen vom Typus X2.
Neben den nach Tabelle XV isolierten variierten Kulturen wurden die Ausgangsstämme als Kontrollen eingestellt. Notiert nach 18 Stunden.

Agglut. mit Stamm	Verdünnung	I.-S. No. 7 _{IV} = I.-S. OX 2; je 2,2 ccm der Verdünnung 1:50 behandelt mit je 1 Agarkultur von Stamm							Kontrolle Serum un- behandelt	
		311	311 b	311 No.3	311 No.2	42 428	42 428 a	42 428 No. 3		OX 2
OX 2	1:50	-	+	+++	+++	-	-	-	-	+++
	1:100	-	-	++	+++	-	-	-	-	+++
	1:200	-	-	-	±	-	-	-	-	+++
	1:500	-	-	-	-	-	-	-	-	++
	1:1000	-	-	-	-	-	-	-	-	±

Tabelle XIV mit je 3 beziehungsweise je 4 verschiedenen Variantenseren geprüft wurden, ließ sich das Urteil durch folgende Betrachtung gewinnen: Von den ziemlich zahlreichen Stämmen, die sich schon nach dem Ausfall der Agglutination mit dem I.-S.-OX 19 als vom Ausgangsstamm abweichend er-

Tabelle XVII.

Bindungsversuch zum Nachweis der Variationsbreite (an den nach Tabelle XIV isolierten variierten Stämmen).

Verdünnung	Vorversuch								Kontrolle Serum un- behandelt
	I.-S. No. 6 _{IV} = I.-S. I R agglutiniert mit Stamm								
	OX 19 b No. 2	OX 19 b No. 5	33 180 No. 1	33 180 No. 2	287 No. 2	S1 Tr No. 4	I R	H III	
1:100	+++	+++	+++	+++	++±	+++	+++	+++	+++
1:200	+++	+++	+++	+++	+	++±	+++	+++	+++
1:500	++±	++±	++	++±	±	+	+++	+++	+++
1:1000	+	+	±	+	-	-	+++	+++	+++
1:2000	±	±	-	±	-	-	+++	++	++
1:5000	-	-	-	-	-	-	++	+	+
1:10000	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Aggl. mit St.	Verdünnung	I.-S. No. 6 _{IV} = I.-S. I R je 2,2 ccm der Verdünnung 1:500 behandelt mit je 1 Agarkultur der Stämme							Kontrolle Serum un- behandelt	
		entsprechend den Rubriken des Vorversuchs								
H III	1:500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	+++
	1:1000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++
	1:2000	±	++	++	++	++	++	-	-	++
	1:5000	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	1:10000	-	-	-	-	-	-	-	-	-

wiesen, unter welchen also die variierten Kulturen in erster Reihe zu suchen waren, zeigte nur ein geringer Bruchteil eine stärkere Reaktion mit einem der Variantensera. Bei allen jenen variierten Kulturen, die bei veränderter oder unveränderter Reagierbarkeit mit dem OX 19-I.-S. eine stark

Tabelle XVIII.

Prüfung der Mitagglutinine des I.-S. S1 Tr 2.

Alle in diesem Versuch angewendeten Stämme sind in früheren Versuchen bereits beschrieben worden.

Verdünnung	Vorversuch							
	I.-S. No. 2 _{III} = I.-S. S1 Tr 2 agglutiniert mit Stamm							
	X 21 No.3	33180 No. 2	OX 19 b4	S1 Tr 2	OS1 No.1	S1	42 428 No. 1	42 428
1:100	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—
1:200	+++	++	+++	+++	+++	—	+++	—
1:500	+++	+	+	+++	+++	—	+++±	—
1:1000	+++	—	—	+++	+++	—	+	—
1:2000	++	—	—	+±	++	—	±	—
1:5000	±	—	—	±	++	—	—	—
1:10 000	—	—	—	—	—	—	—	—
Agglut. mit Stamm	Verdünnung	I.-S. 2 _{III} je 1,2 cem der Verdünnung 1:100 behandelt mit je 1 Kultur				Kontrolle Serum unbehandelt		
		X 21 No. 3	33180 No. 2	OS1 No.1	24 2428 No. 1			
X 21 No. 3	1:200	+	+++	+	++±	+++		
	1:500	—	+++	±	++	+++		
	1:1000	—	++	—	±	+++		
	1:2000	—	±	—	—	++		
	1:5000	—	—	—	—	±		
		I.-S. 2 _{III} je 1,2 cem der Verdünnung 1:100 behandelt mit je 1 Kultur				Kontrolle Serum unbehandelt		
		33180 No. 2	OS1 No.1	42 428 No. 1	42 428			
42 428 No. 1	1:200	+++	++	—	+++	+++		
	1:500	++	+	—	++±	++±		
	1:1000	+	±	—	+	+		
	1:2000	±	±	—	±	±		
	1:5000	—	—	—	—	—		
		I.-S. 2 _{III} je 1,2 cem der Verdünnung 1:100 behandelt mit je 1 Kultur			Kontrolle Serum unbehandelt			
		OX 19 b4	X 21 No. 3	S1 Tr 2				
OX 19 b4	1:200	—	++±	—	+++			
	1:500	—	+	—	+			
	1:1000	—	—	—	—			

positive Agglutination mit einem der vier Variantensera aufwiesen, konnte durch Bindungsversuche festgestellt werden, daß nicht die Identität des Hauptrezeptors, sondern Gemeinsamkeit von Nebenrezeptoren die Ursache der positiven Reaktion war. Tabelle XVII zeigt solch einen Versuch für alle jenen variierten Kulturen aus Tabelle XIV, die mit dem Variantenserum I R stark positiv reagierten.

Daß aber auch die die kleinflockige Mitagglutination zwischen den einzelnen Stämmen bedingenden Nebenrezeptoren von großer Mannigfaltigkeit sind, läßt die folgende Prüfung des I.-S. S 1 Tr 2 erkennen, das an Mitagglutininen für verschiedene variierte Stämme reich ist (Tabelle XVIII).

Man ersieht aus dieser Tabelle, daß selbst das Verhältnis der Mitagglutinine (bzw. der Nebenrezeptoren) dieser ihrer Herkunft nach nahe verwandten Stämme zueinander kein näheres ist, als jenes, das von Weil und Verf. (7) für Bakterien der Typhus-Paratyphusgruppe festgestellt werden konnte — für Mikroorganismen bezüglich deren keine Meinungsverschiedenheit darüber besteht, daß sie sowohl in serologischer als auch in kultureller Hinsicht besondere Arten darstellen!

Nach diesen Ergebnissen muß die Reaktionsbreite der serologischen Variabilität für die X-Stämme als eine sehr große bezeichnet werden.

Die beschriebenen Varianten waren noch auf ihre Konstanz zu prüfen. Im Laufe der 5 Monate dauernden Untersuchungen ist nur bei einer einzigen der beschriebenen Varianten ein Rückschlag in den Ausgangsstamm beobachtet worden und dieser erfolgte schon nach wenigen Ueberimpfungen auf gewöhnlichem Agar (Tabelle XIX).

Tabelle XIX.
Rückschlagen des variierten Stammes 42428 No. 1.

Agglutination mit Stamm	Verdünnung 1:100 von Immunsrum			
	OX 2	S1 Tr 2	42428 No. 1	42428
	7 IV	2 III	12 III	13 III
42428 No. 1 { II. Agargeneration	—	+++	+++ gru.kl	++ nur gr
{ IV. Agargeneration	+++	—	++± nur gr	+++ gru.kl
Ausgangsstamm 42428	+++	—	++± nur gr	+++ gru.kl
OX 2	+++	—	—	+++ kl

Tabelle XIX zeigt diesen Rückschlag der Kultur 42 428 No. 1, die nach Tabelle VIII isoliert worden war und deren Immunsorum No. 12 im Versuch Tabelle XV als Variantenserdiente.

Dagegen erwiesen sich alle aus den Stämmen vom Typus X 19 gewonnenen Varianten bei sehr häufiger Ueberimpfung auf Schrägagar mehrere Monate hindurch vollkommen konstant. Auch in Bouillonkulturen, unter denselben Bedingungen, die zur Abspaltung dieser Varianten aus ihren Ausgangsstämmen geführt hatten, erfolgte im Verlaufe einer Beobachtungsdauer von 3—4 Monaten kein Rückschlag. Die Prüfung auf Konstanz wurde in folgender Weise ausgeführt: Von isolierten Kolonien der Varianten wurden Bouillonkulturen angelegt und genau so behandelt, wie dies für die Bouillonkulturen der Ausgangsstämme früher angegeben wurde. Nach 3—4 Wochen wurde von ihnen auf Agarplatten abgeimpft. Das resultierende Kolonienbild ist in Tabelle XX wiedergegeben.

Tabelle XX.

Kolonieformen aus Bouillonkulturen der Varianten.

Bouillonkultur		Agarplatten angelegt nach 3—4 Monaten
von Stamm	abgeimpft aus Agargeneration	
OS1 No. 1	VII	keine H; fast nur „glatte“ Kolonien, daneben vereinzelt „kleine“.
S1 Tr 2	VIII	
33180 No. 3	V	
OX 19 b4	V	
X 21 No. 3	IV	keine H; mehr griesige als glatte, ziemlich viele kleine (s. Tab. VI letzte Rubrik).
42428 No. 1	I	

Für die serologische Prüfung wurden von diesen Platten die größten Kolonien auf Schrägagar abgeimpft, da sie nach dem für OX 19 typischen Aussehen am meisten als Rückschläge verdächtig erschienen. Tabelle XXI zeigt, daß sie sich im Agglutinationsversuch genau so verhielten, wie die parallel untersuchten Agarkulturen dieser Varianten, die eine verschieden große Anzahl von Generationen hindurch immer auf Schrägagar fortgezüchtet worden waren.

Danach muß die Konstanz dieser Varianten als jener ihrer Ausgangsstämme gleich angesehen werden, selbst für den Fall, daß unter den nicht näher untersuchten „kleinen“ Kolonieförmigen aus Tabelle XX sich wieder variierte Stämme befänden. Denn von den Varianten ist natürlicherweise nicht eine größere Konstanz zu erwarten, als sie ihren Ausgangsstämmen zukommt.

Tabelle XXI.

Prüfung der Varianten auf Konstanz.

Die Bezeichnung „aus Bouillon“ bedeutet eine Schrägagarkultur, die von einer „glatten“ Kolonie aus Tabelle XX abgeimpft wurde. — „Agar XI“ bedeutet elfte Generation auf Schrägagar. — Notiert nach 2 Stunden.

Agglutination mit Stamm	Verdünnung 1:100 von Immunsrum						NaCl-Kontrolle	
	OX 19	I R	OX 19 b 4	33 180 No. 3	S1 Tr 2	OX 2		
	5II	6IV	10II	8v	2II	7IV		
OS 1 No. 1	aus Bouillon	—	±	—	+	+++	—	—
	Agar XI	—	±	—	+	+++	—	—
S1 Tr 2	aus Bouillon	—	+	+	+	+++	±	—
	Agar XVI	—	+	+	+	+++	±	—
33180 No. 3	aus Bouillon	±	±	±	+++ gr u. kl	—	±	±
	Agar V	±	±	±	+++ gr u. kl	—	±	±
OX 19 b 4	aus Bouillon	+++	+++	+++	++	+	+++	—
	Agar XII	+++	+++	+++	++	+	+++	—
X 21 No. 3	aus Bouillon	—	±	—	++± gr	+++	—	—
	Agar X	—	±	—	++± gr	+++	—	—

Die Feststellung der sehr beträchtlichen Variationsbreite der X-Stämme rückte die Frage in den Vordergrund, ob durch die zahlreichen serologischen Varianten die scharfe Abgrenzung der X-Stämme innerhalb der großen Familie Proteus nicht wieder unmöglich wird, die in früheren Untersuchungen Weil und Verf. mit Hilfe der rein kleinflockenden O-Immunsere gelungen war. Eine hinreichend umfangreiche Variabilitätsuntersuchung an gewöhnlichen Proteusstämmen (insbesondere der Gruppe III) konnte nicht durchgeführt werden. Dagegen zeigt ein orientierender Agglutinationsversuch, der mit einer größeren Anzahl gewöhnlicher Proteusstämme und allen beschriebenen Variantenseren angestellt wurde, daß die scharfen Grenzen zwischen den X-Stämmen und den übrigen Proteusstämmen unangetastet geblieben waren (Tabelle XXII).

Tabelle XXII.
Agglutination der Variantensera mit gewöhnlichen
Proteusstämmen.

Notiert nach 20 Stunden.

No.	Proteus	Verdünnung 1:100 von Immuneserum						NaCl-Kontrolle
		OX 19	I R	OX 19 b4	S1 Tr2	OX 2	33180 No. 3	
		5 IV	6 IV	10 III	2 III	7 IV	8 V	
1	32 185	—	—	—	—	—	—	—
2	34 873	—	—	—	—	—	—	—
3	38 169	—	—	—	++	—	—	—
4	32 166	—	—	—	—	—	—	—
5	K 15	—	—	—	—	—	—	—
6	Krah.	—	—	—	±	—	—	—
7	K 754	—	—	—	—	—	±	gr
8	K 1	—	—	—	+++	—	++	„
9	38 898	—	—	—	—	—	++	„
10	31 010	—	—	—	—	—	++±	„
11	31 634	—	—	—	—	—	++±	„
12	35 126	—	—	—	—	—	++	„
13	37 065	—	—	—	—	—	++±	„
14	42 927	—	—	—	—	—	++±	„
15	55 039	±	—	—	—	—	++	„
16	a	—	—	—	—	—	++±	„
17	Landsteiner	—	—	—	—	—	++±	„
18	W 5	—	—	—	—	—	++±	„

In Tabelle XXII zeigt nur eine von den untersuchten 18 Proteuskulturen, die aus verschiedenen Gegenden Europas und Asiens stammen, eine stärkere kleinflockige Agglutination mit einem Variantenserum (Stamm K 1 mit I.-S. No. 2III), die aber, wie der folgende Bindungsversuch lehrt, nicht auf das Hauptagglutinin, sondern auf ein Nebenagglutinin dieses Immuneserums zurückzuführen ist. Eine geringgradige, durch sekundäre O-Rezeptoren bedingte, kleinflockige Mitagglutination ganz vereinzelter Stämme mit den O-Immuneseren der X-Stämme war von Weil und Verf. unter der großen Zahl der darauf geprüften gewöhnlichen Proteuskulturen früher schon beobachtet worden. Die Mitteilung dieser seltenen Fälle ist einer ausführlichen Proteusarbeit vorbehalten. Jedenfalls ist aus Tabelle XXII zu ersehen, daß bezüglich der O-Agglutinine die vier untersuchten Variantensera sich den gewöhnlichen Proteusstämmen gegenüber nicht weniger streng spezifisch verhalten als die Immunesera der typischen X-Stämme (Tabelle XXIII).

Tabelle XXIII.
Bindungsversuch mit Proteus K 1.

Agglutination mit Stamm	Ver- dünnung	I.-S. 2 _{III} = I.-S. S1 Tr 2 je 1,2 cem der Verdünnung 1:100 behandelt mit je 1 Agarkultur			Kontrolle Serumun- behandelt
		S1 Tr 2	K 1	H III	
K 1	1:200	—	—	—	+++
	1:500	—	—	—	++
	1:1000	—	—	—	+
	1:2000	—	—	—	—

Den sekundären Rezeptor (Nebenrezeptor), der die Mitagglutination des Stammes K 1 mit I.-S. No. 2_{III} bedingt, hat dieser Stamm nach dem Bindungsversuch in Tabelle XXIII auch mit der Variante H III gemeinsam. Diese nach unseren Erfahrungen zwischen gewöhnlichen Proteusstämmen sehr seltene Gemeinsamkeit eines kleinflockenden Nebenrezeptors steht möglicherweise in einem Kausalverhältnis zu der Tatsache, daß der Proteusstamm K 1 aus den Leichenorganen eines klinisch und serologisch sichergestellten Fleckfieberfalles (Konstantinopel) gezüchtet war. Die Möglichkeit wäre nicht von der Hand zu weisen, daß es sich um eine während jener Epidemie häufiger auftretene oder im Verlaufe der Krankheit im Organismus des Erkrankten entstandene Variante von X 19 handelte, deren Diagnostizierung erst jetzt durch Anwendung mehrerer Variantensera möglich wurde.

Damit berühren wir die für die Diagnostik und Epidemiologie wie auch für die ätiologische Forschung gleich wichtige Frage, ob ähnliche serologische Varianten, wie sie im künstlichen Variationsversuch in großer Zahl entstehen, auch im Organismus des fleckfieberkranken Menschen oder der fleckfieberinfizierten Versuchstiere auftreten. Zwar können nur ausgedehnte Züchtungsversuche aus allen — insbesondere den späteren — Stadien des Krankheits-(Infektions-)Verlaufes die entscheidende Antwort darauf erteilen. Einen gewissen Anhaltspunkt müßte jedoch auch die serologische Untersuchung von fleckfieberkranken Menschen oder fleckfieberinfizierten Tieren geben, wenn sie mit einer entsprechend großen Anzahl von Varianten durchgeführt wird, die sich von mehreren X-Stämmen ableiten. Wenn sich für die Varianten Antikörper

nachweisen ließen, dann wäre dieses Versuchsergebnis von entscheidender Beweiskraft. Dem negativen Ausfall dagegen kann nur geringere Bedeutung zukommen, denn der Einwand bleibt bestehen, daß im infizierten Organismus andere Varianten entstanden waren als jene, die zufällig zum Versuch herangezogen wurden. Zwei nach dieser Richtung angestellte Versuche seien im folgenden mitgeteilt (Tabelle XXIV und Tabelle XXV).

Tabelle XXIV.

Agglutination einiger Varianten mit Fleckfieberkrankenserum.

Fleckfieberkrankenserum (zumeist zur Zeit der Entfieberung entnommen).	Titer für		Agglutination in der Verdünnung 1:200 mit Stamm			
	HX 19	HX 2	S1 Tr 5	H III	33180 No.3	
Krakau No. 1	1:1000 +	1:100 +±	—	—	±	
„ „ 2	1:2000 +	1:100 +	—	—	±	
„ „ 3	1:2000 ++	1:500 ±	—	+±	++	
„ „ 4	1:500 ±	1:100 +	—	—	±	
„ „ 5	1:500 +	1:50 ±	—	—	±	
„ „ 6	1:2000 ±	1:100 ±	±	—	±	
„ „ 7	1:200 +	1:50 +±	—	—	±	
„ „ 8	über 1:2000	1:2000 ±	—	—	±	
„ „ 9	über 1:2000	1:100 ++	—	—	±	
„ „ 10	1:200 ±	1:100 +	—	—	±	
„ „ 11	über 1:2000	1:50 ±	—	—	±	
Odessa No. 1	1:1000 ±	1:100 +±	±	+±	++	
Kontrolle NaCl	—	—	—	—	±	
Notiert nach	20 Stunden		nach 6 Stunden			

Tabelle XXV.

Agglutination einiger Varianten mit dem Serum von fleckfieberinfizierten Kaninchen.

Ueber die Serumreaktion von fleckfieberinfizierten Kaninchen siehe bei Weil und Verf. (10).

Kaninchen No.	Infiziert mit Virus	Titer für OX 19 14 Tage nach der Infektion	In der Verdünnung 1:100 Agglutination mit Stamm				
			OS 1 Nr. 1	S1 Tr2	H III	X 21 No. 3	33 180 No. 3
LXII	I	1:5000 ++	±	—	—	—	+
LXVI	II	1:1000 +	+	—	±	+	+
LXX	II	1:1000 ++	—	—	—	—	+
Kontrolle NaCl	—	—	—	—	—	—	±

Beide Versuche ergaben ein negatives Resultat. Weder die Sera der fleckfieberkranken Menschen noch jene der fleckfieberinfizierten Kaninchen, die alle mit X 19 stark reagierten, enthielten Agglutinine für eine der untersuchten Varianten, Wenn auch alle geprüften Patientensera sowie die beiden verwendeten Virusstämme demselben russisch-polnischen Fleckfieberherd entstammen und obwohl der geringe Umfang der beiden letzten Versuche weitergehende Schlüsse nicht zuläßt, ist die Tatsache immerhin bemerkenswert, daß mit den untersuchten Varianten nur negative Resultate erzielt wurden. Dies würde darauf hindeuten, daß im fleckfieberinfizierten Organismus die Bedingungen für die Variantenbildung nicht in dem Maße gegeben sind, als im Reagenzglasversuch. Für die ersten zwei Krankheitswochen beim Menschen sowie für die ersten zwei Wochen vom Zeitpunkt der Infektion beim Kaninchen kann dieser Schluß aus unseren Versuchen wohl gezogen werden. Ueber das spätere Stadium des Infektionsverlaufes können wir dagegen nichts aussagen.

Zusammenfassung.

1) Die von Weil (1) beschriebene Abspaltung von „serologischen Varianten, d. i. von variierten Stämmen, die einen vom ursprünglichen verschiedenen O-Hauptrezeptor ausgebildet haben, wurde an mehreren Kulturen verschiedener Herkunft vom Typus X 19 und an einer vom Typus X 2 bestätigt. Die Ansicht Weils, daß X 2 als eine Variante von X 19 zu betrachten ist, findet darin weitere Stütze.

2) Die Reaktionsbreite der serologischen Variabilität der X-Stämme ist eine sehr große.

3) Außer den „serologischen Varianten“, die von der Ausgangskultur am weitesten entfernt sind, entstehen auch zahlreiche Uebergangsformen.

4) Besonders bemerkenswert sind jene Uebergangsformen, welche Rezeptoren aufweisen, deren Klassifizierung in Haupt- und Nebenrezeptoren nach der geltenden Terminologie nicht möglich ist. Diesen Rezeptoren kommt vielmehr eine Uebergangsstellung zu.

5) Der Variationsvorgang ist nicht als „Mutation“ im Sinne von de Vries anzusehen. Er ist die Resultante zweier Komponenten: der allmählichen Zerstörung und der allmählichen Neubildung jener Anteile der Bakterienleibessubstanz, welche die Träger der antigenen Funktionen sind.

6) Die Konstanz der Varianten ist gleich jener der Ausgangskulturen.

7) Von den gewöhnlichen Proteusstämmen lassen sich die Varianten ebenso scharf wie die typischen X-Stämme (=Ausgangsstämme) abgrenzen.

8) Variationsvorgänge am H-Rezeptor wurden bis nun nicht beobachtet.

Literaturverzeichnis.

- 1) Weil, Wien. klin. Wochenschr., 1920, No. 3.
- 2) Weil und Felix, Wien. klin. Wochenschr., 1918, No. 23.
- 3) Felix, Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 39.
- 4) Zeiß, Archiv f. Hyg., 1910, H. 5 u. 6.
- 5) Weil und Felix, Wien. klin. Wochenschr., 1917, No. 48.
- 6) Felix und Mitzenmacher, Wien. klin. Wochenschr., 1918, No. 36.
- 7) Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, H. 1/2.
- 8) Bernhardt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 79, 1915, H. 2.
- 9) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 80, 1918, H. 7.
- 10) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 81, 1918, H. 8.
- 11) Weil und Felix, Wien. klin. Wochenschr., 1920, No. 20.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag]
(Vorstand: Prof. Dr. O. Bail).]

Variationsversuche mit dem *B. enteritidis* Gärtner.

Von Dr. **Theodor Gruschka.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

Die große Literatur über Variabilität von Mikroorganismen enthält recht wenig Angaben über beobachtete Aenderungen des serologischen Verhaltens. Die eigenartigen Befunde, die Weil und Felix bei den Fleckfieber-*Proteus*-Stämmen erhoben haben, drängten zu einer eingehenden Bearbeitung der Frage, ob der Rezeptorenbestand wandelbar ist. Wir wählten die Typhusgruppe und begannen mit Untersuchungen des Gärtnerbakteriums. Für diese Wahl war bestimmend, daß wir in den Untersuchungen von Weil und Felix über den Doppeltypus der Rezeptoren in der Typhusgruppe eine wichtige Vorarbeit bereits vor uns hatten, und daß die Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann über die serologische Wandlungsfähigkeit der Enteritidbakterien schon Resultate ergeben haben, welche unsere Arbeit aussichtsreich erscheinen ließen. Die interessanten Ergebnisse dieser Autoren, welche weitgehende Aenderungen des serologischen Verhaltens von Bakterien aus der Gruppe der Fleischvergifter fanden, waren eigentlich schon eine Antwort auf die Frage, die wir uns gestellt haben. Wenn wir trotzdem diese Experimente angingen, so taten wir es, nicht nur weil uns die Tatsachen so interessant erschienen, daß wir sie aus eigener Erfahrung kennen wollten, sondern auch weil wir hofften, nähere Einzelheiten durch die Anwendung der Methode der Rezeptorenanalyse zu erfahren.

Es wurden 4 Gärtnerstämme in Untersuchung genommen

- 1) Gärtner 1 (stammt von Dr. Dienes, Budapest),
- 2) Gärtner 2 (aus dem Král-Museum, Wien: Frankenhäuser, Sobernheim),

- 3) Gärtner 17 (aus dem Král-Museum, Wien: St Johann, München),
 4) Gärtner 19 (aus dem Král-Museum, Wien: Näheres unbekannt).

Die Stämme wurden von den Stichagaren der Institutsammlung auf Agarplatten gestrichen; sie erwiesen sich als rein und zeigten einheitliche Kolonieförmigkeiten: glatte, glänzende, bläulich durchscheinende Kolonien mit angedeuteter Lappung. Nur Gärtner 19 zeigte daneben auffallend verschiedene Formen: große nichtglänzende, gelblich undurchscheinende Kolonien mit starker Lappung (Weinblattform). Von jeder Platte wurde je eine Kolonie abgeimpft, nur von Gärtner 19 Repräsentanten beider Kolonieförmigkeiten; die typische wurde als 19/1 bezeichnet, die gelbe trübe als 19/2. Von jeder abgeimpften Kolonie wurde je ein Schrägagar und ein Bouillonröhrchen angelegt.

Diese Bouillonkulturen blieben 4 Monate im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen. Vom Inhalt, der durch Eintrocknen auf das halbe Volumen zurückgegangen war, wurden jetzt Agarplatten gestrichen (ein einfaches verlässliches Verfahren zur Erzeugung von Varianten, welches Baerthlein angegeben hat). Diesmal gingen auffallend verschiedene Kolonien auf: Man sah die typischen, glatten in der Durchsicht bläulich irisierend gezeichneten, dann runde homogen gelblich undurchscheinende, dann weinblattförmige, gelblich undurchscheinende, und zwerghaft kleine bläuliche. Wir impften von den verschiedenen Kolonieförmigkeiten auf Schrägagar ab, prüften in der Folge serologisch und kulturell.

Die kulturelle Prüfung ergab außer Wachstumsformunterschieden und Ungleichheit in der Beweglichkeit nichts Bemerkenswertes. Alle Stämme zeigten, von kleinen quantitativen Unterschieden in den chemischen Leistungen abgesehen, die für Gärtner charakteristischen Funktionen. Wir wendeten den beobachteten kleinen kulturellen Verschiedenheiten nur nebenbei unsere Beachtung zu und interessierten uns um so mehr für die serologischen.

Vor Wiedergabe der Versuchsergebnisse muß noch einiges über die Serologie des Gärtnerbakteriums vorausgeschickt werden. Die meisten Gärtnersera wirken bekanntlich stark agglutinierend auf Typhusbakterien, und umgekehrt agglutinieren

fast immer Typhussera die Gärtnerstämme. Durch Bindung können die heterologen Agglutinine entfernt werden, ohne daß das Serum die Wirksamkeit gegenüber der homologen Art verliert (Castellanischer Versuch). Weil und Felix haben nun gezeigt, daß die Beobachtung der Beschaffenheit des Agglutinats, ob also die Ausflockung grob oder fein¹⁾ ist, bei der serologischen Analyse verwandter Gruppen ebenso wie bei den Proteusbakterien auch in der Typhusgruppe von größtem Werte ist. Sie haben gezeigt, daß die spezifischen Agglutinine Typhus und Gärtner grob ausflocken, während die für beide Bakterienarten gemeinsamen feinflockend wirken, und haben weiter festgestellt, daß die Rezeptoren, welche die feinflockenden Agglutinine binden, ebenso wie es Sachs bei den Proteusbakterien gefunden hat, thermostabil sind, also bei Siedehitze die antigenen Eigenschaften nicht verlieren (O-Rezeptoren der Proteusgruppe). Die spezifischen Rezeptoren erzeugen die grobflockenden Agglutinine, sie sind wie die H-Rezeptoren der Proteusgruppe thermolabil: 1—2 Std. auf 100° erhitzte Typhus- oder Gärtnerbakterien erzeugen nur mehr feinflockend agglutinierende Sera und werden von Typhus- oder Gärtnerseris, die mit unerhitzten Kulturen erzeugt worden waren, nur in feinen Flocken ausgefällt — sie sind serologisch voneinander nicht zu unterscheiden. Gegenüber der Proteusgruppe besteht nur der merkwürdige Gegensatz, daß bei dieser die feinflockenden Agglutinine die spezifischen, die grobflockenden die gemeinsamen sind, während das Verhältnis bei Gärtner-typhusagglutininen umgekehrt ist.

Diese neuen Kenntnisse von der Serologie des Gärtnerbakteriums machten es verlockend, nach Varianten in serologischer Hinsicht zu suchen und mit Hilfe einer eingehenden serologischen Rezeptorenanalyse Untersuchungen über die Variabilität dieses Bakteriums anzustellen.

Wir wollten wissen:

Können wir auch bei Gärtner Varianten finden, die wie die O-Form des X-Proteus die labilen Rezeptoren nicht besitzen?

1) Statt „grob“ könnte man auch sagen: locker, flaumig; statt „fein“: dicht, körnig.

Können wir Varianten beobachten, die mit oder ohne Aenderung des kulturellen Verhaltens andere als die typischen Rezeptoren erkennen lassen, Varianten also, die nach der landläufigen Ausdrucksweise einer serologisch verschiedenen Art angehören?

Welche Beobachtungen über Entstehen und Erbfestigkeit solcher Varianten können gemacht werden?

1. Serologisches Verhalten der Varianten.

Verwendet wurden Schrägagarkulturen, die am Vortag angelegt worden waren; zu den Serumverdünnungen in der Menge von 1 ccm wurden je ein Tropfen der Bakterienaufschwemmung (1,3 ccm auf einen vollbewachsenen Schrägagar) zugesetzt; nach 2 Stunden, während welcher die Röhrechen im Brutschranke gehalten worden waren, wurde abgelesen, wobei sich für die feinflockige Agglutination die Lupenbetrachtung als unentbehrlich erwies. Als Lupe wurde, wie es Weil und Felix empfehlen,

Tabelle

		Gärtner Serum 6, 9.					
		1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
Gärtner 1	Ausgang	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	++ gr	++ gr	+ gr
	Variante a	+++ "	+++ "	+++ "	++ "	++ "	+ "
	" d	+++ "	+++ "	+++ "	++ "	++ "	++ "
Gärtner 2	" g	+ kl	++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl
	Ausgang	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gr	++ gr
	Variante a	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	++ "
Gärtner 17	" e	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gr	++ gr
	Ausgang	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	++ gr
	Variante a	++ kl	++ kl	++ kl	+ kl	+ kl	∅
	" c	++ "	++ "	++ "	++ "	± "	± kl
	" e	++ "	++ "	++ "	++ "	∅	∅
Gärtner 19	" f	++ "	+++ "	+++ "	+++ "	+++ kl	+ kl
	" g	++ "	++ "	++ "	+ ;	+ "	∅
	Ausg. 19/1	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	++ gr
	" 19/2	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	++ "
	Variante a)	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	++ kl
" c)	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gru.kl	++ gr	
" b	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	++ "	
" d	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	++ "	

Wir sehen Uebereinstimmung in der Agglutination der Ausgangsstämme. Von unbedeutenden quantitativen Unterschieden abgesehen, werden sie alle vom Gärtner Serum grob- und feinflockig, vom Typhusserum feinflockig agglutiniert. Von den Varianten aber zeigen einige ein auffallend verschiedenes Verhalten.

ein 4 Okular (Reichert) verwendet, indem man es verkehrt direkt an die Wand des Röhrchens anlegte. Am nächsten Morgen wurden die Resultate zum zweitenmal abgelesen. Die in den Tabellen angegebenen Werte entsprechen der zweiten Ablesung. Die erste Ablesung war nicht überflüssig, weil die Unterschiede zwischen grob und fein 2 Stunden nach Anstellen der Probe sehr deutlich waren. Verwendet wurde ein Gärtner Serum, welches durch Behandlung eines Kaninchens mit bei 56° abgetötetem Gärtner 2 erzeugt worden war und daneben ein Typhusserum, erzeugt im Kaninchen mit dem Typhusstamm 901, der die feinflockige Reaktion besonders schön zeigt.

Die Agglutination der 1. Passagen der abgeimpften Varianten und der Ausgangsstämme (welche die viermonatliche Aufbewahrung in Bouillon nicht durchgemacht hatten, sondern in Zwischenräumen von je einigen Wochen von Schrägagar auf Schrägagar weitergezüchtet worden waren), zeigt Tabelle I.

I.

			Typhusserum 1.						NaCl
1/10000	1/20000	1/50000	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	
+ gr	+ gr	θ	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	++ kl	—	θ
+ „	+ „	θ	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+ „	—	θ
+ „	+ „	θ	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+ „	+ kl	θ
+++ kl	+++ kl	+++ kl	+ „	+ „	+ „	+++ „	+++ „	—	++
++ gr	+ gr	θ	+++ kl	+++ kl	+++ kl	++ kl	++ kl	+ kl	θ
++	+	θ	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	θ
+ gr	θ	θ	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+ „	+ „	θ
+ gr	+ gr	+ gr	++ kl	++ kl	++ kl	++ kl	+ kl	+ kl	+
θ	θ		+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+ „	+ „	θ
θ	θ		+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+ „	θ
± kl	θ	θ	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+ „	+ kl	θ
θ			+++ „	+++ „	+++ „	+ „	+ „	± „	θ
+ gr			+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+ kl	θ	θ
+ „			θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
+ kl			+ kl	+ kl	+ kl	θ	θ		θ
+ gr			+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	++ kl	θ	θ
+ „			θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Die Variante g des Gärtner 1 ist spontanagglutinabel,
a bis g des Gärtner 17
werden nicht mehr grobflockig agglutiniert,
19/2 und
Variante d des Gärtner 19
nur grobflockig in Gärtner Serum, überhaupt nicht in Typhus-

serum. (Die nur grobflockige Agglutination ist leicht daran zu erkennen, daß in der dauernd trüb bleibenden Flüssigkeit grobe Flocken auftreten.)

Die Varianten des Gärtner 17 sind also wegen des Fehlens der für Gärtner charakteristischen groben Ausflockung im Gärtner serum nicht mehr als Gärtner erkennbar — sie werden von Gärtner serum nicht anders agglutiniert, als Typhus stämme (Tabelle II).

Tabelle II.

		Agglutination in Gärtner serum 4.					
		$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	NaCl
Gärtner 17	Variante a	+++ kl	+++ kl	++ kl	+ kl		θ
	„ c	+++ „	+++ „	++ „	+ „		θ
	„ e	+++ „	+++ „	++ „	+ „		θ
	„ f	+++ „	+++ „	++ „	+ „		θ
	„ g	+++ „	+++ „	+ „	+ „		θ
	Ausgang	+++ gru.kl	+++ gru.kl	++ gru.kl	+ gr		θ
	Typhus 901	+++ kl	+++ kl	+++ kl	++ kl	+ kl	θ

Es muß nun entschieden werden, ob diese Varianten etwa die Rezeptoren der groben Flockung nur verdeckt haben, ob sie ganz fehlen oder ob andere labile Rezeptoren (grober Flockung) aufgetreten sind, die auch für Gärtner charakteristisch sein könnten, aber dem unser Serum erzeugenden Stamm Gärtner 2 gefehlt haben, mit diesem Serum also nicht nachweisbar sein können. Wir verstehen unter „Verdecktsein“ der Rezeptoren das Phänomen, daß manche Bakterien gewisse Rezeptoren im Erschöpfungsversuch und an der antigenen Wirkung erkennen lassen, aber nicht an der Agglutinabilität. So haben Weil und Felix Typhus stämme gefunden, welche den stabilen Rezeptor im Agglutinationsversuch vermissen lassen, aber durch Castellani, Immunisierung oder Agglutinationsversuch der erhitzten Aufschwemmung verraten (Beispiel: Typhus 2). Die Entscheidung, welche der oben aufgezählten Eventualitäten vorliegt, versuchten wir vorerst durch Erschöpfungsversuche zu erlangen. Die Versuche werden weiter unten wiedergegeben; hier sei nur das Resultat vorweggenommen, daß labile Rezeptoren (grober Flockung) nicht nachgewiesen wurden.

Aber auch in der feinen Ausflockung zeigten unsere Varianten Ungleichheiten. Variante g des Gärtner 1 fällt spontan aus; die kleinflockenden Typhusagglutinine zeigen ihm gegenüber nur geringe Wirkung; er steht dadurch wieder der Variante 19 d und 19/2 nahe. Bei diesen konnte man auch annehmen, daß entweder die typischen fein ausflockbaren Rezeptoren vorhanden, aber im Agglutinationsversuch nicht nachweisbar wären, oder daß sie fehlten, oder schließlich, daß andere kleinflockiger Agglutination entsprechende Rezeptoren aufgetreten seien. Auch hierüber brachten weiter unten wiedergegebene Bindungsversuche Klarheit: Die „stabilen“ Rezeptoren — die mit Typhus gemeinsam sind — sind hier nur als Nebenrezeptoren nachweisbar, quantitativ ganz zurücktretend neben neuen stabilen, dem typischen Ausgangsstamm fehlenden Hauptrezeptoren. (Stabil ist hier immer im Sinne von thermostabil verwendet, O-Rezeptor nach Weil und Felix; der labile Rezeptor entspricht dem H-Rezeptor von Weil und Felix.)

Die serologische Untersuchung ergab aber weitgehende Differenzen bei gefundenen Varianten, ja so weit gehende, daß bei der Variante g des Gärtner 1 auf Grund der serologischen Untersuchung allein die Diagnose Gärtner nicht gestellt werden könnte. Das gibt Anlaß zu wichtigen Bedenken: Sind die atypischen Varianten etwa Verunreinigungen, sind sie in der Bouillon entstanden oder waren sie in der Ausgangskultur unbemerkt beigemischt gewesen? Sind die beobachteten Abweichungen nur zufällige Verschiedenheiten dieser einen Röhrenkultur oder bleiben sie nach Ueberimpfungen bestehen? Die erste Frage ist die wichtigste und für unsere Untersuchungen prinzipiell. Wir haben es ja versäumt, von der von strengen Beurteilern als einzig anwendbar geforderten Einzellkultur auszugehen und sind nur von der Einzelkolonie ausgegangen. Ohne Nachteil für die Richtigkeit unserer Untersuchung, denn die Befürchtung, daß wir es mit „Verunreinigungen“, also mit dazugekommenen mit dem Ausgangsstamm nicht in genetischer Beziehung stehenden Mikroorganismen zu tun haben, konnte abgelehnt werden. Die Varianten verhielten sich sonst wie Gärtnerbakterien, ja sie zeigten auch

serologische Zusammenhänge, die noch ausführlich erörtert werden sollen; es müßte als ein Wunder ganz besonderer Art angesehen werden, wenn sich einzelnen Gärtnerstämmen „verwandte“, und zwar verschiedene verwandte Keime als Verunreinigungen beigegeben hätten. Ueberdies hatten wir auf den Plattenkulturen des Ausgangsmaterials nichts von abweichenden Kolonien bemerkt, nur 19/2 war vom normalen Typus 19/1 verschieden gefunden worden. Aber auch bei diesem zeigte sich (durch grobe Agglutination) Zugehörigkeit zum Gärtner, so daß eine Verunreinigung nicht angenommen werden kann. Um aber auch diesen Bedenken Rechnung zu tragen, wurden später Bedingungen der „reinen Klone“ strenger eingehalten, und doch sahen wir Aenderungen der genannten Art. Sehr wichtig war uns aber die Frage nach der erblichen Konstanz der beobachteten Veränderungen. Denn ephemere serologische Reaktionsdifferenzen konnten wohl nur praktisches Interesse beanspruchen, wir wollten aber wissen, ob wir Stämme mit dauernd abgeänderter serologischer Reaktion züchten können, also Stämme, die in einem sehr wichtigen Artmerkmal dauernd verschieden sind.

Wir legten also jetzt von den Varianten und den Ausgangsstämmen Einzelkulturen an, nicht nach dem Burri-Verfahren, sondern durch zehn aufeinanderfolgende Plattenpassagen, wobei immer streng nur eine Kolonie zur Aussaat gelangte. Von der ersten Schrägagarkultur, die von einer Kolonie der 10. Platte angelegt wurde, wurden zwei Reihen fortgeführt: die eine durch in eintägigen Intervallen durchgeführtes Ueberimpfen auf Schrägagaren, die zweite in eintägigen Bouillonpassagen. Neben diesen von Einzelkulturen stammenden Passagen wurden die vier Ausgangsstämme, so wie sie aus der Sammlung stammten, auf Schrägagaren weitergezüchtet.

Wir bezeichnen

G 1 Ausg., G 2 Ausg. usw. — die Ausgangsstämme
Gärtner 1 usw.,

G 1 Var. a, G 17 Var. f — die Variante a des Gärtner 1 usw.,

wobei wir noch während der Versuche die Zahl der passierten Schrägagar- oder Bouillonkulturen evident hielten; mit „orig.“ bezeichneten wir die Ausgangsstämme, die nicht die vier-

monatliche Ruhe in Bouillon durchgemacht hatten, aber zum Unterschied von den mit „Ausg.“ bezeichneten, auch 10mal hintereinander auf der Agarplatte gesiebt worden waren.

Die Agglutination der auf die 10. Plattenpassage folgenden Schrägagarkulturen des Gärtner 1 ergab

Tabelle III.

	Gärtnerserum vom 6. IX.							NaCl
	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	
Gärtner 1 Ausg.	+++	+++	+++	++	++	+	θ	
	gr. u. kl.			gr.				
„ 1 orig.	+++	+++	θ	θ	—	—	—	
	kl.							
„ Var. a	+++	+++	+++	++	++	+	θ	
	gr. u. kl.			gr.				
„ „ d	+++	+++	+++	+++	++	+	+	
	gr. u. kl.			gr.				
„ „ g	++	++	++	++	++	++	++	
	kl.							
Typhus 901	+++	+++	+++	++	+	—	—	
	kl.							
	Typhusserum 1							
	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	
Gärtner 1 Ausg.	+++	+++	+++	+++	++	±	—	θ
	kl.							
„ 1 orig.	+++	+++	+++	++	+	±	—	θ
	kl.							
„ Var. a	+++	+++	+++	+++	++	±	—	θ
	kl.							
„ „ d	++	+++	+++	+++	++	+	—	±
	kl.							
„ „ g	++	++	++	++	++	++	—	++
	kl.							
Typhus 901	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	θ
	gr. u. kl.							

Der Ausgangsstamm, Variante a und Variante d zeigen auch jetzt das typische Verhalten: grobe Ausflockung bis zum Titer im Gärtnerserum und feine in den niedrigen Verdünnungen, rein feine im Typhusserum; Variante g zeigt das schon beobachtete Verhalten: Spontanausflockung, die durch

Gärtner- oder Typhusserum nicht gesteigert wird. Sehr auffällig verhält sich aber G 1 orig. (also eine Einzellkultur des Ausgangsstammes, der nicht 4 Monate in Bouillon zugebracht hatte). Er wird nur fein ausgeflockt und das wichtige Unterscheidungsmerkmal gegenüber Typhus — die grobe Ausflockung im Gärtner Serum — fehlt. Der bisher als für die Spezifität ausschlaggebende Vergleich der Titer muß bei der Bestimmung auch versagen, da der nur fein ausflockende Keim G 1 orig. in dem Gärtner Serum, in welchem, wie wir an G 1 Ausg. sehen, der Titer der grobflockenden Agglutinine den der feinflockenden übersteigt, schwächer agglutinabel erscheint, ja auch schwächer als unser Typhus 901, bei dem wir besondere Reagierbarkeit gegenüber dem gemeinsamen Typhus-Gärtner konstatieren können. Diesen letzteren können wir aber an der groben Klumpung in Typhusseren erkennen — bei der Variante G 1 orig. könnten wir, auf die serologische Untersuchung allein beschränkt, die Diagnose „Gärtner“ nicht stellen: er wird im Gärtner Serum nicht (wie andere Gärtnerstämme) grob gefällt, er ist auch schwächer agglutinabel, ja auch schwächer als ein Typhus und wie dieser nur in feinen Flocken. Kulturell zeigt er die gleichen Eigenschaften, wie der Keim, von dem er stammt, nur daß ihm Geißeln und Beweglichkeit fehlen.

Wir erinnern daran, daß wir rein kleinflockende Varianten des Stammes Gärtner 17 bereits kennen gelernt haben (siehe Tabelle I); diese stammen aus lang aufbewahrten Bouillonkulturen; der Gärtner 1 orig. war nicht durch Bouillon gegangen, sondern stammt aus den Plattenpassagen des vorher über Schrägagaren gezüchteten Ausgangsstammes. Wir hatten also beim Abimpfen einer Kolonie von der Platte gerade eine Variante ohne labilen (H-)Rezeptor genommen. Und zwar müssen wir diese Variante schon von der ersten Plattenpassage abgeimpft haben (auf der uns allerdings Differenzen im Aussehen nicht aufgefallen waren); als wir nämlich auf die von der benutzten Kolonie der ersten Platte stammende Kolonie zurückgriffen und auch diese agglutinierten, sahen wir das gleiche Verhalten: rein kleinflockige Agglutination. Wir hatten also in G 1 orig. eine Variante, die auf dem Agar, nicht in Bouillon entstanden war.

Nähere Einblicke in die serologischen Beziehungen der Varianten und des Ausgangsstammes mußten Bindungsversuche geben (Tabelle IV).

Wir beobachteten zwischen Ausgangsstamm Gärtner 1 und Typhus die von Weil und Felix für diese Arten gefundenen typischen serologischen Bezeichnungen: Gärtner 1 nimmt aus dem Gärtnerserum die gemeinsamen kleinflockenden und spezifischen grobflockenden Agglutinine heraus, Typhus aus Gärtnerserum nur die kleinflockenden, läßt die grobe Ausflockung des Gärtner unverändert. Bei Typhusserum besteht das umgekehrte Verhalten: Typhusbakterien entfernen beide Agglutinine, Gärtner nur die feinflockenden, ohne dem Serum die Wirksamkeit der grobflockenden für Typhus zu nehmen. Anders verhält sich die Variante G 1 orig. Sie, die nur feinflockend ausgeflockt wird, nimmt aus dem Gärtnerserum nur die gemeinsamen kleinflockenden Agglutinine heraus, macht dadurch beide Sera gegen sich unwirksam, nicht aber gegen homologe Keime überhaupt: das mit G 1 erschöpfte Gärtner-serum agglutiniert Gärtner gleich hoch wie das unbehandelte, aber zum Unterschied nur grobflockend — das behandelte Typhusserum wirkt gegen Typhus gleich hoch wie unbehandeltes, aber auch nur grobflockend. Auch durch den Bindungsversuch gelingt nicht die Bestimmung dieser Variante: serologisch hat sie genau dieselben Beziehungen zu Gärtner wie zu Typhus, sie besitzt nur einen beiden gemeinsamen Rezeptor, nicht aber den für die Art spezifischen, sie ist serologisch von typischem Gärtner und Typhus gleichweit entfernt.

Noch weniger kann uns der Bindungsversuch zur Erkennung des Gärtner 1 Variante g nützen; dieser Keim läßt Gärtner- sowie Typhusserum überhaupt unverändert, ist also schon von beiden Arten „außer Sichtweite“ entfernt. Nur der Immunisierungsversuch könnte etwa noch bestehende verwandtschaftliche Beziehungen aufdecken. Wir stellten uns also Immunsera mit den Varianten G 1 orig., G 1 Var. g und mit dem G 1 Ausg. her, indem wir Kaninchen dreimal Aufschwemmungen von je $\frac{1}{2}$ Oese, die $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erhitzt waren, intravenös einspritzten. Jedesmal wurden 1 Tag alte Schrägagarkulturen verwendet und die Kultur vor dem Einspritzen auf serologisches Ver-

Tabelle IV.

Erschöpfungsversuch mit Varianten des Gärtner 1.
 Zur Erschöpfung wird je ein Rasen einer eintägigen Kolleschalen-
 kultur verwendet: Der Rasen der Kolleschale wird mit 10 ccm NaCl ab-
 geschwemmt, die Aufschwemmung 1/2 Stunde auf 60° erhitzt, dann auf zwei

Serum ist		Gärtner Serum 69					
		1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
unbehandelt	Gärtner 1 Ausg.	+++	+++	++	++	++	+
		gr. u. kl.		gr.			
	„ Var. orig.	++	++	0	—	—	—
		kl.					
	„ „ g	++	++	++	—	—	—
	kl.						
	Typhus 901	+++	+++	+++	++	±	—
	kl.						
erschöpft durch Gärtner 1 Ausg.	Gärtner 1 Ausg.	++	++	—	—	—	—
		gr.					
	„ Var. orig.	0	0	—	—	—	—
	„ „ g	++	++	—	—	—	—
		kl.					
	Typhus 901	0	0	—	—	—	—
erschöpft durch Gärtner 1 Var. orig.	Gärtner 1 Ausg.	++	++	++	++	++	+
		gr.					
	„ Var. orig.	0	0	0	—	—	—
	„ „ g	++	++	++	—	—	—
		kl.					
	Typhus 901	—	0	0	—	—	—
erschöpft durch Gärtner 1 Var. g	Gärtner 1 Ausg.	+++	+++	++	++	++	+
		gr. u. kl.		gr.			
	„ Var. orig.	++	++	0	—	—	—
		kl.					
	„ „ g	++	++	++	—	—	—
	kl.						
	Typhus 901	+++	+++	+++	+	0	—
	kl.						
erschöpft durch Typhus 901	Gärtner 1 Ausg.	++	++	++	++	++	+
		gr.					
	„ Var. orig.	0	0	0	—	—	—
	„ „ g	++	++	++	—	—	—
		kl.					
	Typhus 901	0	0	0	—	—	—

Zentrifugierröhrchen verteilt und klar zentrifugiert; die überstehende Flüssigkeit (Bakt.-Extrakt) wird abgossen, der Bodensatz in je 3 ccm Verdünnung 1:50 eines Gärtner- (bzw. Typhus-) Serums verteilt; die Röhrchen kommen für 1 Stunde in den Brutschrank und werden dann nochmals zentrifugiert; die klaren Serumverdünnungen werden nun von 1:100 an verwendet.

Typhusserum										NaCl	Serum ist
1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000	1/50000			
+++	+++	+++	+++	++	±	θ	—	—	—	θ	unbe- handelt
kl.						θ	—	—	—	θ	
+	++	++	—	—	—	—	—	—	—	++	
kl.						θ	—	—	—	θ	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	—	—	erschöpft durch Gärtner 1 Ausg.
gr. u. kl.							kl.			—	
0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	
0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	
+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	erschöpft durch Gärtner 1 Var. orig.
kl.			gr.							—	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	
gr. u. kl.			gr.							—	
θ	θ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	erschöpft durch Gärtner 1 Var. g
θ	θ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	
kl.			gr.							—	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	erschöpft durch Typhus 901
gr. u. kl.			gr.							—	
+++	+++	+++	+++	++	+	θ	—	—	—	—	
kl.			kl.			θ	—	—	—	—	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	θ	—	erschöpft durch Typhus 901
gr. u. kl.			gr.							—	
+	+	θ	—	—	—	—	—	—	—	—	
kl.		0	—	—	—	—	—	—	—	—	
+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	erschöpft durch Typhus 901
kl.			gr.							—	
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	erschöpft durch Typhus 901
gr. u. kl.			gr.							—	

halten geprüft, eine Aenderung war nicht beobachtet worden.
Wir erhielten so die Sera:

Serum 4, erzeugt mit Gärtner 1 Ausg.
" 5, " " " 1 orig.
" 6, " " " 1 Var. g.

Tabelle V.

Gärtner 1	1/100	1/500	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	NaCl
Serum 4 (G 1 Ausg.)	Ausgang	+++ gru.kl	+++ gru.kl	+++ gr	+ gr	—	—	θ
	Var. orig.	+++ kl	+++ kl	++ kl	θ	—	—	θ
	" a	+++ gru.kl	+++ gru.kl	++ gru.kl	+ gr	—	—	θ
	" d	+++ dgl.	+++ dgl.	++ dgl.	++ kl	++ kl	++ kl	—
" g	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ "	—	—	—	+++ "
Serum 5 (G 1 orig.)	Ausgang	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	θ	—
	Var. orig.	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	++ "	± kl	—
	" a	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	++ "	θ	—
	" d	+++ "	+++ "	+++ "	++ "	++ "	—	—
" g	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	+++ kl	—	—
Serum 6 (G 1 Var. g)	Ausgang	+++ kl	+++ kl	++ kl	+ kl	—	—	—
	Var. orig.	+++ "	++ "	+	θ	—	—	—
	" a	+++ "	+++ "	+	θ	—	—	—
	" d	+++ "	++ "	++ "	++ kl	—	—	—
" g	+++ "	+++ "	+++ "	+++ "	—	—	—	—
Typhus- serum 2	Ausgang	+++ kl	+++ kl	++ kl	++ kl	+ kl	θ	—
	Var. orig.	++ "	++ "	++ "	+	θ	θ	—
	" a	+++ "	++ "	++ "	+	+ kl	θ	—
	" d	+++ "	++ "	++ "	++ "	—	—	—
" g	+++ "	++ "	+++ "	+++ "	—	—	—	—

Der Ausgangsstamm hat ein grob- und kleinflockendes, die Variante 1 orig. ein auch für den Ausgangsstamm rein kleinflockendes Serum erzeugt, Variante g ein Serum, das auch den Gärtnerausgangsstamm feinflockig agglutiniert. Dieser Versuch läßt also erkennen, daß Variante g doch nicht außer Sichtweite entfernt ist und daß ein Gärtnerrezeptor, der durch Agglutination und Erschöpfung nicht nachweisbar war, sich durch antigene Wirkung verrät. Doch ist dieser Rezeptor nur ein Nebenrezeptor neben einem neuen Hauptrezeptor. Das soll später noch deutlicher werden.

Wir sehen keine Spur einer antigenen Wirkung von Rezeptoren, welche grobflockende Agglutinine erzeugen, bei der Variante orig. und Variante g. Denn wenn auch diese

Agglutinine von den typischen verschieden und am Ausgangsstamm nicht nachweisbar sein könnten, so müßten sie doch in der Agglutination der erzeugenden Stämme erkannt werden. Diese werden aber auch von den eigenen Seren nicht grob ausgeflockt. Betrachten wir jetzt Variante orig. noch einmal: Sie wird vom fremden Gärtner Serum und vom eigenen nicht anders als ein Typhus ausgeflockt; weder Titerhöhe noch Art der Agglutination lassen sie als Gärtner erkennen. Ebenso mußte sich serologisch eine Typhusvariante verhalten, die die spezifischen Typhusrezeptoren grober Flockung nicht besitzt. Solche ganz analoge im Experiment entstandene Typhusvarianten zu finden ist Fürth und mir nicht gelungen, doch hat uns der Zufall einen den Bakteriologen bereits bekannten Keim zugespielt, der sich serologisch ganz wie die Gärtnervariante 1 orig. verhält, aber kulturell wieder Beziehungen zum Typhus aufweist, ohne daß wir aber einen genetischen Zusammenhang behaupten könnten, wie er für unsere Gärtnervariante sicher feststeht. Es ist das das Bact. typhi gallinarum; es wird vom Typhusserum nur kleinflockig agglutiniert, vom Gärtner Serum nicht anders und erzeugt ein rein kleinflockendes Serum, das sich gar nicht vom Serum des Gärtner 1 orig. unterscheidet. Auch der Bindungsversuch beweist die Identität der Agglutinine in beiden Seris (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Vergleich der Variante „Gärtner 1 orig.“ mit Hühnertyphus.

Die Technik des Erschöpfungsversuches s. Tabelle IV.

Serum- verdün- nung	Serum 7 (Hühnertyphus)		Serum 12 (Gärtnervariante G 1 orig.)			
	unbehandelt		unbehandelt		erschöpft durch Hühnertyphus „Hahn“	
	B. Ay. gallin „Hahn“	Gärtner 1 Var. orig.	B. Ay. gallin. „Hahn“	Gärtner 1 orig.	B. Ay. gallin. „Hahn“	Gärtner 1 orig.
1:100	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	θ	+ kl
1:200	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	θ	θ
1:500	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	θ	θ
1:1000	++ „	++ „	++ „	+++ „	—	—
1:2000	+ „	+ „	+ „	++ „	—	—
1:5000	+ „	θ	+ „	+ „	—	—
1:10000	θ	θ	θ	θ	—	—
NaCl	θ	θ	—	—	—	—

Die kulturelle Prüfung aber deckt Unterschiede auf: Gärtner 1 orig. bildet Gas aus Traubenzucker, während das Hühnertyphusbakterium es nicht kann. (Ueber die eingehendere Untersuchung über die Serologie des Hühnertyphus wurde in dieser Zeitschrift berichtet.)

Prüften wir nun mit den neu gewonnenen Seris die Varianten des Gärtner 2, so fanden wir auch unter diesen Keimen solche, welche jetzt andere Eigenschaften aufwiesen als bei der ersten Prüfung. Variante 2 Var. a wird jetzt nur kleinflockig agglutiniert (Tabelle VII).

Für ihn gilt das von 1 orig. Gesagte. Wir haben für Gärtner 2 Variante a nicht ein eigenes agglutinierendes Serum erzeugt, da der Bindungsversuch (Tabelle VIIa) überzeugend ist.

Tabelle VII.
Varianten des Gärtner 2.

Serum- verdünnung	Serum 4, erzeugt mit Gärtner 2 Ausgang				Serum 5, erzeugt mit Gärtner 1 orig.			
	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Typhus 901	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Typhus 901
1 : 100	+++ gr u. kl	+++ kl	+++ gr u. kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl
1 : 200	+++ gr	+++ „	+++ dgl.	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „
1 : 500	++ „	++ „	++ gr	++ „	++ „	++ „	++ „	++ „
1 : 1000	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „
1 : 2000	—	—	—	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „
1 : 5000	—	—	—	—	+ „	+ „	+ „	+ „
NaCl	⊖	⊖	⊖	⊖	—	—	—	—

	Serum 6, erzeugt mit Gärtner 1 Variante g				Typhusserum, erzeugt mit Typhus 901			
	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Typhus 901	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Typhus 901
1 : 100	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+ kl	+++ gr u. kl
1 : 200	++ „	++ „	++ „	++ „	++ „	++ „	+ „	+++ „
1 : 500	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+ „	+++ „
1 : 1000	⊖ „	—	⊖ „	—	⊖ „	⊖ „	⊖ „	+++ „
1 : 2000	—	—	—	—	⊖ „	—	—	+++ „
1 : 5000	—	—	—	—	—	—	—	+++ „
NaCl	—	—	—	—	—	—	—	+++ gr

Tabelle VII a.

Vergleich der nur kleinflockig agglutinablen Variante Gärtner 2 Variante a mit Gärtner 1 orig. im Erschöpfungsversuch. (Technik wie in den schon beschriebenen Versuchen.)

Serum- verdün- nung	Serum 4							
	unbehandelt				erschöpft durch Gärtner 1 orig.			
	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Gärtner 1 orig.	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Gärtner 1 orig.
1:100	+++ gru.kl	+++ kl	+++ gru.kl	+++ gr	+++ gr	⊖	+++ gr	⊖
1:200	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	⊖	+++ „	⊖
1:500	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	+++ „	⊖	+++ „	⊖
1:1000	+ gr	+	+ gr	+ „	+ „	⊖	+ „	⊖
1:2000	—	—	—	—	—	—	—	—
NaCl	⊖	⊖	⊖	⊖	—	—	—	—

Serum- verdün- nung	Serum 6							
	unbehandelt				erschöpft durch Gärtner 1 orig.			
	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 2 Variante e	Gärtner 1 orig.	Gärtner 2 Ausgang	Gärtner 2 Variante a	Gärtner 1 Variante e	Gärtner 1 orig.
1:100	+ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	⊖	⊖	⊖	⊖
1:200	++ „	+++ „	+++ „	+++ „	⊖	⊖	⊖	⊖
1:500	⊖ „	++ „	+++ „	+++ „	⊖	⊖	⊖	⊖
1:1000	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
1:2000	—	—	—	—	—	—	—	—
NaCl	—	—	—	—	—	—	—	—

Prüfung der Gärtner 17-Varianten gab gegen die erste Untersuchung keine Änderung: Die Varianten a bis g werden nur kleinflockig agglutiniert — wie G 1 orig. und G 2 Variante a. (Die Wiedergabe des Versuchsprotokolls wolle uns erlassen werden.)

Auch eine vom Gärtner 19 stammende Variante hat die Ausfüllbarkeit in groben Flocken verloren: die Variante b des Gärtner 19 (Tabelle VIII).

Gärtner 19/2 und G 19 Variante d haben sich gegenüber der ersten Untersuchung nicht geändert — auch damals zeigte die Agglutination nur grobe Flocken. Heute (Tabelle VIII) ist der Versuch deshalb instruktiver, weil neben dem „vollen“ Gärtner serum auch das rein kleinflockende Serum 5 (Gärtner 1

Tabelle
Die Varianten

Serum- ver- dünnung	Serum 4					Se	
	Gärtner Ausgang 19/1	Gärtner Ausgang 19/2	Gärtner 19 Variante a	Gärtner 19 Variante c	Gärtner 19 Variante d	Gärtner Ausgang 19/1	Gärtner Ausgang 19/2
1:100	+++ } gr u. kl	+++ gr	+++ } gr u. kl	+++ gr	+++ gr	+++ kl	+
1:200	+++ } gr u. kl	+++ „	+++ } gr u. kl	+++ „	+++ „	+++ „	+
1:500	+++ } gr u. kl	+++ „	+++ } gr u. kl	+++ „	+++ „	+++ „	+
1:1000	+	++ „	++ „	+	+	+++ „	+
1:2000	—	—	—	—	—	++ „	+
1:5000	—	—	—	—	—	+	+
1:10 000	—	—	—	—	—	—	+
NaCl	+	+	+	—	—	—	+

orig.) und ein Typhusserum deutlich das Fehlen des typischen stabilen Hauptrezeptors erkennen lassen. Wir wissen aus den Untersuchungen von Weil und Felix, daß manchmal die stabilen Hauptrezeptoren im einfachen mit lebenden Bakterien angestellten Agglutinationsversuch nicht nachgewiesen werden, aber sich doch manifestieren, wenn man die Aufschwemmung auf 100° erhitzt oder wenn man auf ihr Vorhandensein durch Bindung prüft. So konnten Weil und Felix bei ihrem Typhus 2, der von Typhusserum auch nur grobflockig agglutiniert wurde, doch noch stabile Rezeptoren nachweisen.

Tabelle VIIIa.

Prüfung der auf 100° erhitzten Varianten des Gärtner 19.

	Serum 4					Serum 5				
	Gärtner 19/1 Ausgang	Gärtner 19/2 Ausgang	Gärtner 19 Variante d	Gärtner 19/2 Ausgang	Gärtner 19 Variante d	Gärtner 19/1 Ausgang	Gärtner 19/2 Ausgang	Gärtner 19 Variante d	Gärtner 19/2 Ausgang	Gärtner 19 Variante d
	nativ			auf 100° erhitzt		nativ			auf 100° erhitzt	
1:100	+++ } gr u.	+++ gr	+++ gr	+	+	+++ kl	+	+	+	+
1:200	+++ } kl	+++ „	+++ „	+	+	+++ „	+	+	+	+
1:500	+++ } gr	+++ „	+++ „	+	+	+++ „	+	+	+	+
1:1000	+	++ „	++ „	—	—	+++ „	+	+	+	+
1:2000	—	—	—	—	—	+++ „	+	+	+	+
NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

VIII.
des Gärtner 19.

rum 5			Typhus-Serum				
Gärtner 19 Variante a	Gärtner 19 Variante b	Gärtner 19 Variante d	Gärtner Ausgang 19/1	Gärtner Ausgang 19/2	Gärtner 19 Variante a	Gärtner 19 Variante b	Gärtner 19 Variante d
+++ kl	+++ kl	+ kl	+++ kl	+	++ kl	+++ kl	⊖
++++ „	++++ „	⊖	+++ „	+	++ „	+++ „	⊖
++++ „	++++ „	⊖	++ „	+	++ „	+++ „	—
++++ „	++++ „	—	+ „	+	+	⊖	—
++ „	+++ „	—	⊖	+	—	—	—
⊖	+ „	—	—	—	—	—	—
—	⊖	—	—	—	—	—	—

Erhitzen blieb bei 19/2 und 19 Variante d wirkungslos: es schwand nur der labile Rezeptor, ein stabiler offenbarte sich nicht (Tabelle VIII a).

Es war wahrscheinlich, daß die Varianten einen neuen, vom typischen abweichenden Rezeptor erlangt haben. Eine Variante, bei der wir den Besitz eines atypischen stabilen Rezeptors angenommen haben, ist Gärtner 1 Variante g. Wir prüften mit dem gegen diesen Stamm erzeugten Serum (Serum 6) unsere Varianten des Gärtner 19 (Tabelle VIII b).

Tabelle VIII b.

(Sowohl 19/2 als auch G 19 Variante d zeigten leichte Spontanausflockung.)

	Serum 4			Serum 6		
	Gärtner 19/1 Ausgang	Gärtner 19/2 Ausgang	Gärtner 19 Variante d	Gärtner 19/1 Ausgang	Gärtner 19/2 Ausgang	Gärtner 19 Variante d
1:100	+++ } grn.	+++ gr	+++ gr	+++ kl	+++ kl	++ kl
1:200	+++ } kl	+++ „	+++ „	++ „	+++ „	+
1:500	++ } gr	++ „	++ „	⊖	+++ „	+
1:1000	+	+	+	—	+++ „	+
1:2000	—	+	+	—	+++ „	+
1:5000	—	++	++	⊖	++ „	++
NaCl	⊖	+	+	⊖	+	+

8*

Wir sehen, daß G 19/2, der von dem gewöhnlichen Gärtner-serum (Serum 4) nur grob ausgefällt wird, vom Serum des G 1 Variante g deutlich fein ausgeflockt wird, nicht aber G 19 Variante d (von unbedeutender Verstärkung der Spontanflockung abgesehen); Gärtner 19/2 hat also als stabilen Rezeptor den atypischen, der auch der aus Gärtner I entstandenen Variante g eigen ist. Variante d besitzt diesen atypischen Rezeptor nicht, oder wie wir später sehen werden, in manchen Kulturen als Nebenrezeptor; Variante d entfernt nicht die für Gärtner 1 Variante g und G 19/2 in Serum 6 (G 1 Variante g) enthaltenen feinflockenden Agglutinine (Tabelle IX). Zum Vergleich sei ein

Tabelle IX.
Varianten des Gärtners 19.

	Serum 5						Serum 6					
	unbehandelt			erschöpft durch Gärtner 19 Variante d			unbehandelt			erschöpft durch Gärtner 19 Variante d		
	Gärtner Ausgang 19/1	Ausgang 19/2	Variante d	Ausgang 19/1	Ausgang 19/2	Variante d	Ausgang 19/1	Ausgang 19/2	Variante d	Ausgang 19/1	Ausgang 19/2	Variante d
1:100	+++	+	+	+++	+	+	++	++	+	++	++	+
1:200	+++	+	+	+++	+	+	++	++	+	++	++	+
1:500	+++	+	+	+++	+	+	⊕	+++	+	⊕	+++	+
1:1000	+++	+	+	+++	+	+	⊕	+++	—	⊕	+++	—
1:2000	++	+	+	++	+	+	—	+++	—	—	+++	—
1:5000	⊕	—	—	⊕	—	—	—	++	—	—	++	—
NaCl	⊕	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

In allen Proben nur kleinflockige Agglutination.

Versuch angeführt, in welchem die Sera 4 und 6 mit dem Gärtner 1 orig. behandelt wurden: dieser Keim, der im typischen Serum nur fein ausfällt, erschöpft auch nicht das Serum 6 für G 19/2 (Tabelle X). Gärtner 19 Variante d zeigt in diesem Versuch eine geringe Mitagglutination in Serum 6, die nicht viel höher ist als die des Ausgangsstammes G 19/1 in diesem Serum. Daß dieser Rezeptor nicht identisch ist mit dem Rezeptor der typischen O-Form (siehe Mitagglutination des G 1 orig.), für welchen das Serum 6 ein Agglutinin be-

Tabelle X.
Varianten des Gärtner 19.

	Gärtner 19/1 Ausgang	19/2 Ausgang	19 Variante a	19 Variante b	19 Variante d	1 orig.
Serum 4						
unbehandelt						
1:100	+++ } gr	+++ gr	+++ } gr	+++ kl	+++ gr	+++ kl
1:200	+++ } kl	+++ „	+++ } kl	++ „	++ „	+++ „
1:500	+ } gr	++ „	++ } gr	+ „	+ „	++ „
1:1000	+ „	+ „	+ „	∅	∅	∅
1:2000	∅	+ „	∅ „	—	—	—
1:5000	—	—	—	—	—	—
erschöpft durch Gärtner 1 orig.						
1:100	+++ gr	+++ gr	+++ gr	∅	+++ gr	∅
1:200	++ „	+++ „	++ „	∅	++ „	∅
1:500	+ „	++ „	+ „	∅	+ „	∅
1:1000	± „	+ „	± „	∅	—	∅
1:2000	∅	+ „	∅ „	—	—	—
1:5000	—	—	—	—	—	—
NaCl	∅	+	∅	∅	∅	∅
Serum 6						
unbehandelt						
1:100	+++ kl	++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl	+++ kl
1:200	+ „	++ „	+ „	+ „	++ „	+ „
1:500	∅	+++ „	∅ „	∅ „	+ „	∅ „
1:1000	—	+++ „	—	—	∅ „	—
1:2000	—	+++ „	—	—	—	—
1:5000	—	+	—	—	—	—
erschöpft durch Gärtner 1 orig.						
1:100	∅	++ kl	∅	∅	+++ kl	∅
1:200	∅	++ „	∅	∅	++ „	∅
1:500	—	+++ „	—	—	+ „	—
1:1000	—	+++ „	—	—	∅ „	—
1:2000	—	++ „	—	—	—	—
1:5000	—	+ „	—	—	—	—
NaCl	—	+	—	—	—	—

sitzt, wird dadurch bewiesen, daß das Serum 6 durch Bindung mit Gärtner 1 orig. nicht die Agglutinine für G 19 Variante d verliert. Ob hier in diesem Fall der stabile Hauptrezeptor

des Gärtner 19/2 bei G 19 Variante d als Nebenrezeptor erscheint, oder ob die schwache Ausflockbarkeit des Gärtner 19 Variante d in Serum 6 die Reaktion eines weiteren auch dem Gärtner 19/2 fremden Rezeptors ist, haben wir nicht näher ermittelt und uns mit der Feststellung begnügt, die aus den mitgeteilten Versuchen gefolgert werden kann: Gärtner 19/2 und Gärtner 1 Variante g besitzen den gleichen stabilen Hauptrezeptor; dieser fehlt der Variante d des G 19, an welchem keine Agglutination oder Mitagglutination als Reaktion eines Nebenrezeptors beobachtet wurde.

Ueberblicken wir nun die sich gegen die Ausgangsstämme different verhaltenden Varianten, so können wir folgende Gruppen aufstellen:

1) vom typischen Gärtnerserum nur fein ausflockbare Stämme (O-Formen des typischen Gärtner):

bei Gärtner 1: Variante orig.

bei Gärtner 2: Variante a

bei Gärtner 17: Variante a bis g

bei Gärtner 19: Variante b,

2) einen ebenfalls nur fein ausflockbaren Stamm, dessen Rezeptor aber mit dem typischen der eben aufgezählten nicht identisch ist (atypische O-Form):

bei Gärtner 1: Variante g,

3) einen vom typischen Gärtnerserum nur grob flockbaren, dagegen vom Serum Gärtner 1 Variante g auch fein agglutinablen (atypische H-Form):

bei Gärtner 19/2,

4) schließlich einen vom typischen Gärtnerserum auch nur grob flockbaren, für den wir aber den stabilen Hauptrezeptor nicht nachweisen konnten (zweite atypische H-Form):

bei Gärtner 10: Variante d.

Sehr wertvoll war uns aber, daß gleiche Varianten aus verschiedenen Ausgangsstämmen entstanden waren, oder daß doch zwischen Varianten verschiedener Abstammung die Beziehung der Gemeinschaft eines atypischen Rezeptors besteht. Die Beobachtungen sollten nun durch Versuche mit eigenen Immunseren geprüft werden.

Wir immunisierten Tiere gegen

Gärtner 1	Ausg.	— Serum 11
Gärtner 1	orig.	— Serum 12
Gärtner 1	Variante g	— Serum 13
Gärtner 19/2		Serum 14
Gärtner 19	Variante d	— Serum 16

Die dreimalige intravenöse Injektion wurde mit $\frac{1}{2}$ -stündig auf 60° erhitzten Aufschwemmungen vorgenommen. Verwendet wurden 1-tägige Schrägagarkulturen, welche vor jeder Injektion serologisch geprüft wurden; da die Eigenschaften unverändert gefunden wurden, konnte die Immunisierung zu Ende geführt werden.

Die Agglutination mit den neuen Seris ist auf Tabelle XI wiedergegeben.

Gärtner 1 Ausg. hat ein Serum erzeugt, wie wir es als das typische Gärtner Serum schon kennen; die geprüften Varianten verhalten sich also auch so, wie dem schon früher geprüften Gärtner Serum gegenüber.

Gärtner 1 orig. hat wieder nur ein rein kleinflockendes Serum erzeugt. Gärtner 1 Variante g, der nicht homogen bleibende Aufschwemmungen gibt und von den zwei oben genannten Seris schwach und nur fein mitagglutiniert wird, hat ein Serum erzeugt, welches die grobflockenden Gärtneragglutinine hat, während der erzeugende Stamm auch vom eigenen Serum nur fein ausgeflockt wird; daß die Agglutinine der feinen Flockung von den typischen verschieden sind, zeigt die fehlende Flockung des G. 1 orig. in diesem Serum. G. 19/2 wird grob und fein, 19 d nur grob ausgeflockt. Der Stamm hat also an der agglutinogenen Wirkung das Vorhandensein von labilen Rezeptoren verraten, die sich in der Agglutination des Stammes selbst nicht zeigen; in dem Serum 6, das wir schon früher einmal mit dieser Variante erzeugt hatten, fehlten auch die Agglutinine für den labilen Rezeptor. Wir werden auf diese Beobachtung bei der Besprechung der kulturellen Eigenschaften zurückkommen.

Durch Immunisierung mit G 19/2 erhielten wir ein Serum, welches gegenüber dem typischen Gärtner nur grobflockend wirkt, die O-Form aber (G 1 orig.) ganz unbeeinflusst läßt. Wir sehen also auch daran, daß die Variante 19/2 nicht den typischen stabilen Gärtnerrezeptor besitzt, wie wir das schon aus den früheren Beobachtungen schließen mußten. G 1

Tabelle XI.

	Serum 11 (erzeugt durch Gärtner 1 Ausgang)					Serum 12 (erzeugt durch Gärtner 1 org.)				
	Gärtner 1 Var. a	1 org.	1 Var. g	19/2 Ausg.	19 Var. d	1 Ausgang	1 orig.	1 Var. g	19/2 Ausg.	19 Var. d
1:100	++++	++++ kl	++++ kl	++++ gr	++++ gr	++++ kl	++++ kl	++++ kl	++++ kl	++++ kl
1:200	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:500	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:2000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:5000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:10000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1:20000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
NaCl	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Tabelle XI (Fortsetzung).

	Serum 13 (erzeugt durch Gärtner 1 Var. g)					Serum 14 (erzeugt durch Gärtner 19/2)				
	1 Ausgang	1 orig.	1 Var. g	19/2 Ausg.	19 Var. d	1 Ausgang	1 orig.	1 Var. g	19/2 Ausg.	19 Varr. g
1:100	++++	++++ kl	++++ kl	++++	++++	++++	⊕	++++ kl	++++	++++
1:200	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:500	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:1000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:2000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:5000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:10000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:20000	++++	++++	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
NaCl	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Tabelle XI (Fortsetzung).

	Serum 16 (erzeugt durch Gärtner 19 Var. d)					Serum 16 (erzeugt durch Gärtner 19 Var. d)				
	1 Ausgang	1 orig.	1 Var. g	19/2 Ausg.	19 Var. d	1 Ausgang	1 orig.	1 Var. g	19/2 Ausg.	19 Var. d
1:100	++++	⊕	++++ kl	++++ gr	++++	++++	⊕	++++ kl	++++	++++
1:200	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:500	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:1000	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:2000	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:5000	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:10000	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
1:20000	++++	⊕	++++	++++	++++	++++	⊕	++++	++++	++++
NaCl	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Variante g, die Variante mit dem atypischen stabilen Rezeptor, wird schwach agglutiniert; gegen den erzeugenden Stamm wurden fein- und grobflockende Agglutinine erzeugt, gegen 19 d nur grobflockende. Wir haben uns schon aus früheren Erschöpfungsversuchen überzeugt, daß G 19/2 und G 1 Variante g einen gemeinsamen Rezeptor besitzen, den G 19 Variante d nicht oder sehr schwach hat.

Dementsprechend zeigte auch das Immunserum, das durch Immunisierung mit G 19 Variante d erzeugt worden war, nur feinflockende Agglutination mit dieser Variante, aber bloß grobflockende, bzw. keine mit den anderen zur Prüfung herangezogenen.

Die Herstellung der Immunsera hat uns also eine Bestätigung für unsere Vorstellung von den Veränderungen des Rezeptorenapparates und den gegenseitigen Zusammenhängen gebracht. Wir müssen uns also jetzt ernstlich mit den Zweifeln auseinandersetzen, ob diese neuen Stämme wirklich Varianten mit genetischem Ursprung aus dem Ausgangsmaterial, oder Verunreinigung auf dem Wege der Gewinnung oder Beimischungen zum verwendeten Ausgangsmaterial sind. Die zuletzt vorgenommene Prüfung mit den von Einzellkulturen stammenden Varianten kann natürlich allein die Zweifel nicht beheben, denn sie bietet ja nur Sicherheit für die Reinheit dieser Varianten; wir hätten Einzellkulturen zum Ausgang nehmen müssen, um in bezug auf die Abstammung sicher zu sein. Eine gewisse Wahrscheinlichkeit boten uns gewiß auch die Versuche mit diesen „sicher reinen Varianten“. Denn wenn man früher die Zusammenhänge, die zwischen einzelnen Varianten bestehen, also z. B. zwischen dem aus G 1 Variante g und G 19/2, die aus verschiedenem Ausgangsmaterial stammen, durch „Mischkulturen“ hätte erklären können, so war das jetzt durch die Versuche mit den aus Einzellkulturen isolierten Varianten ausgeschlossen: die gemeinsamen serologischen Phänomene ließen sich jetzt nur mehr als Rezeptorengemeinschaft erklären. — Um aber die volle Sicherheit durch die höchst erreichbare Exaktheit des Versuchs zu gewinnen, verwendeten wir diese aus Einzellkulturen gezogenen Varianten neuerlich als Ausgangsmaterial und beobachteten das Auftreten weiterer Aenderungen. Es wurden

also diesmal die nach zehn Plattenpassagen angelegten Bouillonröhrchen (die das Material derselben Kolonie enthielten, von der die in dem Versuch der vorhergehenden Tabellen geprüften Stämme abstammten), wieder 3 Monate stehen gelassen, dann auf Platten gestrichen, wieder einzelne Kolonien abgeimpft und die neuen Linien geprüft. Die nun beobachteten Aenderungen bringen wir im Auszug auf Tabelle XII.

Tabelle XII.

Variante	Verhalten der Einzelkultur	Verhalten der neugewonnenen Varianten
Gärtner 1 Var. d	typisch (O- u. H-Rezeptor)	1) typisch (Aufspaltung) 2) wie Gärtner 19/2
Gärtner 2 Var. a	wie eine O-Form (Fehlen des H-Rezeptors)	typisch
Gärtner 2 Var. e	typisch	1) typisch 2) wie Gärtner 19/2
Gärtner 17 Var. e	} wie eine O-Form	typisch
Var. f		„
Var. a		unverändert wie eine O-Form
Var. c		
Gärtner 19 Var. b	typisch	wie Gärtner 19/2

Aus diesen Beobachtungen erkennen wir:

Die O-Form, wie sie uns im Gärtner 1 orig., G 2 Variante a, und in den Varianten des Gärtner 17 vorlag, haben wir diesmal nicht aus den H-Formen gewonnen, wohl aber beobachteten wir die umgekehrte Wandlung des Gärtner 2 Variante a und der Variante e und f des Gärtner 17, die den labilen Rezeptor wiedergewonnen haben. Damit ist für uns der Beweis für den genetischen Zusammenhang zwischen O- und H-Formen des Gärtner erbracht. (Neben diesem Beweis, der durch Umwandlung einer O-Form [Einzelkultur] in die H-Form geliefert ist, werden wir weiter unten noch andere beibringen, indem wir berichten, daß aus der Einzelkultur der H-Form [z. B. Gärtner 19 Variante a] nach 35 Bouillonpassagen die O-Form gewonnen wurde.) Da wir aber auch die Gärtnervariante von der Art des Gärtner 19/2, die also den atypischen stabilen Rezeptor besitzt, jetzt aus den „reinen Klonen“ des Gärtner 1 Variante d, des Gärtner 2 Variante e und Gärtner 19 Variante b gewonnen haben, so ist uns auch über diesen keine Gewißheit geworden, daß variative Aende-

rung und nicht Isolierung aus einer Population vorliegt. In diesem Zusammenhang verdient noch Tabelle XIII Beachtung. Sie berichtet über Umwandlungen, welche nach 35 Agar- bzw. Bouillonpassagen beobachtet wurden, und soll noch in anderem Zusammenhang besprochen werden. Hier interessiert uns nur, daß die O-Formen, die Varianten von der Art des Gärtner 19/2 und Gärtner 19 Variante d aus Einzellkulturen von Varianten verschiedener Abstammung entstanden sind.

Die genetische Zusammengehörigkeit der beschriebenen Varianten ist bewiesen.

Tabelle XIII.

a) Prüfung der Varianten nach 35 Agarpassagen.

Variante	Verhalten der Einzellkultur	Nach 35 Agarpassagen gewonnene Varianten
Gärtner 1 orig.	wie eine O-Form	wie eine O-Form (unverändert geblieben)
Var. g	besitzt einen atypischen stabilen Hauptrezeptor	unverändert geblieben
Gärtner 2 Var. a	wie eine O-Form	wie eine O-Form
Var. e	typisch	1) typisch
Gärtner 17 Var. a	} wie eine O-Form	2) wie Gärtner 19/2
Var. c		wie eine O-Form
Var. e		
Var. f		
Var. g		

b) Prüfung der Varianten nach 35 Bouillonpassagen.

Variante	Verhalten der Einzellkultur	Nach 35 Bouillonpassagen gewonnene Varianten
Gärtner 1 Var. d	typisch	wie Gärtner 19/2
Gärtner 2 Ausg.	„	1) O-Form
Gärtner 2 Var. d	} wie eine O-Form	2) Variante wie Gärtner 19 Var. d
Gärtner 17 Var. a		wie eine O-Form
Var. e		typisch (hat den labilen Rezeptor angenommen)
Var. f		
Var. g		
Gärtner 19 Var. a	typisch	wie eine O-Form
Var. b	„	wie Gärtner 19/2
Gärtner 19/2	atypischer stabiler Hauptrezeptor	wie eine O-Form
Gärtner 19 Var. d	atypischer stabiler Hauptrezeptor	1) typisch
		2) wie eine O-Form
		unverändert
		„

Es wäre noch sehr reizvoll, mit unseren durch Rezeptorenanalyse gewonnenen Resultaten die Befunde von Sobernheim und Seligmann zu vergleichen. Wir könnten uns manche Bestätigung holen und zugleich manche der von diesen Autoren gefundenen Tatsachen zu deuten. So z. B. fanden die Autoren Unterschiede der Agglutinierbarkeit von Gärtnerstämmen in Gärtnerseris, die zwei Hauptgruppen auseinanderhalten ließen. Gruppe 1: Ratin, Dunbar, Danysz, Schern, Ratte 1 und Ratte 2, Gärtner 6^d, 13⁴, Gärtner K Ollendorf, Moorseele, Spickgans und Gießen; Gruppe 2: Enteritis Halle Gärtner Fr, Hellmuth, Gärtner G A N, Dr. Jabki, Gent, Frankenhäusen, Gärtner J, Gärtner alt und Gärtner B. Gruppe 1 wird höher als Gruppe 2 agglutiniert. Stellen wir einige Resultate aus der Arbeit von Sobernheim und Seligmann zusammen:

	Gruppe 1	Gruppe 2	Typhusstämme (Gießen)
Tab. I	fast alle bis $\frac{1}{3000}$ oder $\frac{1}{5000}$	einige bis $\frac{1}{200}$	einige bis $\frac{1}{200}$
„ II	$\frac{1}{2000}$	die meisten $\frac{1}{200}$	bis $\frac{1}{200}$
„ III	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{1000}$ bis $\frac{1}{200}$	$\frac{1}{2000}$ bis $\frac{1}{5000}$
„ IV	$\frac{1}{1000}$	die meisten $\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$
„ V	$\frac{1}{20000}$ bis $\frac{1}{40000}$	$\frac{1}{2000}$ bis $\frac{1}{5000}$	bis $\frac{1}{10000}$

Scheint es nicht, daß die Gruppe 2 O-Formen des Gärtner enthält, die im Gärtner serum nur kleinflockig wie Typhusstämme agglutiniert werden?

Wir wollen aber und können nicht den Vergleich bis zu Ende durchführen und die Resultate der Autoren vom Standpunkte der Rezeptorenanalyse deuten; wir könnten in den Fehler verfallen „hineinzudeuten“. — Einen besonderen Teil der Arbeit von Sobernheim und Seligmann machen die Beziehungen des B. Aertryck, Gärtner und B. paratyphi B aus. Ueber die von den Autoren gefundenen Beziehungen hat gleichzeitig Herr Dr. Fürth Untersuchungen mit der Methodik der Rezeptorenanalyse angestellt und wird darüber gesondert berichten.

2. Kulturelles Verhalten.

Eine sofort nach der Isolierung der einzelnen Varianten vorgenommene Prüfung ergab fast völlige Identität aller Stämme. Alle bildeten Gas aus Traubenzucker; die Bläuung der Petruschkyschen Lackmusmolke (Kahlbaum) setzte nicht in allen Röhrchen gleichzeitig ein, war aber schließlich allgemein. Die Bouillon wurde getrübt, nur Gärtner 1 Variante g, Gärtner 19/2 und Gärtner 19 Variante d ließen sie klar und senkten sich zu Boden.

Eine nochmalige Prüfung wurde mit Schrägagarkulturen vorgenommen, die aus der 10. Plattengeneration angelegt wurden (Tabelle XIV).

Tabelle XIV.
Kulturelles Verhalten.

	Laktose	Dextrose, Mannit	Saccharose	Maltose	Lackmus- molke	Gelatine	Milch	Indol- bildung	Gasbildung aus Trauben- zucker	Bouillon	Beweglich- keit	Geißeln (dar- stellt nach Zettnow)
	blau	rot	blau	blau	rot in blau um- schla- gend	nicht ver- flüs- sigt	nicht koagu- liert	nach 8 Tagen: θ	+	trüb	+	+
Gärtner 1 orig.	„	„	„	„	dgl.	dgl.	dgl.	θ	+	„	θ	θ
„ 1 Var. g	„	„	„	„	„	„	„	θ	+	klar, Boden- satz trüb	θ	θ ¹⁾
„ 2 „ a	„	„	„	„	„	„	„	θ	+	trüb	θ	θ
„ 17 Ausg.	„	„	rot	„	„	„	„	θ	+	„	+	+
Gärtner 17 Var. a, e, f, g	„	„	„	„	„	„	„	θ	+	„	θ	θ
Gärtner 17 Var. c	„	„	blau	„	„	„	„	θ	+	„	θ	θ
„ 19/2	„	„	„	„	„	„	„	θ	+	klar, Boden- satz trüb	+	+
„ 19 Var. b	„	„	„	„	„	„	„	θ	+	trüb	θ	θ
„ 19 „ d	„	„	„	„	„	„	„	θ	+	„	+	+

Beachtenswert ist nur das Fehlen von Beweglichkeit bei jenen Varianten, bei welchen wir auch das Ausbleiben grobflockender Agglutination beobachtet haben. Dieses Zusammentreffen ist kein zufälliges: bei den X-Proteusstämmen haben Jötten, Braun und Schäffer die Geißellosigkeit der O-Formen festgestellt. Früher schon hat Th. Smith und Ten Broek beim Studium der serologischen Beziehungen zwischen Hühnertyphus — und Typhusbakterien — wie wir gezeigt haben, sind sie die der O-Form zur H-Form — für das Typhusserum besondere Geißelagglutinine angenommen. Die Identität aber von labilem (H-) Rezeptor mit dem Geißelantigen ist, so wahrscheinlich sie auch ist, bisher nur indirekt bewiesen.

Auffallend war, daß Gärtner 1 Variante g bei einigen Untersuchungen spärlich an wenigen Stäbchen einzelne Geißeln zeigte, während der größte Teil im Präparat unbegeißelt erschien. Ein durch Immunisierung mit dieser Variante gleich

1) In Präparaten, die aus späteren Generationen angelegt wurden, wenig schwach begeißelte Individuen.

zu Beginn der Versuche erzeugtes Serum (Serum 6) hatte keine grob flockenden Agglutinine, ein zweites mit einer späteren Agarpassage behandeltes Tier gab ein Serum (Serum 13) mit hohem Titer typischer grober Flockung.

Und gerade an dieser Generation bemerkten wir die wenigen leicht zu übersehenden Geißeln. Die Aufschwemmung dieser Kultur wurde selbst nur fein ausgeflockt (s. Tab. XI). Auch diese Beobachtung, daß Geißelarmut dort gefunden wurde, wo grobflockende Agglutinine gebildet, aber nicht gebunden wurden, spricht sehr für die Identität des Geißelantigens mit dem labilen Rezeptor. Sie ist aber auch sonst sehr bemerkenswert: War es ja bisher schwer möglich, eine Erklärung für die vielfach beobachtete Inkongruenz von Agglutininbindung und -bildung zu geben. Hier führt uns der morphologische Charakter der Geißelarmut auf die richtige Spur. Die spärlichen Geißeln genügen wohl dazu, um im Tier die Bildung des homologen Antikörpers anzuregen, ganz entsprechend den Beobachtungen Friedbergers und Moreschis über die relative Unabhängigkeit von Antigenmenge und Agglutininproduktion, sie genügen aber nicht dazu, um eine sichtbare Reaktion im Reagenzglas hervorzurufen. Was aber hier für den labilen Rezeptor gilt, dessen Ausbildung morphologisch an der Stärke der Begeißelung gemessen werden kann, gilt wohl auch allgemein für Rezeptoren überhaupt: Die Diskrepanz zwischen Agglutininbildung und -bindung läßt sich durch quantitative Verhältnisse der Rezeptoren erklären.

Noch in weiterer Hinsicht war die Geißelarmut der besprochenen Variante interessant: es wird weiter unten gezeigt werden, daß die Kultur mit nur wenigen schwach begeißelten Individuen unter vielen nackten nicht etwa eine Mischung war, aus der bewegliche und unbewegliche Keime isoliert werden konnten, sondern daß die fehlende oder geschwächte Geißelausbildung eine dauernde Eigenschaft dieser Variante war.

Im Kapitel über das kulturelle Verhalten bleibt uns nur zu besprechen, ob Varianten bestimmten serologischen Charakters auch durch bestimmte äußere Zeichen der Kolonieförmigkeit erkennbar waren. Wenn wir auch die ersten Varianten auf Grund anderen Aussehens der Kolonie abgeimpft haben,

so haben wir uns später überzeugt, daß eine Einteilung, die auf Grund der Kolonieförmigkeiten aufgestellt wird, nicht übereinstimmt mit der Typeneinteilung, die die serologische Untersuchung ergab. Änderungen der Kolonieförmigkeit sind nicht zwangsweise mit Veränderungen an den Rezeptoren verknüpft, und umgekehrt lassen sich Änderungen des serologischen Charakters selten aus Veränderungen der Kolonieförmigkeit erkennen. Häufig treten beide Veränderungen zugleich auf; eine Gesetzmäßigkeit erkannten wir nicht.

3. Erbliche Konstanz.

Das Interesse des Mikrobiologen an der Variabilitätsforschung ist ein doppeltes: er sucht Antwort auf praktische und theoretische Fragen. Praktisch ist der Gewinn, den er für die diagnostische Tätigkeit bezieht, und praktisch, in weiterem Sinne gefaßt, auch die Frage, ob die Variabilitätsforschung Erkenntnisse über Entstehen und Vergehen von Seuchen vermitteln kann, theoretisch hingegen sind die Erörterungen evolutionistischer Theorien, die jeden Naturforscher, auch den Mikrobiologen, in ihren Bann zwingen. Der starke Drang aber, alle Beobachtungen auf das Problem nach der Entstehung der Arten zu beziehen, scheint uns hauptsächlich verantwortlich zu sein für die Unklarheit der Begriffe und Verwirrung in der Terminologie, die in der bakteriologischen Variabilitätsforschung herrscht. Der Mikrobiologe ist bei der Bearbeitung von Erbleichkeitsfragen gegenüber dem Variabilitätsforscher, der mit höheren Lebewesen experimentiert, zu sehr im Nachteil, um mit ihm in gleichem Schritt vorzugehen: die Unmöglichkeit der Gen-Analyse und deshalb die Unanwendbarkeit dieses Begriffes, die Schwierigkeiten der Individualauslese, der vollkommen verschiedene Inhalt des Begriffes „Generation“ und schließlich der Mangel an Sicherheit, ob die Bakterien einen Generationswechsel durchmachen oder nicht, muß uns davon abhalten, an unseren Beobachtungen Fragen der exakten Variabilitätsforschung zu erörtern und unsere Terminologie von dieser Wissenschaft zu beziehen. Wir stimmen deshalb den kritischen Argumenten Ernst Lehmanns gegen die Einführung des Begriffes der „Mutation“ in die Bakteriologie bei. Die Frage, ob den von uns beobach-

teten Klonumwandlungen“ Aenderungen am Anlagenbestand analog den mutativen Veränderungen der höheren Lebewesen zugrunde liegen, läßt sich einfach nicht entscheiden und deshalb aus unserem Material kein Beitrag zur Erörterung der Frage nach der Entstehung neuer Arten von Lebewesen beibringen. Alle Beobachtungen lassen sich auch so deuten, daß die in unseren Versuchen in Erscheinung getretenen Veränderungen schon im Anlagenbestand des Gärtnerbakteriums latent vorgebildet sind und nur verschiedene Erscheinungsformen einer über einen starren Anlagenbestand unveränderlichen Art darstellen. Wenn wir aber auch aus unserer Diskussion alle Beziehungen zum Problem der Evolution ausschalten und uns auf die praktischen Fragen beschränken, so bleibt trotzdem für uns zu untersuchen, wie weit für die von uns beobachteten Veränderungen erbliche Konstanz besteht. Nur dürfen wir jetzt unseren Begriff „erbliche Konstanz“ im praktischen Sinne definieren. Die praktischen Fragen des medizinischen Bakteriologen sind in diesem Falle: 1) Welche Beziehungen haben die Varianten zur Krankheit, und 2) Müssen wir bei unseren diagnostischen Untersuchungen Bedacht nehmen auf die serologischen Varianten? Für das erste ergibt sich aus unseren Untersuchungen keine Aufklärung, hier harren noch ungelöste Aufgaben für die Zukunft; das zweite trifft nur dann zu, wenn die Veränderungen nicht ganz ephemerer Natur sind und unabhängig von bekannten äußeren Bedingungen bestehen bleiben. Für unsere praktischen Bedürfnisse gilt eine Variante als erblich konstant, wenn sie unter denselben Bedingungen fortgezüchtet, wie die Stammform ihre abweichenden Eigenschaften beibehält. Nicht eine zeitliche Grenze, auch nicht die Zahl der Passagen kann hier entscheiden, sondern nur das, ob die auf Konstanz geprüften Eigenschaften nur unter bestimmten äußeren Bedingungen bzw. als abklingende Nachwirkung dieser Bedingungen beobachtet werden können, oder unabhängig vom Milieuwechsel bestehen bleiben. Ein Beispiel wird klar machen, worin wir die Unterscheidung treffen: Gewisse Aenderungen des Nährbodens unterdrücken bei den X-Proteusstämmen die labilen Rezeptoren¹⁾. Braun erzielt

1) Vergleiche dazu Bordet und Sleswyk (Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 24, 1910), die bei Keuchhustenbazillen, und Marks (Zeitschr. für

nur feinflockbare X-Kulturen durch Züchtung auf phenolhaltigem oder nährstoffarmem Agar, Weltmann und Seufferheld durch Zusatz von Traubenzucker zum Agar. Züchtet man solche Kulturen auf normalem Agar weiter, so tritt die früher bestandene grobe Ausflockbarkeit wieder auf. Ganz anders verhält sich die echte O-Variante von Weil und Felix, die schon Jahre hindurch neben der H-Variante (Ausgangsform) unter gleichen Nährbodenbedingungen fortgezüchtet wird. Gewiß beobachtet man auch an diesen O-Kulturen gelegentlich Rückkehr zur H-Form, das Wesentliche aber ist, daß man durch Isolierung die O-Variante aus dem Gemisch wiedergewinnen und rein weiterzüchten kann. Die H-Formen erscheinen nur als „Abzweigung“ der O-Stämme. Dann erkennt man — wie das auch Weil hervorhebt — daß die erbliche Konstanz der O-Formen nicht geringer ist, als die der H-Stammform, die sich ja auch zur O-Form wandeln kann. Für uns ist eine Variante dann erblich konstant, wenn sie die Konstanz des Ausgangsstammes hat, der ja wie eben die Existenz der Variante beweist, keine absolute Konstanz besitzt.

Wir bleiben also bei der Feststellung von Tatsachen und durchbrechen nicht die uns selbst auferlegte Beschränkung, wenn wir zwischen nicht dauernden (nicht konstanten, abklingenden) Veränderungen und dauernden (konstanten) Veränderungen sprechen. Für Veränderungen der ersteren Art hat sich auch in der Bakteriologie die Bezeichnung „Modifikationen“ eingebürgert, für die der letzteren erscheint der von E. Lehmann vorgeschlagene Terminus „Klonumwandlung“ passend, besonders, weil er keine Stellungnahme zu Evolutionstheorien präjudiziert.

Zwischen beiden Veränderungen besteht noch ein Unterschied, dessen Erörterung uns zu unseren Beobachtungen zurückführt: die modifikativen Varianten wirken antigen nicht anders als die Stammform: mit den Karbol-, Hunger-, Traubenzuckerstämmen gelingt es nicht, Sera zu erzeugen, die rein nur auf die O-Rezeptoren wirken, wohl aber mit den echten

Immunitätsf., Orig., Bd. 6, 1910), welcher bei arsenfesten Hogcholerastämmen Abhängigkeit serologischer Eigenschaften von Nährbodenqualitäten beschrieben hat.

O-Varianten. Da es mit unseren Gärtnervarianten gelungen ist, streng rezeptoren-spezifische Sera herzustellen (Serum 5, Serum 12, Serum 14, Serum 16) konnten wir voraussagen, daß die Varianten mit den atypischen Rezeptoren in obigem Sinne konstant bleiben werden und nicht Modifikationen sind.

Wir züchteten die durch 10mal aufeinanderfolgende Auslese auf Agarplatten gereinigten Varianten (also praktisch Einzellkulturen) durch tägliches Ueberimpfen auf Schrägagar und Bouillon weiter. Nach 35 Agar- bzw. Bouillonpassagen wurden Platten gestrichen, von jeder Platte mehrere Kolonien abgeimpft und serologisch untersucht (Tabelle XIII).

Außerdem haben wir die Bouillon erster Passage 3 Monate aufbewahrt und dann wieder auf Platten gestrichen, einzelne Kolonien abgeimpft. Das Resultat der serologischen Prüfung ist auf Tabelle XII mitgeteilt.

Von den reinen O-Varianten sind einige in allen drei Reihen (Agar-, Bouillonpassagen, ruhende Bouillon) unverändert geblieben, z. B. Gärtner 1 orig., Gärtner 17 Variante g; andere wieder haben beim Passieren durch Bouillon oder beim Ruhen in Bouillon die labilen Rezeptoren angenommen, nicht aber in den Agarpassagen. Wir haben also die O-Variante durch Fortzüchten auf einfachem Agar dauernd erhalten können; aber auch der „Rückschlag“, den wir bei der Züchtung in Bouillon an einigen O-Varianten beobachtet haben, ist gewiß nicht als Argument gegen die Konstanz zu verwerten. Wir hätten, wenn wir nach jeder Bouillonpassage eine Plattenkultur eingeschaltet hätten, wohl jenen Augenblick bestimmen können, wo eine dichotomische Aufspaltung der einheitlichen Linie eintritt, wie unsere Tabellen XII und XIII an einigen Kulturen erkennen lassen, und hätten dann durch Isolierung die O-Variante erhalten können, während sie beim angewandten Vorgehen des Ueberimpfens von Bouillon in Bouillon, oder dauernden Aufbewahrens in Bouillon in der Wachstums-konkurrenz mit der begeißelten Seitenlinie unterlegen sind. Es ist nicht bloße Vermutung, die uns das aussprechen läßt; denn erstens sehen wir viele derartige dichotomische Aufspaltungen bei der Prüfung, deren Resultat auf Tabelle XIII wiedergegeben ist, und zweitens kennen wir sie aus den Beobachtungen an den O- und H-Varianten der X-Stämme, bei

denen die konstante Fortzuchtung auch in diesem Sinne geleitet werden muß: rechtzeitige Isolierung bei Abspaltung des zweiten Typus.

Sehr wichtig ist, daß die Varianten mit atypischen stabilen Rezeptoren (Gärtner 1 Variante g, Gärtner 19/2 und Gärtner 19 Variante d) ihn in allen 3 Reihen dauernd behalten haben.

Ein interessantes Verhalten zeigt Gärtner 1 Variante g. Dieser Stamm wird immer nur feinflockig agglutiniert; ein Immenserum gegen diesen Keim war nur feinflockend, ein anderes auch grobflockend für typische Gärtnerstämme. Die Untersuchung der zur Erzeugung dieses letzteren Serums dienenden Agargeneration in Zettnow-gefärbten Präparaten zeigte neben einer Mehrzahl unbegeißelter Stäbchen wenige schwach begeißelte. Der Versuch einer Trennung dieser Mischung gelang nicht und auch in durch Plattenaussaat isolierten Kulturen fand sich weiter das charakteristische Verhältnis von viel geißellosen und wenig geißeltragenden Individuen. Diese Variante hat also eine dauernd herabgesetzte Fähigkeit der Geißelbildung, die sich sowohl in den unbegeißelten als auch beweglichen Individuen forterbt.

Eine analoge Forterbung einer Eigenschaft, die nur an einzelnen Individuen gleicher Deszendenz manifest wird, ist von Bail und Flaumenhaft beobachtet worden: eine Variante des Milzbrandbazillus zeigte eine herabgesetzte Fähigkeit der Kapselbildung derart, daß nur einzelne Stäbchen eine Serumkultur unter sonst nackten Nachbarn (desselben Fadens) bekapselt waren, ohne daß es auch gelungen wäre, eine kapsellose oder kapseltragende Linie daraus zu isolieren, auch nicht, wenn man den Tierversuch zu Hilfe nahm.

Zusammenfassung.

- 1) Es wurden Varianten des Gärtnerbakteriums beobachtet, die ein vom Typus abweichendes serologisches Verhalten zeigten.
- 2) Die atypischen Varianten waren:
 - a) eine O-Form des Gärtnerbakteriums mit fehlendem labilen Rezeptor,
 - b) eine atypische H-Form mit typischem labilen, aber atypischem stabilen Rezeptor, der aber quantitativ sehr schwach entwickelt war, und sich nur in der

9*

Bildung, nicht aber in der Bindung von homologen Agglutininen nachweisen ließ,

- c) eine atypische H-Form mit typischem labilen, aber quantitativ voll entwickeltem labilen Rezeptor,
- d) eine atypische H-Form, mit typischem labilen, aber atypischem stabilen Rezeptor, der auch von dem der Varianten, die in b) und c) genannt sind, verschieden war.

3) Die erbliche Konstanz dieser Varianten war gleich der der Ausgangsstämme (also eine vollkommene).

4) Ein Zusammenhang zwischen Kolonief orm und serologischem Verhalten ließ sich nicht als gesetzmäßig erkennen.

5) Für die Identität von labile m Rezeptor und Geißelantigen wurden neue Beweise erbracht.

6) Die Inkongruenz von Agglutininbindung und -bildung konnte in einem Fall durch den quantitativ sehr ungleichen Gehalt des Bakteriums an zwei verschiedenen Rezeptoren erklärt werden.

Literatur.

- Bail und Flammenhaft, *Centralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 74, 1917.
Braun und Schaeffer, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1919, No. 18.
— — *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, Bd. 89.
Friedberger und Moreschi, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1905.
Gruschka, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 30.
Jötten, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1919, No. 12.
Lehmann, E., *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig.*
Sobernheim und Seligmannn, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 6.
Smith and Ten Broek, *Journ. of med. Res.*, Vol. 31 (zitiert nach
Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 64).
Weil und Felix, *Wien. klin. Wochenschr.*, 1918, No. 36.
— — *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 29.
Weltmann und Seufferheld, ebenda.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Variationsversuche mit dem Bacillus typhi¹⁾.

Von Dr. J. Fürth.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

Denjenigen Bakteriologen, welche Typhusbazillen dann als solche diagnostizieren, wenn sie mit Typhusimmunserum Agglutination geben, ebenso den Variationsforschern von Mikroorganismen, welche ihre kulturell mutierten Typhi bezüglich der Immunitätsreaktionen fast ausnahmslos als unverändert fanden, wird das Gebiet dieser Arbeit als neu erscheinen. Es galt in der Serologie bis in die letzte Zeit als eine feststehende Tatsache, daß selbst bei jenen Bakterien, welche in kultureller, morphologischer und chemischer Hinsicht einer Veränderlichkeit unterliegen, der antigene Charakter gewahrt bleibt. Es sei z. B. darauf hingewiesen, daß die Versuchsergebnisse von Sobernheim und Seligmann (1), welche tiefgreifende serologische Veränderungen in der Paratyphusgruppe festgestellt haben, mit Skepsis aufgenommen und von Stromberg (2) in den Hauptpunkten bestritten wurden. Gerade der Typhusbazillus gilt, abgesehen von den serumfesten Stämmen und von den Angaben von Baerthleins (3), welchem angeblich eine Umzüchtung vom Paratyphus B in Typhus gelungen ist, als ein Keim, der stets mit Leichtigkeit agglutinatorisch zu bestimmen ist, und auch die serumfesten Stämme sind im Besitze der typischen spezifischen Antigengruppen. Nach den Untersuchungen von Weil und Felix (4), von Braun und Feiler, von Eisler und Silberstern besitzt der Typhusbazillus zwei scharf charakterisierte Rezeptoren, die analog den H- und O-Rezeptoren der Proteustämme, nach der von H. Sachs bei den X-Stämmen festgestellten Thermostabilität von Weil und Felix labile und

1) Die hier mitgeteilten Versuche wurden zum Teil in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Th. Gruschka ausgeführt.

stabile Rezeptoren genannt wurden. Durch die Erkenntnis dieser Tatsache ist es weit mehr als es früher der Fall war, möglich geworden, eine genaue Analyse der serologischen Veränderungen, die der Typhusbazillus unter dem Einflusse der Faktoren, die eine Variation hervorrufen, erleidet, durchzuführen. Mit der Frage, inwieweit die Variabilität des Typhusbazillus, die schon von anderen Autoren vielfach festgestellt wurde, sich auf diese beiden Rezeptoren erstreckt, beschäftigen sich die nachstehend wiedergegebenen Versuche.

Die Deutung der Ergebnisse der bakteriologischen Mutationsversuche wurde von Vererbungsforschern ebenso skeptisch aufgenommen, wie auch ihre Richtigkeit von manchen Bakteriologen bezweifelt wurde. Zumal betrifft das jene Beobachtungen, welche als Veränderungen im Rezeptorenapparat beschrieben, teils als echte Umwandlung innerhalb wohlcharakterisierten Bakterienrassen gedeutet worden sind. Hier ist ein Zweifel besonders berechtigt, da meist eine Rezeptorenanalyse versäumt und bloß auf Grund eines verschiedenartigen Verhaltens in Agglutinationsversuchen auf eine Umwandlung der agglutinogenen Substanz geschlossen wurde. Die Ergebnisse der wertvollen Arbeit von Sobernheim und Seligmann (5) über serologische Variabilität der Enteritiskakterien haben auch aus diesem Grunde keine absolute Beweiskraft. Die durch sie beschriebene Umwandlung, respektive Annäherung des Bazillus Aertryk vom Typus B zum Typus Gärtner wird an anderer Stelle behandelt. Eine andere Beobachtung von Sobernheim und Seligmann über die Variabilität des Bazillus Hausstädt (1) ist ein Vorkommnis dieser Art. Sobernheim und Seligmann züchteten aus einer Ausgangskultur des Bazillus Hausstädt folgende Tochterkolonien: a) einen echten Gärtner; b) einen durch die Agglutination von diesem zu trennenden Sonderstamm; c) einen Typhusbazillus; d) eine dem *Bact. coli mutabile* sehr nahe stehende Kultur. Reiner Müller (6) isolierte aus dem Blutgerinnsel eines typhösen Kranken zahlreiche Typhusbakterien und beobachtete auf der 11 Tage alten Original-Drigalskiplatte die Abspaltung der Paratyphus B-Bakterien aus derselben in Form einer Knopfbildung. Auch diese Be-

obachtung kann ohne eine annehmbare Bestätigung in die einwandfreien Ergebnisse der Variationsforschung nicht eingereiht werden. Es sind diese Beobachtungen unter anderem schon aus dem Grunde unantastbar geblieben, weil eine exakte Beschreibung der kulturellen und serologischen Qualitäten der gezüchteten Mutationsformen versäumt wurde. Baerthlein, dessen Arbeiten auch als Wegweiser zu weiteren Variationsversuchen sehr viel geleistet haben, fand bei seinen Typhusvarianten im Verhalten gegenüber den Immunitätsreaktionen keine nennenswerten Unterschiede. In seiner letzten umfassenden Publikation (3) über bakterielle Variabilität beschreibt Baerthlein jedoch eine Beobachtung, welche er als eine Umwandlung einer Art (Paratyphus B) in eine andere (Typhus) auffaßt. Die Art der serologischen Untersuchung, wie sie von Baerthlein durchgeführt wurde, rechtfertigt jedoch eine so weitgehende Schlußfolgerung nicht. Durch Erschöpfungsversuche, welche er gerade bei der Analyse dieser ungemein interessanten Paratyphus B-Variante versäumt hat, hätte er wahrscheinlich feststellen können, daß die Verwandtschaft seiner Paratyphus B-Variante mit dem Typhusbazillus in nur einer Gemeinschaft von Nebenrezeptoren besteht. Seiner Methode folgend, züchtete Eisenberg (7) aus 9 Monaten aufbewahrter Blutbouillon sowie Blutgalle Kulturen, „Zwergformen“ eines normalen Typhusstammes, welche ihre Analogie in dem von Jacobson (8) und Fromme (9) direkt aus dem Organismus isolierte „Zwerg“ finden. Jacobson und nach ihm Eisenberg nannten dieselbe wegen der beständigen Abspaltung von normal wachsender Kolonie Typh. mutabile. Von allergrößtem Interesse wäre es, zu erfahren, wie weit diese Zwergvarianten des Typhusbazillus verändert sind. In Jacobsons Publikation fehlt auch eine Angabe über serologische Untersuchung der betreffenden Typhusepidemie. Er erwähnt die Inagglutinabilität seiner Typhuszwerge. Eisenberg untersuchte seine Variante eingehender und fand dieselbe inagglutinabel (spontanagglutinabel) und zum Teil auch inagglutinogen, d. h. ein Zwergstamm war ebenso agglutinogen als der normale Typhus, zwei andere haben nach zweimaliger Injektion eines Kaninchens keine Agglutinine erzeugt. Leider wurde darüber nicht Klarheit geschaffen, ob diese Zwerg-

stämme für sich selbst Antikörper erzeugt haben, was man durch Komplementbindung hätte feststellen können. Auch das Beispiel der „Zwergtyphi“ lehrt uns, daß die aus alternden Kulturen gezüchteten Varianten nicht Kunsterzeugnisse sind, welche in der Praxis eine geringe Bedeutung haben, wie das unter anderem Trautmann (10) meint.

Aus diesen Literaturangaben geht deutlich hervor, mit welchem Unrecht Lingelsheim (11) die von anderer Seite beschriebenen Variationen in den Rahmen des normalen Formenkreises einreicht, im Gegensatz zu seinen aus älteren Typhuskulturen gezüchteten unbeweglichen, in flüssigen Nährböden in Haufen wachsende „Q-Formen“, welche nach kurzer Behandlung eines Kaninchens ein auf Typhusbazillen stark agglutinierend wirkendes Serum erzeugt haben.

Diese erwähnten Variationsforscher befassen sich mit Ausnahme von Sobernheim und Seligmann mit der Variabilität der kulturellen Merkmale und untersuchten serologisch bloß ihre morphologisch, resp. kulturell veränderten Stämme. Der gut bewährten Methode Baerthleins folgend, haben wir die umgekehrte Richtung eingeschlagen. Es wurde derart vorgegangen, daß bei Zimmertemperatur aufbewahrte alte Agar- und Bouillonkulturen nach $1\frac{1}{2}$ —6 Monaten wiederholt nach Plattenaussaat abgeimpft und eine serologische Untersuchung von mehreren gleichen und verschiedenen Kolonien ausgeführt und mit dem durch häufiges Ueberimpfen konstant erhaltenen Ausgangsstamm parallel geprüft wurden. Es hat sich dabei gezeigt, daß, wenn auch serologische und morphologische Verschiedenheiten miteinander häufig parallel gehen, sie doch nicht selten voneinander unabhängig sind. In Uebereinstimmung mit Baerthlein und Eisenberg fanden wir eine größere Mannigfaltigkeit der serologischen Variabilität in flüssigen als auf festen Nährböden. Der Umstand, daß die Kulturen über ein bestimmtes Alter hinaus zur Darstellung der Variationsvorgänge nicht verwendbar sind und das Zeitoptimum nach Bakterienarten und Stämmen sehr verschieden ist, fordert die wiederholte Untersuchung alternder Kulturen. Es hat sich dabei als zweckmäßig erwiesen, schwach veränderte Typen nochmals zur Variation anzusetzen.

Serologisch wird der Typhusbazillus durch 2 Hauptrezeptoren charakterisiert, und zwar durch einen labilen und einen stabilen, welcher letzterer mit Gärtner- und Hühnertyphus (12) gemeinsam ist. Durch diesen Erkenntnis und die sich daraus ergebenden Versuche wurden manche bisher unverstandene Erscheinungen in der Serologie des Typhusbazillus geklärt. Es seien auch hier einige Beispiele ihrer praktischen Leistungen erwähnt.

Es ist bekannt, daß der hohe Wert der Mitagglutination die Diagnose bei der Widalschen Reaktion manchmal sehr erschwert. Das Auftreten von grobflockiger Agglutination für Typhus und feinflockiger Agglutination für andere Stämme spricht für Typhus, da dieser grob nur im Typhusserum agglutiniert wird.

Bei der Identifizierung von Bakterien mittels der Agglutination können Typhusbazillen ohne weiteres als solche erkannt werden, wenn die Art der Agglutination eine grobe ist; ein Bakterium, welches im Typhusimmunserum nur fein ausgeflockt wird, muß auch dann weiter untersucht werden, wenn die Höhe der Agglutination den Titer des verwendeten Immunsersums annähernd erreicht.

Es wird von manchen Autoren gefordert, daß zur Identifizierung der in Frage stehenden Kulturen nicht Rekonvaleszentenserum, sondern künstlich hergestelltes Immunsorum benützt werde. Häufig wird eine bestimmte Tierspezies (z. B. Esel) als besonders brauchbar hingestellt. Alles das sind geringfügige, nicht immer erfüllbare Erleichterungen, welche durch die Kenntnisse der Doppelnatur der Rezeptoren überflüssig werden.

Die Komplementbindung und Agglutination ergeben bekanntlich nicht selten verschiedene Resultate, worauf die Annahme der Verschiedenheit der agglutinierenden und komplementbindenden Antikörper basiert ist. Die Feststellung von Weil (13), wonach die Stärke der Komplementbindung größtenteils mit der feinkörnigen Agglutination parallel geht, wird manche Widersprüche klären.

Die vorausgeschickten Beispiele werden es wohl verständlich machen, weshalb bei Untersuchung der atypischen Typhi die feine und grobe Agglutinabilität getrennt berück-

sichtigt wurde. Wir haben die Agglutination gleichzeitig mit einem rein feinflockenden Serum und einem gewöhnlichen Typhusimmunserum, welches grobe und feine Agglutinine enthält, angestellt. Als rein feinflockendes Serum wurde Hühnertyphus oder Gärtnerimmunserum verwendet. Diese zwei Bakterien haben nämlich, wie schon erwähnt wurde, mit Typhus einen gemeinsamen stabilen Hauptrezeptor. Anstatt eines gewöhnlichen Typhusimmunserums haben wir später ein rein grobflockendes Variantenserum verwendet.

Die Ausgangsstämme (5 alte Laboratoriumtyphi), deren Einheitlichkeit und Reinheit zu Beginn der Arbeit durch mehrfache Plattenpassagen gesichert wurde, sind sämtlich typische Typhi. Sie besitzen alle die oben erwähnten zwei Hauptrezeptoren und erschöpfen dementsprechend ihre Sera gegenseitig (Castellanischer Versuch). Alle sind auch agglutinabel und weisen nur in der Stärke der Agglutinabilität geringfügige Differenzen auf. Eine ungleiche genotypische Konstitution zeigte sich erst im Laufe der Untersuchung in Verschiedenheiten der Modifizierbarkeit.

Zur Vermeidung von Wiederholungen haben wir in Tabelle I die von uns gefundenen Varianten in übersichtlicher Form zusammengestellt. Die Tabelle zerfällt zunächst in zwei Teile: a) Agglutination mit Typhusimmunserum, b) Agglu-

Tabelle I.
Serologische Typen von Typhusvarianten.

Serum- verdünnung	I		II		III		IV—V	VI		
	α	β	α	β	α	β		α	β	
Typhus- immunserum a. {	100	+++	+++	++±	++	+++	+	0	+++	++
	500	+++	++	++±	++	+++	±	0	+++	+
	1000	+++	++	++±	+	+++	0	0	+++	±
	2000	+++	++	++	+	++	0	0	+++	±
	5000	++	+	++	±	0	0	0	+++	±
	10 000	+	+	+	±	0	0	0	+++	±
Art der Agglutination	gr. fein	gr. fein	gr.	gr.	fein	fein	—	—	—	—
Gärtner- immun- serum b. {	100	+++	++	0	0	+++	+	0	+++	+
	500	+++	+	0	0	+++	±	0	+++	±
	1000	+++	+	0	0	+++	0	0	+++	±
	2000	++	±	0	0	++	0	0	+++	±
	Art der Agglutination NaCl	fein	fein	—	—	fein	fein	—	—	—
	0	0	0	0	0	—	0	+++	±	±

tionation mit Gärtnerimmunserum. Der Umstand nämlich, daß die kleinflockenden Typhusagglutinine des Typhusimmunserums mit dem kleinflockenden Gärtneragglutininen identisch sind, ermöglicht eine Kontrollierung insofern, als im Gärtnerimmunserum die kleinflockige Agglutination rein hervortritt, und jene Stämme, welche nur grob ausgeflockt werden, in Gärtnerimmunserum unbeeinflusst bleiben. Die Tabelle besagt nun, daß wir 6 Typen der Variante unterscheiden können. I solche, welche grob und fein, II welche nur grob, III welche nur fein, IV—V welche überhaupt nicht agglutiert werden, VI welche spontan ausflocken. IV und V unterscheiden sich dadurch, daß IV diejenigen Stämme darstellen, welche, obwohl sie die Typhusrezeptoren besitzen (durch Bindung nachweisbar), durch physikalische Momente nicht flockbar sind, während V neue Rezeptoren erworben haben, das heißt nur in eigenem Serum agglutiniert werden. Jede Kolumne ist außerdem in zwei Teile α und β geteilt, wobei unter α die gut agglutinablen, in β die schlecht agglutinablen Stämme bezeichnet werden. In Kolumne VI bedeutet α schwache und β starke Spontanagglutinabilität.

Der Ausgangsstamm des Typhus 1 zeigt ein typisches Verhalten, wird im Typhusimmunserum grob und fein, im Gärtnerimmunserum nur fein ausgeflockt. Die Agglutination ist jedoch selbst in der stärksten Konzentration nicht vollkommen, d. h. sie führt nicht zu einer kompletten Klärung der überstehenden Flüssigkeit. Das hängt mit folgender Erscheinung zusammen. Durch Plattenausaat kann man stets die beiden Typen I α und β isolieren, wobei die Aufschwemmungen der ersteren eine ganz komplette Agglutination ergeben, doch spalten dieselben stets leicht den β -Typus ab.

Aus alter Bouillonkultur wurden weiterhin wiederholt Varianten isoliert, welche im Typhus und Gärtner-I.-S. schwach, und zwar nur feinflockig, agglutiniert werden, also entsprechend der Tabelle I zum Typus III β gehören. Die Analyse dieser Variante ergab folgendes Resultat.

Typus III β besitzt die labilen Rezeptoren in viel geringerem Maße als die gewöhnlichen Typhi. Dieselben sind weder agglutinatorisch, noch durch Bindungsversuch nachweisbar,

wenn man nicht allzugroße Mengen zur Erschöpfung verwendet. Die feinflockenden Agglutinine bindet er hingegen so gut wie leicht agglutinable Stämme, und adsorbiert nicht weniger Komplement als diese. Während also die Ursache der schweren feinen Ausflockarbeit eine reine physikalisch-chemische ist, ist das Fehlen der groben Agglutinabilität durch Mangel an labilen Rezeptoren bedingt. Das letztere Moment läßt sich auch derart demonstrieren, daß man ein grob und fein agglutinierendes Typhusimmunserum mit steigenden Mengen von Antigen erschöpft. Während der normale Typhus parallel mit den feinen Agglutininen auch die groben bindet, bindet der Typus III letztere nur dann, wenn man sehr große Mengen zur Erschöpfung verwendet, und auch dann unvoll-

Tabelle II.

Erschöpfungsversuch mit fallenden Mengen von Antigen.

Serum-Verdünnung	A. Antigenmenge				
	1	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{9}$	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{81}$
100	+	+++	+++	+++	+++
200	0	+++	+++	+++	+++
500	0	+	+++	+++	+++
1000	0	0	+++	+++	+++
2000	0	0	+	+++	+++
5000	0	0	0	+	+++
10 000	0	0	0	±	++
20 000	0	0	0	0	0

Serum-Verdünnung	B. Antigenmenge							
	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$	NaCl
100	+++±	+++±	+++±	+++±	+++±	+++	+++	+++
200	+++±	+++±	+++±	+++±	+++±	+++	+++	+++
500	++	++	+++±	+++±	+++±	+++	+++	+++
1000	++	++	++	++	+++±	+++	+++	+++
2000	+	+	+	++	++	+++±	+++	+++
5000	0	±	±	+	+	++	++	+++
10 000	0	0	0	(±)	(±)	±	±	++
20 000	0	0	0	0	0	0	(±)	±

Ein normales Typhusimmunserum wurde mit abgestuften Mengen eines leicht agglutinablen Typhusstammes (A) und einer Variante vom Typus III β (B) erschöpft, das erschöpfte Serum mit einem leicht ausflockbaren Stamm agglutiniert. Die mit 1 bezeichnete B-Antigenmenge ist eine mehrfache der entsprechenden Menge von Antigen A. | bedeutet die grobe, die feinflockende Agglutination.

ständig (Tabelle II). Braun und Schäffer beobachteten, daß diejenigen Bakterien mit Doppelrezeptoren, welche nur den einen, den stabilen Rezeptoren besitzen (im allgemeinen nach Analogie der Proteus X-Bakterien von Weil und Felix O-Formen genannt) unbegeißelt, resp. unbeweglich sind. Diese Entdeckung, welche auch durch unsere Erfahrung bestätigt wird, hat eine sehr große praktische Bedeutung. Bekanntlich sind frisch aus den Organen gezüchtete Stämme oft unbeweglich und erwerben eine Beweglichkeit erst nach mehreren Generationen durch Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden. Nun ist aber der Wert der groben Agglutination beinahe aller Immunsera viel höher als der der feinen, und da manche alte hochwirksame Immunsera fast überhaupt keine feinflockenden Agglutinine besitzen, so kann die Agglutination frisch aus dem Organismus gezüchteter Stämme so schwach ausfallen, daß sie in das Gebiet der Nebenagglutination fällt. Ein aus dem Stuhl gezüchteter unbeweglicher fein ausflockbarer Typhus (Typ. III α) und ein aus der Lymphdrüse eines an Cholera nostras gestorbenen Menschen isolierter Paratyph. B hatten ein derartiges Ergebnis. Der Typhus verlor schon nach zwei Passagen die Unbeweglichkeit, während sich der Paratyphus B im Laufe einer zweiwöchentlichen Beobachtung auch im Erschöpfungsversuch als reine O-Form gezeigt hat. Seine ruhenden Kulturen wurden nach 4 Wochen wieder geprüft und zu dieser Zeit alle als beweglich und auch grob agglutinabel gefunden. Auch die aus alternden Typhus 1-Kulturen gezüchtete Variante vom Typus III β , welche als schwer agglutinable O-Formen zu betrachten sind, sind erblich inkonstant. Im Gegensatz zu den oben erwähnten, frisch aus dem Organismus gezüchteten O-Formen, bei welchen der Rückschlag in die normale Form so vollkommen ist, daß O-Formen überhaupt nicht mehr auffindbar sind, ist der Umschlag des Typus III β kein totaler. Neben den gut agglutinablen Rückschlägen ist auch der veränderte Typus III β isolierbar. Das mit einer Variante von Typus III β hergestellte Immunserum unterscheidet sich von einem gewöhnlichen Immunserum nur dadurch, daß der Wert der feinflockenden Agglutinine desselben höher ist, als der der groben. Typus III wurde, wie nach obigen Versuchen zu erwarten war,

durch das eigene Serum auch nicht besser ausgeflockt, als durch das Immuserum vom Typus I α .

Variante 1b. Aus einer ungefähr zwei Monate alten Bouillonkultur wurde diese in Gärtner- und Typhuserum vollständig inagglutinable Variante gezüchtet, welche mit Typhuserum sensibilisiert kein Komplement gebunden (Tabelle III) hat und im Castellanischen Versuch die Typhusagglutinine intakt ließ. Nur durch Tierversuch gelang es, dieselbe als vom Typhus abstammend zu erkennen; nach dreimaliger intravenöser Injektion eines Kaninchens erzeugte sie nämlich ein Immuserum, welches neben typischen Typhusagglutininen auch für den erzeugenden Stamm Agglutinine resp.

Tabelle III.
Komplementbindungsversuch mit den
Varianten 1b und 4a.

		Ty 901 ²⁾	Ty 1 b	Ty 4 a	Gärtner
Immuserum Ty 1 ¹⁾ (normal)	25	0	st	k	0
	100	0	st	k	0
	200	0	k	k	0
	500	0	k	k	0
	1000	0	k	k	Sp
	2000	fk	k	k	st
Immuserum Ty 1 b	25	0	0	Sp	0
	100	0	0	fk	fk
	200	0	0	k	k
	500	st	0	k	k
	1000	k	0	k	k
	2000	k	st	k	k
Immuserum Ty 4 a	20	0	0	0	—
	50	0	Sp	0	—
	100	0	k	0	—
	200	0	k	0	—
	500	fk	k	st	—
	1000	k	k	k	—

1) Analoges Resultat haben Komplementbindungsversuche mit sieben normalen Typhusimmusera ergeben.

2) Analoges Resultat haben Komplementbindungsversuche mit acht Typhusstämmen (agglutinable und inagglutinable Typhi mit gewöhnlichen Rezeptoren) ergeben.

Bezüglich der Technik siehe Weil und Felix.

komplementbindende Antikörper enthielt. Der Komplementbindungsversuch ist in Tabelle III wiedergegeben. Es geht daraus hervor, daß das Immunserum des typischen Typhus nur mit sich selbst sowie entsprechend der Gemeinsamkeit der kleinflockenden Agglutinine mit Gärtnerkomplement bindet. Das Immunserum der Variante 1 b hingegen bindet in erster Linie stark mit dem erzeugenden Stamm wesentlich schwächer mit dem typischen Typhus Komplement. Schon dieser Umstand weist darauf hin, daß eine Gemeinsamkeit von komplementbindenden Antigenen, die nur im Tierversuch zum Ausdruck gelangen, zwischen der Variante und dem typischen Typhus bestehen. Die Vermutung, daß diese Agglutinine mit den gewöhnlichen Typhusagglutininen nicht identisch sind, wurde auch durch einen Erschöpfungsversuch bekräftigt (Tab. IV). Es wurde damit einwandfrei bewiesen, daß wir es hier mit einem derart veränderten Typhusbazillus zu tun

Tabelle IV.

Erschöpfungsversuch mit der Variante und Immunserum 1 b.

	Immunserum 1 b (nativ)			Immunserum 1 b erschöpft mit 901 (normal)			Immunserum 1 b erschöpft mit 1 b		
	Ty 901 (norm.)	Ty 1 b	Hühnerty	Ty 901	Ty 1 b	Hühnerty	Ty 901	Ty 1 b	Hühnerty
100	+++	+++	++	+	+++	0	+++	0	+
200	+++	+++	+	0	+++	0	+++	0	0
500	+++	+	+	0	+	0	+++	0	0
1000	++	0	—	0	0	0	+++	0	0
2000	+	0	—	0	0	0	++	0	0
5000	0	0	—	0	0	0	±	0	0
Art der Agglutination	gr fein	fein	fein	—	fein	—	gr	—	—

	Immunserum 5 (normal) nativ		Immunserum 5 erschöpft mit 1 b
	Ty 901 (norm.)	Ty 1 b	Ty 901
200	+++	0	+++
2000	+++	0	+++
5000	++	0	++
20 000	±	0	+
NaCl	0	0	0

Bezüglich der Technik siehe Weil und Felix.

haben, welcher die labilen Typhusrezeptoren nur in einer durch Tierversuchen nachweisbaren Menge besitzt und einen neuen stabilen Hauptrezeptor erworben hat. Denn dieser Versuch zeigt zunächst, daß im Immunserum der Variante Ib, welche vom Typhusserum überhaupt nicht agglutiniert wird, gegen Typhus Agglutinine vorhanden sind, die den Typhus grob und fein ausflocken, während die Variante 1b selbst nur fein agglutiniert wird. Auch Hühnertyphus, der nach den Untersuchungen von Gruschka (12) nur die stabilen Rezeptoren besitzt, wird in feinen Flocken agglutiniert. Während nun die Behandlung dieses Immunserums mit Typhus die Agglutinine für Typhus und Hühnertyphus erschöpft, läßt sie die Agglutinine für die Variante intakt. Die Behandlung mit der Variante hingegen entfernt die feinflockenden Agglutinine für Typhus, der dann nur grob ausgeflockt wird, sowie für Hühnertyphus ebenso wie die eigenen Agglutinine. Außerdem sind gemeinsame stabile Nebenrezeptoren mit Typhus, resp. mit Hühnertyphus vorhanden, was sowohl in Agglutinations- als insbesondere in Komplementbindungsversuchen in Erscheinung tritt. Diese Variante erwies sich nach einem Jahre geprüft erblich konstant.

Auch eine spontanagglutinable Variante des Stammes Typhus 1 gelang es zu isolieren, und zwar vom Typus VI β , deren Spontanagglutinabilität wesentlich abnahm; dieselbe ist vermutlich eine auch in ihrem Rezeptorenapparat veränderte Form. Sie wurde genauer nicht verfolgt. Es sei hier noch erwähnt, daß ein mit Typhus 1 hergestelltes Immunserum grobflockende durch den erzeugenden Stamm nicht erschöpfbare Agglutinine gegen Gärtner enthält. (Siehe in Tabelle IV Immunserum 1b erschöpft mit Typhus 1b.) Dasselbe haben schon Weil und Felix beobachtet und unter dem Namen „übergreifende labile Rezeptoren“ beschrieben (siehe Weil und Felix, 4). Diese Phänomene werden mit der enormen Empfindlichkeit des tierischen Organismus gegenüber den labilen Rezeptoren erklärt.

Typhus 2 ist ein schwer agglutinabler Stamm. Er wird zwar grob und fein bis zum Endtiter des Immunserums agglutiniert, doch ist das Agglutinat desselben nicht so voluminös, wie bei leicht ausflockbaren Stämmen, auch ist die überstehende Flüssigkeit stets stark trüb (siehe Weil und Felix). Diese schwere Agglutinabilität beruht darauf, daß die hellen durchscheinenden Kolonien des Ausgangstammes beständig eine trübwachsende Varietät abspalten, welche sich serologisch von den vorerwähnten leicht agglutinablen (Typus I α) durch vollständige Inagglutinabilität (Typus IV) unterscheidet. Es gelang uns weder Typus I noch Typus IV dauernd rein zu erhalten. Die Abspaltung des anderen Typus erfolgt augenscheinlich gesetzmäßig, und dadurch ändert sich der Typus der Agglutination. Ähnliches fand Baerthlein (3) bei einem Coli und beschreibt auch dieses merkwürdige Verhältnis der Agglutinabilität bei hellwachsenden und gelblichweißen Gärtner-Kolonien. Die letzteren wurden durch ein hochwertiges Immunserum nicht deutlich ausgeflockt (1 : 100) und erzeugten ein Immunserum, welches diese gelblichweiße Variante selbst nur 1 : 1000, die hellen Kolonien gleichzeitig 1 : 10000 stark agglutiniert. Er zieht daraus den folgenden Schluß: „Wir finden also einen auffallenden Gegensatz zwischen agglutininbildender und agglutininbindender Fähigkeit, ähnlich wie es Sobernheim und Seligmann feststellen konnten.“ Zu einem ganz anderen Schluß zwingt jedoch die Untersuchung der von uns isolierten inagglutinablen Variante, obwohl sie hinsichtlich ihres biologischen Verhaltens dem Coli Baerthleins analog ist. Denn behandelt man ein Typhusimmunserum mit der trübwachsenden inagglutinablen Varietät, so verliert es seine beiden Agglutinine. Sie bindet die Typhusagglutinine und, mit einem Typhusimmunserum sensibilisiert, adsorbiert sie nicht weniger Komplement, als leicht agglutinable Stämme. Auch diese Typhusvariante erzeugte ein Immunserum, welches die normal ausflockbaren Typhi 1 : 5000, sie selbst nur in der Verdünnung 1 : 100 bis 200 agglutinierte. Diese Varietät gehört in jene Gruppe inagglutinabler Bakterien, bei welchen die Inagglutinabilität mit erhöhter Stabilität der Bakteriensuspension infolge veränderter physikalisch-

chemischer Beschaffenheit des Bakterienproteins erklärt wird. Es wäre irrig, wenn wir uns zu diesem Schluß, den Baerthlein bloß infolge der fehlenden Agglutinabilität gezogen hat, verleiten ließen, denn wir sehen, daß die bindenden Gruppen der inagglutinablen Typhusformen intakt sind, so daß von einer Diskrepanz zwischen Antikörperbindung und Antikörpererzeugung hier keine Rede sein kann. Neben den oben erwähnten Eigenschaften besitzen dieselbe die von Porges und Prantschov beschriebene Fähigkeit, durch Erhitzen auf 100° die Agglutinabilität wiederzugewinnen. Dieser Beobachtung kommt neben der großen theoretischen eine geringe praktische Bedeutung zu. Die auf 100° erhitzten Bakterien verlieren nämlich ihre für Typhus charakteristische grobe Ausflockbarkeit. Andere wieder werden dadurch hyp- oder spontanagglutinabel, so daß die obige Methode der spezifischen Bindung bei der Identifizierung solcher Stämme der durch Erhitzen vorzuziehen ist. Dieser Gruppe (Typus IV) sind jene inagglutinablen Bakterien gegenüberzustellen, bei welcher die Ursache der Inagglutinabilität im Fehlen, resp. in der Armut an Rezeptoren beruht. Die vorige Art der Inagglutinabilität könnte als physikalisch-chemische, die letztere als biologische bezeichnet werden. In welchem Maße die zwei Komponenten bei der Hyp- resp. Inagglutinabilität der auf aktiven oder immunserumhaltigen oder bei 42° gezüchteten Typhuskulturen eine Rolle spielen, wird sich durch exakte Rezeptorenanalysen klären lassen.

Typhus 4. Aus diesem Typhusstamm wurde eine Variante, mit 4a bezeichnet, mit folgenden Eigenschaften isoliert. Nach der Isolierung wies dieselbe Spontanagglutinabilität auf, verlor sie jedoch nach einigen Ueberimpfungen. Im Typhusserum war sie grob und hypagglutinabel, im Gärtner serum dauernd inagglutinabel. Die grobe Agglutinabilität unterliegt jedoch beträchtlichen Schwankungen. Der Erschöpfungsversuch im Stadium der fehlenden groben Agglutinabilität ergab folgendes Resultat (Tabelle V). Die Typhusagglutinine blieben vollkommen intakt. Mit 7 Typhusseren geprüft, blieb die Komplementbindung negativ. Im Stadium der groben Flockbarkeit wurden aus dem Typhusserum nur

die grobflockenden Agglutinine entfernt (Tabelle VI). Damit ist der biologische Bau dieser Variante genügend charakterisiert. Es fehlen die stabilen Hauptrezeptoren der typischen Typhusstämmen, was auch mit der negativen Komplement-

Tabelle V.

Erschöpfungsversuch mit der Variante 4a im Stadium der Spontanagglutinabilität.

	Serum nativ		Serum erschöpft mit 4 a		Serum erschöpft mit 901 (norm.)		
	Ty 4a	Ty 901 (norm.)	Ty 4a	Ty 901	Ty 4a	Ty 901	
Ty-Immuns- serum 4 a	200	++	++±	++	++±	++	0
	1000	++	++±	++	++±	++	0
	5000	++	++	++	++	++	0
	20 000	++	+	++	+	++	0
	Art der Aggl.	—	gr	—	gr	—	—
Gärtner- Immuns- serum	200	++	+++	++	+++	++	±
	1000	++	+++	++	+++	++	0
	2000	++	+++	++	+++	++	0
	5000	++	++	++	++	++	0
	Art der Aggl. NaCl	—	fein 0	—	fein 0	—	— 0

Technik: siehe Weil und Felix.

Tabelle VI.

Erschöpfungsversuch mit der Variante 4a im Stadium der groben Ausflockbarkeit.

	Serum nativ		Serum erschöpft mit 4 a		Serum erschöpft mit 4 ¹⁾ (norm.)		
	Ty 4 ²⁾ (norm.)	Ty 4a	Ty 4 ²⁾	Ty 4a	Ty 4 ²⁾	Ty 4a	
Ty-Immuns- serum S. S.	500	+++	++	+++	+	0	0
	2000	+++	++	+++	0	0	0
	10 000	+++	++	0	0	0	0
	50 000	++	++	0	0	0	0
	200 000	±	±	0	0	0	0
Art der Agglut.	gr	fein	gr	fein	—	—	—
Gärtner- Immuns- serum	500	+++	0	+++	0	0	0
	2000	+++	0	+++	0	0	0
	5000	++	0	++	0	0	0
	10 000	0	0	+	0	0	0
	Art der Agglut. NaCl	fein 0	— 0	fein 0	— 0	— 0	— 0

1) und alle gleichzeitig geprüfte agglutinable und „phys.-chem.“ inagglutinable Stämme.

2) und alle gleichzeitig geprüfte leicht agglutinable Stämme.

10*

bindung übereinstimmt, vollständig. Was die labilen Rezeptoren betrifft, so sind dieselben im Stadium der groben Ausflockbarkeit vorhanden, gehen jedoch im Stadium der In- und Spontanagglutinabilität verloren, was nach den bisher mitgeteilten Befunden seinen Grund in der wechselbaren Begeißelung haben dürfte.

Um hinsichtlich der eigenen Rezeptoren dieser Variante Klarheit zu erlangen, wurde ein Kaninchen injiziert, welches ein Immuserum mit folgenden Eigenschaften lieferte (Tabelle V). Dasselbe enthält nur grobflockende Agglutinine für Typhus (1:20 000) und beeinflusst Gärtner schwach (1:200) den erzeugenden Stamm jedoch überhaupt nicht. Sie ist aber nicht bloß eine Verlustvariante; sie besitzt einen neuen Hauptrezeptor, welcher zwar agglutinatorisch mit lebenden Bakterien geprüft, nicht bemerkbar ist, jedoch durch Methoden, welche Rezeptoren physikalisch-chemisch inagglutinabler Bakterien erkennen lassen, leicht und einwandfrei demonstrabel ist. Auf 100° erhitzt, wird sie durch das eigene Serum bis 1:2000, der gewöhnliche Typhus hingegen nur geringgradig ausgeflockt (Tabelle VII). Die Komplementbindung (Tabelle III) läßt den neu erworbenen Rezeptor ebenfalls deutlich erkennen. Daß auch der normale Typhusstamm, wie aus der Tabelle hervorgeht, mit Variantenserum 4a Komplement bindet, findet seine befriedigende Erklärung darin, daß dieser ein sehr wirksames komplementbindendes Antigen darstellt, so daß zur Komplementverankerung der geringe kleinflockende Titer genügt, während der stark eigenhemmende 4a im Gegensatz zu den normalen Typhus-

Tabelle VII.

Agglutination und Erschöpfungsversuch mit Variantenserum 4a.

	Serum nativ			Serum erschöpft mit Gärtner		
	Ty 901 100° (norm.)	Ty 4 a 100°	Gärtner lebend	Ty 901 100°	Ty 4 a 100°	Gärtner lebend
100	+	+	+	0	++	0
200	±	+	0	0	+	0
500	0	+	0	0	+	0
1000	0	±	0	0	+	0
2000	0	±	0	0	±	0
NaCl	0	0	0	0	0	0

stämmen sich zur Komplementbindung sehr schlecht eignet. Durch die Anwendung einer nur geringen Antigenmenge wird die Stärke der Komplementbindung sehr beeinträchtigt.

Es gelang uns im Laufe wiederholter Versuche eine weitere mit der oben geschilderten, wahrscheinlich vollständig identische spontanagglutinable Variante zu isolieren. Die Variante 4a erwies sich nach einem Jahre geprüft als konstant.

Typhus 5, der sich nach den Untersuchungen von Weil und Felix agglutinatorisch wie Ty 2 verhält, ist, ähnlich wie dieser, ein Gemisch von 2 durch beständige Abspaltung des anderen Typus dauernd nicht rein züchtbaren Agglutinationstypen, welche in der Tabelle I mit Typus I α und II α bezeichnet sind.

Von den aus alternden Kulturen gezüchteten serologisch veränderten Varianten des Typhus 5 wollen wir nur die näher geprüfte 5 g beschreiben. Dieselbe war mittels serologischer Reaktionen mit Typhus-Immuneserum als Typhus nicht zu erkennen. Sie war inagglutinabel, auf 100° erhitzt, flockte sie spontan. Sie hat die Typhusagglutinine nicht gebunden und kein Komplement adsorbiert. Auch das durch sie selbst erzeugte Immuneserum ist auf den erzeugenden Stamm agglutinatorisch unwirksam gewesen. (Inagglutinabler Stamm.) Daß dieses jedoch als ein Typhus-Immuneserum, und als solches sogar als spezifisches Immuneserum bezeichnet werden kann, geht daraus hervor, daß es nur Typhusbazillen (1:50000), Gärtner-Hühnertyphus, Paratyphus B überhaupt nicht (1:200) agglutinierte. Es enthält nur die für Typhus spezifischen, labilen Rezeptoren. Daß es mit Typhusbazillen nur wenig, mit Gärtner überhaupt nicht Komplement bindet, ist nach Versuchen von Weil zu erwarten, da die grobflockenden Agglutinine, die es in großen Mengen besitzt, bei der Komplementbindung nur eine sehr geringe Rolle spielen. Es ist aber auch jene Tatsache, daß die Variante 5g die erzeugten grobflockenden Agglutinine nicht bindet, ohne Annahme einer Verschiedenheit der erzeugenden und bindenden Rezeptoren erklärlich (siehe auch Abschnitt IV), denn der labile Rezeptor des Typhusbazillus ist ein sehr

wirksames Antigen. Die minimalsten, im Erschöpfungsversuch nicht nachweisbaren Mengen labiler Rezeptoren genügen zur Erzeugung eines hochwirksamen Immunserums. Zur Komplementbindung hat sich diese Variante wegen starker Eigenhemmung nicht geeignet.

Der nach mehrjährigen Erfahrungen konstant und einheitlich gebliebene, leicht agglutinable Typhus 901 erwies sich auch unter den oben geschilderten Bedingungen, welche bei den anderen 4 Typhusstämmen zur Abspaltung sorologisch veränderter Varianten geführt haben vollständig konstant. Vor Abschluß unserer Versuche gelang bloß die Isolierung einer zunächst spontan agglutinablen Modifikation (901 b), welche, nach einem Jahre geprüft, die Spontanagglutinabilität verloren hatte und sich im Typhus-Immunserum leicht ausflockbar erwies. Diese bestand aus zwei Varietäten vom Typus I α und Typus II (rein grob). Bald nach ihrer Isolierung wurde mit 901 b ein I.-S. hergestellt, um den serologischen Bau dieser Variante zu prüfen. Dieses I.-S. enthielt die gewöhnlichen grob- und feinflockenden Typhusagglutinine. Gegen den erzeugenden Stamm war infolge der Spontanagglutinabilität eine Prüfung nicht möglich. Doch wurden Komplementbindungsversuche angestellt, und zwar zunächst vergleichend mit 901 Ausgangsstamm der Variante 4 a und 901 b. Als I.-S. wurde ein gewöhnliches Typhus-I.-S. 5 und das I.-S. des Stammes 4 a gewählt (Tabelle VIII).

Das Resultat dieses Versuches lehrt, daß das gewöhnliche Typhus-I.-S. mit Typhus 901 Ausgang stark, mit der Variante 901 b schwach (höchstens $\frac{1}{20}$ Titer) mit 4 a überhaupt nicht reagiert. Dahingegen hat das I.-S. 4 a mit 901 b sehr stark reagiert, mit dem eigenen Stamm 4 a schwächer, jedoch deutlich stärker als mit 901 Ausgang. Dieser Umstand legt den Gedanken nahe, daß 901 b und 4 a serologisch identisch sind und die quantitative Differenz im Komplementbindungsversuch nur darauf zurückzuführen sei, daß 901 b ein besseres Antigen darstellt, denn er reagiert ja mit I.-S. 4 a besser als der eigene Stamm. Die Reaktion des I.-S. 4 a mit Typhus 901 ist als Mitreaktion mit dem gut komplementbindenden 901 Antigen anzusehen.

Tabelle VIII.
Komplementbindungsversuch mit den spontan-
agglutinablen Varianten 4a und 901b.

		Ty 901 norm.	Ty 4 a	Ty 901 b		
A.						
Immuneser. 5 (norm.)	25	0	k	0		
	50	0	k	0		
	200	0	k	k		
	500	0	k	k		
	1000	0	k	k		
Immuneser. 4a	25	0	0	0		
	50	0	0	0		
	200	0	0	0		
	500	fk	st	0		
	1000	k	k	0		
B.						
Immuneser. 901 b nat.	50	0	0	0	Gärtner	0
	100	0	0	0		0
	200	0	0	0		0
	500	Sp	k	0		fk
	1000	st	k	0		fk
Immuneser. 901 b ersch. mit Gärtner	50	st	0	0		st
	100	st	0	0		fk
	200	st	0	0		fk
	500	k	k	0		fk
	1000	k	k	0		fk ¹⁾

Technik, Bezeichnung s. bei Weil und Felix.

Hier mußten Bindungsversuche Klarheit bringen. Durch Beseitigung der komplementbindenden spezifischen Typhusantikörper müßte es sich zeigen, ob eigene Antikörper gegen 901 b auch vorhanden und ob diese mit den Antikörpern von 4a identisch sind. Um ganz einwandfreie Versuchsbedingungen zu schaffen, wurde die Erschöpfung mit Gärtner vorgenommen, dessen komplementbindendes Antigen mit dem des Typhus, wie mehrfach erwähnt, identisch ist (Tabelle VIII B).

Es geht nun aus diesem Versuche mit Eindeutigkeit hervor, daß der Stamm Gärtner nur die Typhus-, resp. Gärtner-Antikörper erschöpft, dahingegen die Komplementbindung gegen 901 b und 4a intakt läßt, wodurch die serologische Identität beider Stämme erwiesen scheint. Das Resultat dieses Versuches ist insofern von

1) Kontrolle fk (sonst überall k).

Wichtigkeit als es beweist, das zwei Typhusstämmen von ganz verschiedener Provenienz dieselben Varianten abspalten, was auch von Breinl bei Dysenterie gezeigt wurde.

Wir wollen die Besprechung unserer experimentellen Ergebnisse nicht beschließen, ohne darauf hinzuweisen, daß wir nur einen geringen Bruchteil unserer Versuche, die ausnahmslos mehrfach wiederholt wurden, hier wiedergegeben haben. (Das gilt auch für die anderen von uns verfaßten Mitteilungen.)

Schlußbemerkungen.

Aus den oben mitgeteilten Versuchen geht zweifellos hervor, daß Typhusbakterien existieren, deren Diagnose durch einfache serologische Methoden nicht möglich ist. Wenn wir noch die von anderer Seite beschriebene große Variabilität des morphologischen Aussehens von Typhuskolonien berücksichtigen, ergeben sich große Schwierigkeiten der Identifizierung mancher atypischer Stämme. Es ist von theoretischem und praktischem Interesse, dieselben genau zu verfolgen, was durch die Rezeptorenanalyse bei Berücksichtigung der Doppelnatur der Rezeptoren möglich ist. Bei den mit dem Immuns serum des Ausgangsstammes ganz oder partiell inagglutinablen Bakterien muß man neben der „physikalisch-chemischen“ Inagglutinabilität auch die Möglichkeit eines Rezeptoren mangels, resp. einer Rezeptorenänderung in Betracht ziehen („biologische Inagglutinabilität“). Es sei noch erwähnt, daß die Extrakte unserer Varianten von Typus IV (inagglutinable Stämme) ebenso gut präzipitiert wurden als Extrakte leicht agglutinabler Typhi. Im allgemeinen können aber inagglutinable Stämme nur durch Immunisierung von Kaninchen und durch einen Erschöpfungsversuch diagnostiziert werden, da durch die Komplexbindung und Agglutination mit auf 100° erhitzten Aufschwemmungen gerade das artspezifische Antigen, der labile Rezeptor des Typhusbazillus sich nicht erkennen läßt. Von großem praktischen Interesse ist die partielle biologische Inagglutinabilität unbeweglicher Typhi (s. Abschnitt V und VII). Die Identifizierung der spontan agglutinablen Bakterien, welche schon aus dem Grunde erforderlich ist, weil diese häufig im

Rezeptorenapparat veränderte Stämme sind, geschieht genau so, wie die der inagglutinablen Bakterien.

Im Anschluß an die obigen Versuche haben wir die Säureausflockbarkeit mehrerer normaler Typhusstämme und Varianten geprüft. Diese theoretisch wertvolle Entdeckung von Michaelis (14) hat sich nach zahlreichen Untersuchungen praktisch nicht bewährt (15). Unsere Versuche, wonach alle atypischen Stämme überhaupt nicht oder nur in Spuren agglutinabel waren, deuten darauf hin, daß sich auf diesem Wege eine Veränderung gegenüber dem Originalstamm feststellen läßt. Sie haben auch zu jener interessanten Beobachtung geführt, daß Bakterien, welche sich zur Säureagglutination eignen, zwei Optima besitzen. Die Art der Agglutinabilität ist bei dem einen eine grobe, beim anderen eine feine. Die auf 100° erhitzten oder mit Alkohol behandelten Bakterien verlieren, entsprechend der groben Agglutinabilität in Immunsera, auch die grobe Säureausflockbarkeit und das entsprechende Optimum. Die labilen Rezeptoren sind säureempfindlicher; die Agglutination ist eine reversible. Es läßt sich aber dieses Verhalten unter den von uns untersuchten Stämmen nur bei Typhus und *Proteus X 19* demonstrieren. Die auch derart feststellbaren Verschiedenheiten dieser zwei Typen von Antigenen weisen auf eine chemisch-physikalische Verschiedenheit derselben hin.

Zusammenfassung.

Es wurden 5 Typhusstämme bei Berücksichtigung der Doppelnatur der Rezeptoren und Durchführung einer Rezeptorenanalyse auf die Variationsfähigkeit der serologischen Eigenschaften geprüft. Dabei wurde folgendes festgestellt:

1) Bei Typhus 1: a) Feinagglutinable Varianten, bei welchen das Fehlen der groben Agglutinabilität durch Mangel an labilen Rezeptoren bedingt ist. Dieselben sind erblich nicht fixiert, denn sie spalten beständig den normalen Typhus ab.

b) Die Variante Typhus 1 b, welche die spezifischen labilen Typhusrezeptoren in so geringer Menge besitzt, daß sie nur bei Immunisierung durch Erzeugung eines grobflockenden Typhusimmenserum hervortreten. Sie besitzt hingegen eigene, neuerworbene stabile Hauptrezeptoren. Diese Variante ist mit

einem gewöhnlichen Typhusimmunserum weder durch Agglutination noch durch Komplementbindung oder Castellani'schen Versuch als Typhus erkennbar.

2) Aus Typhus 2: Leicht agglutinable, helle Kolonien, vollständig inagglutinable, trübe Kolonien. Beide besitzen die typischen Typhusrezeptoren. Letztere ist aus physikalisch-chemischen Gründen inagglutinabel. Beide erblich inkonstant.

3) Aus Typhus 4: Die Variante 4a, welche den stabilen Typhushauptrezeptor verloren und einen neuen stabilen Hauptrezeptor erworben hat. Labile Rezeptoren sind entweder überhaupt nicht oder nur in geringer Menge nachweisbar. In ersterem Falle ist auch dieser Stamm nicht als Typhus zu diagnostizieren. Diese Variante ist erblich konstant.

4) Aus Typhus 5: Die Variante 5g, deren Typhusnatur nur durch Erzeugung eines rein grobflockenden Typhusimmunserums, was durch einen geringen Rest von labilen Rezeptoren bedingt ist, erkannt werden kann. Diese Variante ist ebenfalls serologisch nicht als Typhus zu diagnostizieren. Ihr fehlen sicher die spezifischen stabilen Hauptrezeptoren des Typhus. Ihre eigenen stabilen Hauptrezeptoren sind einer Analyse weder durch Agglutination noch durch Komplementbindung zugänglich, da diese Variante spontanflockend und eigenhemmend ist.

5) Aus Typhus 901 wurde interessanterweise eine Variante gezüchtet, welche mit der Variante 4a identisch ist.

Die von Weil beobachtete Parallelität der Komplementbindung und kleinflockenden Agglutination wurde durch zahlreiche Versuche bestätigt, damit manche Diskrepanzen der Komplementbindung und Agglutination geklärt.

Die Säureagglutination von Michaelis läßt die zwei Typen von Rezeptoren (stabile und labile) durch verschiedene „Optima“ und Art der Agglutination (grob und fein) ebenfalls deutlich erkennen. Die meisten Varianten sind säurehyp- oder säureinagglutinabel. Eine „Verschiebung“ der Optima wurde nicht beobachtet.

Literatur.

- 1) Sobernheim und Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7.
- 2) Stromberg, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. 58.

- 3) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 71. Lit. ebenda.
— Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 81.
- 4) Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29.
- 5) Sobernheim und Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6.
- 6) Reiner Müller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, Ref.
- 7) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 73. Lit. ebenda.
- 8) Jacobson, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 56.
- 9) Fromme, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 58.
- 10) Trautmann, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 50.
- 11) Lingelsheim, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 68.
- 12) Gruschka, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920.
- 13) Weil, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31.
- 14) Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912.
- 15) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 83. Lit. ebenda.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygien. Institut der deutschen Universität in Prag.]

Variationsversuche mit Paratyphus β (Weil).

Von Dr. J. Fürth.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

Man hat sich schon seit der Entdeckung der Paratyphus B-Bakterien vielfach bemüht, innerhalb dieser großen Gruppe verwandter, jedoch nicht identischer Mikroorganismen eine nähere Einteilung zu treffen. Man wollte damit die Verschiedenheit des klinischen Bildes und der Tierpathogenität mit der Verschiedenheit dieser Keime begründen. Die bakteriologischen Methoden jedoch, die sich in erster Reihe auf die chemischen Leistungen der Bakterien bezogen, versagten auf diesem Gebiete vollständig und die auf Grund serologischer Verschiedenheiten aufgestellte Systematisierung wurde auch nicht allgemein anerkannt. Nach der Meinung der meisten Forscher herrsche in der Gruppe der Paratyphus B-Bakterien eine sehr große Variabilität und es sollen zwischen den aufgestellten Typen zahlreiche Uebergänge bestehen.

Der erste atypische Paratyphus B-Keim, dessen Abtrennung von gewöhnlichen Paratyphus B-Bakterien durch-

geführt wurde, ist der von Neukirch und Weil und Saxl 1917 isolierte, von Weil und Felix (1) serologisch eingehend untersuchte und von Weil als Paratyphus β bezeichnete Keim. Daß die Unterscheidung dieses Keimes von den gewöhnlichen Paratyphus B-Bakterien mit absoluter Sicherheit gelingt, findet seine Erklärung nicht etwa darin, daß er vom Typus viel wesentlicher abweicht als andere, schon beschriebene und bekannte atypische Stämme dieser Gruppe, sondern daß die letztgenannten Autoren die serologische Untersuchung dieses Keimes auf Grund der durch sie entdeckte Doppelnatur des Rezeptorenapparates durchgeführt haben, mit dem Ergebnis, daß Paratyphus β in serologischer Hinsicht sich mit dem Stamm Voldagsen als identisch erwies. Der auch von uns untersuchte Fleischvergifter Breslau zeigte mit den gewöhnlichen Paratyphus B-Bakterien keine viel nähere serologische Verwandtschaft als der Typhusbazillus mit dem Enterit. Gärtner. Ebenso wie der bekannte Fleischvergifter Aertryck dem Typus B in serologischer Beziehung nicht näher steht als β .

Um diese zweifellos berechtigte Abtrennung des Paratyphus B vom Paratyphus β noch fester zu begründen, schien eine Variationsuntersuchung, welche die erbliche Konstanz, resp. Variabilität, insbesondere aber die für wahrscheinlich oder sicher angesehene jedoch experimentell nicht einwandfrei bewiesenen Uebergänge, die hier bestehen sollen, studiert gerade mit diesem Keim von großem Interesse.

Wir befolgten die Methode von Bärthlein, um diesen auf gewöhnliche Art der Fortzucht, resp. Aufbewahrung seit drei Jahren erblich serologisch und kulturell vollständig konstant gebliebenen Keim zur Variation zu bringen. Zu dem Zwecke untersuchten wir alte Agar- und Bouillonkulturen von β durch Plattenaussaat und Abimpfung mehrerer gleicher und verschiedener Kolonien auf morphologische und serologische Konstanz.

Geprüft wurden der wolhynische Stamm von Weil und Saxl β 1 und der von Weil in Albanien gezüchtete β 5, dessen Verhältnis zueinander und zu dem gewöhnlichen Paratyphus B Figur 1 veranschaulicht. Die Verwandtschaft zwischen B und β dokumentiert sich im Besitze von gemeinsamen labilen Neben-

rezeptoren, daher die hohe Mitagglutination der entsprechenden Immunsera. β 1 und β 5 verhalten sich serologisch zueinander wie Proteus HX 19 zu OX 19. β 5 wird also im gewöhnlichen B-Serum überhaupt nicht und in β 1-Serum sowie im eigenen Serum nur fein ausgeflockt. Er besitzt jedoch die labilen Rezeptoren von β 1 auch in dem Maße, daß sie durch Immunisierung eines Kaninchens im Auftreten von grobflockenden Agglutininen gegen β 1 und B manifest werden. Alles das sind Feststellungen von Weil und Felix (1) welche, da zum Verständnis dieser Arbeit unbedingt notwendig, wiederholt werden müssen.

β war nicht leicht zur Variation zu bringen, es mußte öfters versucht, die gefundenen nur etwas veränderten Typen wieder zur Variation angesetzt werden. Wenn auch durch der-



Erklärung: Die stabilen Rezeptoren sind dunkel, die labilen hell gezeichnet.

artige Fortsetzung der Arbeit die Aussichten, weitere Varianten zu gewinnen, erfahrungsgemäß größer werden, haben wir nach der Isolierung der hier zu beschreibenden Varianten unsere Arbeit beendet, weil ihre Fortsetzung zu viel Zeit fordert und voraussichtlich prinzipiell nichts Neues mehr ergeben würde.

β XV und XVII. Die erste gezüchtete Variante von β 5 war, wie dies am häufigsten geschieht, ein spontan ausflockender Keim. Spontan agglutinable Bakterien sind dann als β zu erkennen, wenn sie die Hauptagglutinine des β -Immunserums binden (Castellanischer Versuch) oder mit dem Immunserum β Komplementbindung geben, β XV jedoch war derart als β nicht zu identifizieren. Um zu prüfen, welche Veränderungen er an seinem Rezeptorenapparat durchgemacht hat, haben wir ein Kaninchen immunisiert (3mal je eine Oese bei 60°, 30 Minuten abgetötete Agarkulturen intravenös in

Tabelle I.
Agglutinationsversuch mit Paratyphus β -Varianten.

Serumverdünnungen 1:		Immuneserum β 1				
		200	500	2000	10 000	
Bakterienemulsion	β 1	+++	+++	+++	++	grfein
„	β 5	+++	+++	+++	0	fein
Bakterienemulsion	β XVII inaggl.	\pm	0	0	0	
„	B 2	+	+	+	0	gr

Serumverdünnungen 1:		Immuneserum β XV				
		100	500	2000	10 000	
Bakterienemulsion	β 1	++	++	++	0	gr
„	β 5	0	0	0	0	
Bakterienemulsion	β XVII inaggl.	\pm	0	0	0	
„	B 2	+	+	+	0	gr

Serumverdünnungen 1:		Immuneserum β „XVII inaggl.“				
		100	200	1000	2000	
Bakterienemulsion	β 1	+	0	0	0	fein
„	β 5	0	0	0	0	
Bakterienemulsion	β XVII inaggl.	+++	\pm	++	\pm	fein
„	B 2	+	\pm	0	0	

gr = grob, grfein = grob- und feinflockige Agglutination.

Technik siehe bei Weil und Felix.

4-tägigen Zeitabständen). In der Tat gelang es derart, seinen Rezeptorenbau zu analysieren (Tabelle I B). Daraus geht hervor, daß er den stabilen Hauptrezeptor seines Ausgangstammes (β 5) vollständig verloren hat, jedoch besaß er die labilen Rezeptoren in der kümmerlichen Art wie β 5 (siehe Weil und Felix). Sein Immuneserum agglutiniert also B und β 1 (grob), nicht aber β 5.

Falls die Feststellung von Weil (2) über Komplementbindung, wonach diese hauptsächlich mit der feinkörnigen Agglutination parallel geht, allgemeine Gültigkeit hat, muß hier zwischen Komplementbindung und Agglutination ein Mißverhältnis bestehen in dem Sinne, daß das β 1 stark agglutinierende Immuneserum der Variante β XV mit β 1 kein oder

Tabelle II.
Komplementbindungsversuch.

Serum- verdünnungen 1:	A. Immuneserum β 1						B. Immuneserum β XV					C. Immuneserum β „XVII inaggl.“					
	25	50	100	200	500	1000	50	100	200	500	1000	25	50	100	200	500	1000
Bakt.-Emuls. β 1	0	0	0	0	0	0	0	0	st	k	k	k	k	k	k	k	k
Bakt.-Emuls. β XV gleich XVII	0	0	fk	k	k	k	0	0	0	0	w	0	0	0	0	st	k
Bakt.-Emuls. β „Zwerg“	0	0	w	fk	k	k	0	0	0	0	w						

0 = Hemmung, w = wenig, st = starke, fk = fast komplette, k = komplette Lösung.

Technik siehe bei Weil und Felix.

wenig Komplement bindet. Das war auch tatsächlich der Fall (Tabelle II B). Weiter zeigt der Komplementbindungsversuch, daß diese Variante einen neuen, vom Ausgangsstamm verschiedenen stabilen Hauptrezeptor erworben hat. Mittels der Komplementbindung stellten wir auch fest, daß alle mit β XV gleichzeitig isolierte spontanagglutinable Stämme, welche geringfügige Verschiedenheiten in der Kolonieforn oder im Grade der Spontanagglutinabilität aufgewiesen haben, mit β XV serologisch übereinstimmen, darunter auch β XVII, dessen Schicksal noch weiter verfolgt wurde.

Es kommt vor, daß Bakterien die Spontanagglutinabilität öfters nach einigen Bouillonpassagen verlieren. Manche verlieren sie auch von selbst (siehe Typhus 4 a), manche überhaupt nicht. Um die Agglutinabilität spontanagglutinabler Keime zu prüfen, ist es notwendig, die Spontanagglutinabilität zum Verschwinden zu bringen. In dieser Hinsicht untersuchten wir unter anderen β XVII und β XV. β XVII verlor zuerst die Spontanagglutinabilität durch Bouillonpassagen. Nun fragt es sich, ist das bloß eine Zustandsänderung oder wird dadurch auch der Rezeptorenapparat betroffen? β „XVII nicht spontanagglutinabel“ hat mit dem Immuneserum β XV genau soviel Komplement gebunden als der Stamm β XV und β „XVII spontanagglutinabel“, trotzdem β „XVII nicht spontanagglutinabel“ durch dieses Serum nicht ausgeflockt wurde.

Danach beurteilt, wäre nur eine Zustandsänderung von der Spontanagglutinabilität in die Inagglutinabilität erfolgt. Es hat sich aber in der Tat eine viel wichtigere Veränderung im Rezeptorenapparat dieses Bakteriums abgespielt. Darüber gibt uns das mit β „XVII inagglutinabel“ erzeugte Immunserum Aufschluß. Es hat nämlich keine Agglutinine für B, β 1 und β 5, wohl aber für β XVII inagglutinabel, wenn auch nicht von hohem Titer und starker Wirksamkeit (Tabelle I C). Diese Variante ist also serologisch eine vollständige Verlust- und Plus-Variante. Sie ist so tiefgreifend verändert, daß wir uns vor allem darüber orientieren müßten, ob wir es hier nicht mit einer Verunreinigung zu tun haben. Die bakteriologische Untersuchung und der in Tabelle II notierte Komplementbindungsversuch, wonach β XV mit Immunserum β XVII inagglutinabel genau soviel Komplement bindet als der erzeugende Stamm, schließt diese Möglichkeit vollständig aus. Trotzdem scheint die Komplementbindung durch gemeinschaftliche Nebenrezeptoren zustande gekommen zu sein.

β - „Zwerg“. Die Gewohnheit, beimpfte Platten mehrere Tage liegen zu lassen, um Verschiedenheiten der Kolonieforn deutlicher sehen zu können, führte zur Entdeckung dieser ungemein interessanten Variante, möglicherweise auch zum Verlust derselben.

Die Kolonien der „Zwerge“ erreichten nach 24 Stunden nur eine mit Lupe wahrnehmbare Größe und im Gegensatz zu dem Aertryck-„Zwerg“ (3) sind sie auch nicht wesentlich größer geworden. Nun bemerkten wir auf der 3 Tage alten Platte, daß in der Umgebung einer verunreinigenden gelben Kolonie (Luftkokken) die Zwergkolonien an Größe zugenommen hatten. Sie erreichten in der Nähe derselben die entsprechende Größe von Paratyphus β -Kolonien, und je weiter sie davon entfernt waren, desto kleiner waren ihre Kolonien. Die intakten Zwerge überimpft, bildeten nur Zwerg-, die größeren nur Kolonien von normaler Größe. Ein Komplementbindungsversuch ergab die serologische Identität der Zwerge mit ihrem Ausgangsstamm. Wir haben diese Symbiose nur noch zwei Generationen lang verfolgen können. Anderweitige Beschäftigungen haben uns gezwungen, die Arbeit zu unterbrechen.

Ihre Fortsetzung war aber leider wegen Verlustes der Zwerge nicht möglich. Es ist wahrscheinlich, daß wir hier mit einer nur einige Generationen lang und nicht dauernd vererbbaaren Veränderung zu tun hatten. Eine neuerliche Züchtung von Zwergkolonien aus dem β -„Zwerg-Rückschlag“ auf dem Wege, wie sie das erste Mal isoliert wurden (aus alternder Bouillonkultur), ist uns nicht gelungen.

Die oben beschriebenen Varianten stammen aus $\beta 5$. $\beta 1$ erwies sich viel konstanter als $\beta 5$. Seine im Laufe dieser Arbeit isolierten Varianten waren serologisch nicht stark verändert und erblich inkonstant, weshalb wir auf die nähere Beschreibung derselben, ebenso wie auf die von Baerthlein, Eisenberg u. a. bekanntgegebene Variabilität der Koloniebindung nicht eingehen wollen.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Variante vom Paratyphus $\beta 5$ beschrieben (β XVII), welche neben den B-Nebenrezeptoren auch die Hauptrezeptoren seines Ausgangsstammes verloren hat und neue Rezeptoren besitzt, und eine andere Variante (β XV), welche die Zwischenstufe (Kette) bildet zwischen dem Ausgangsstamm ($\beta 5$) und der extremen Variante β XVII.

Es wurde eine Zwergkolonie bildende Variante der oben erwähnten β XV beschrieben.

Literatur.

- 1) Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29.
- 2) Weil, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31.
- 3) Fürth, Rezeptorenanalyse und Variationsversuche mit B. Paratyphus Aertryck. Ebenda, dieses Heft.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag].

Rezeptorenanalyse und Variationsversuche mit B. Paratyphus Aertryck.

Von Dr. J. Fürth.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

I.

Historisches. Bei einer Fleischvergiftungsepidemie in Aertryck isolierte De Nobele (1) einen als Erreger dieser Epidemie angesehenen, sich kulturell als Paratyphus B erweisenden Keim, den er auf Grund seines serologischen Verhaltens vom Bacillus enteritidis Gärtner abtrennt und als Typus einer zweiten Hauptgruppe, der sich kulturell als Paratyphus B verhaltenden Keime angesehen hat. Diese Einteilung besteht auch heute noch. Die Meinungen jedoch über den Stamm Aertryck haben sich mit der Zeit geändert. Lentz (2) fand den Aertryck als einwandfreien Gärtner und als Typus der zweiten Gruppe bezeichnet er den Fleischvergifter von Flügge-Kaen. Böhme (3) Trautmann (3) und Uhlenhuth (3) halten Aertryck für Paratyphus B. Sobernheim und Seligmann (4) untersuchten diesen Keim eingehender und nahmen auf Grund ihrer Untersuchungen eine mit der Zeit erfolgte Umwandlung seiner serologischen Eigenschaften an. Sie stellten auch fest, daß er, trotzdem er in Gärtnereris hoch agglutiniert wird, ein Serum erzeugt, welches Gärtner nicht beeinflußt. Daraus schließen sie auf eine Diskrepanz in Agglutininbindung und Bildung und wiesen auf die große Bedeutung dieser Frage in bezug auf die Richtigkeit der Ehrlich'schen Theorie hin.

Wir unternahmen es, diese in der Literatur diskutierten Fragen durch eigene Versuche zu klären.

Die serologischen Beziehungen von Paratyphus B, β und Aertryck. Paratyphus B, β und Aertryck sind serologisch drei verschiedene, kulturell drei gleiche Stämme der Bakteriengruppe der Paratyphus B-Bakterien. Bis zur Zeit der Entdeckung der Doppelnaturen der Rezeptoren, bis

Tabelle I.
Agglutination mit lebenden Bakterien.

Serum- verdünnung	I.			II.			III.		
	In Serum Ae. I			In Serum β 1			In Serum B		
	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B
200	+++	++	+	++	+++	+	++	++	+++
500	+++	++	+	++	+++	+	++	++	+++
1 000	+++	++	+	++	+++	+	++	++	+++
2 000	+++	+	+	++	++	+	++	++	+++
5 000	+++	+	+	++	++	0	0	0	+
10 000	++	+	±	0	++	—	—	—	0
20 000	+	0	±	—	++	—	—	—	—
50 000	—	—	—	—	+	—	—	—	—
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Art der Aggl.	grfein	gr	gr	gr	grfein	gr	gr	gr	grfein

gr = grob, grfein = grob- und feinflockige Agglutination.

Technik siehe bei Weil und Felix.

zu welcher fast immer nur der Titer der Agglutination berücksichtigt wurde, hätte man diese Stämme, deren Sera gegenseitig hohe Agglutination geben (siehe Tabelle I), leicht für serologisch identisch gehalten, wenn die Agglutination nur in einem Serum angestellt wäre, wie das auch am häufigsten geschieht. Berücksichtigt man jedoch die Tatsache, daß in der Typhus-Paratyphusgruppe zwei verschiedenartige Rezeptoren vorhanden sind (Weil und Felix (5), die z. B. eine scharfe Unterscheidung des Paratyphus β von Paratyphus B ermöglichen, so erschien die Annahme gerechtfertigt, daß auch hier eine genauere Charakterisierung der einzelnen Keime durchzuführen wäre. Aus den Untersuchungen von Weil und Felix geht hervor, daß man z. B. im Alkohol ein Mittel besitzt, um die labilen Rezeptoren weitgehend zu zerstören (ebenso wirkt auch 1–2stündiges Erhitzen auf 100°), während die stabilen Rezeptoren diesen Eingriffen widerstehen. Nach Einwirkung des Alkohols auf die drei Stämme erhielt man nun ein Resultat, welches in der folgenden Tabelle II wiedergegeben ist. Wir entnehmen dieser Tabelle, daß ganz im Gegensatz zu dem in Tabelle I wiedergegebenen Versuche eine sehr hohe Spezifität der Immunsera zutage tritt, denn jeder Stamm wird nur durch das homologe Serum ausgeflockt. Diese Tatsache beweist, daß die stabilen Rezeptoren, welche

Tabelle II.
Agglutination mit „Alkohol-Bakterien“.

Serum- verdünnung	I.			II.			III.		
	In Serum Ae. I			In Serum β 1			In Serum B		
	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B
100	+++	0	0	±	+++	0	0	0	+++
200	+++	0	0	0	+++	0	0	0	+++
500	+++	0	0	0	+++	0	0	0	+++
1000	+++	0	0	0	+++	0	0	0	+++
2000	+++	0	0	0	+	0	0	0	+++
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Art der Aggl.	fein	—	—	—	fein	—	—	—	fein

Je zwei 24stündige Schrägagarkulturen obiger Bakterien wurden in 0,9-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt, 40 Minuten auf der elektrischen Zentrifuge zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen, der Bodensatz in 95-proz. Alkohol aufgeschwemmt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, der Alkohol abzentrifugiert und der 2mal in NaCl-Lösung gewaschene Bakterienrückstand in NaCl-Lösung aufgenommen.

die kleinflockigen Agglutinine erzeugen und nur mit diesen in Reaktion treten, bei allen drei Stämmen vollkommen verschieden sind. Das Uebergreifen der Agglutination, wie es aus Tabelle I ersichtlich ist, erfolgt nur durch die grobflockenden Agglutinine, resp. durch die labilen Rezeptoren.

Eine weitere Möglichkeit, eine Rezeptorenanalyse durchzuführen, bietet der Bindungsversuch, den wir auf die Weise durchführten, daß wir das Immunserum eines jeden Stammes mit allen drei Stämmen behandelten und nach der Behandlung auf alle drei Stämme prüften (Tabelle III). Aus diesem Versuche geht hervor, daß die drei Sera, mit den homologen Stämmen behandelt, auch für die beiden anderen Stämme unwirksam werden, und daß die fremden Stämme aus allen drei Seren nur die eigenen Agglutinine binden. Während im Serum Aertryck der Stamm β die Agglutinine gegen Aertryck und B vollkommen unberührt läßt, der Stamm B eine deutliche Abschwächung gegenüber Aertryck bewirkt, wird das Immunserum des Stammes β nach Behandlung mit dem Stamm Aertryck auch gegenüber dem Paratyphus B vollkommen unwirksam; und in Uebereinstimmung mit diesem Befund bindet auch aus Paratyphus B-Immunserum der Stamm Aertryck nicht nur die eigene, sondern auch die Agglutinine gegen den

Tabelle III.
Erschöpfungsversuch.

Serum- verdünnung	Serum unerschöpft			Serum erschöpft mit Ae. I			Serum erschöpft mit β 1			Serum erschöpft mit B			
	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B	Ae. I	β 1	B	
Serum Aertryck I	200	+++	++	+	±	0	0	+++	+	+	++	+	±
	500	+++	++	+	0	0	0	+++	+	+	++	+	0
	1000	+++	+	+	0	0	0	+++	0	+	+	+	—
	2000	+++	+	+	—	—	—	+++	—	+	+	+	—
	5000	+++	+	+	—	—	—	++	—	±	±	±	—
	10000	++	+	±	—	—	—	±	—	0	—	—	—
20000	+	0	±	—	—	—	±	—	0	—	—	—	
Serum β 1	200	++	+++	+	0	+++	0	0	0	0	++	++	0
	500	++	+++	+	0	+++	0	0	0	0	++	++	0
	1000	++	+++	+	0	+++	0	0	0	0	++	++	0
	2000	++	++	+	—	++	—	—	—	—	++	++	—
	5000	++	++	0	—	++	—	—	—	—	++	++	—
	10000	0	++	—	—	++	—	—	—	—	0	++	—
20000	—	++	—	—	++	—	—	—	—	—	++	—	
50000	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	
Serum B	200	++	++	+++	0	0	+++	++	0	+++	±	0	0
	500	++	++	+++	0	0	+++	+	0	+++	0	0	0
	1000	++	++	+++	0	0	+++	±	0	+++	0	0	0
	2000	++	++	+++	—	—	+++	—	—	+++	—	—	—
	5000	0	0	+	—	—	±	—	—	—	—	—	—
	10000	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—	—
Kontr.	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Technik siehe bei Weil und Felix.

Paratyphus β . So zeigt dieser Versuch, daß diese drei Stämme vollkommen different sind, insofern als jeder einen eigenen labilen Hauptrezeptor besitzt, resp. grobflockende Agglutinine erzeugt, was aus der Nichterschöpfbarkeit durch die fremden Stämme hervorgeht. Das Uebergreifen erfolgt durch labile Nebenrezeptoren.

Die serologischen Beziehungen von Aertryck und Gärtner. Aertryck wird nach Versuchen von Sobernheim und Seligmann in fast allen Gärtnerseren hoch agglutiniert, jedoch beeinflußt sein Serum die Gärtnerstämme nicht. Selbst wenn diese Beobachtung richtig wäre, könnte man daraus nicht auf eine Diskrepanz in Agglutininbildung und Bindung schließen. Man braucht nur anzunehmen, daß Gärtner die Hauptrezeptoren von Aertryck in so minimaler Menge besitzt, daß sie nicht zur Agglutination, wohl aber zur

Erzeugung von Agglutininen vollständig genügen. Schon Ehrlich hat darauf hingewiesen, daß das beste Reagens zum Nachweis von Rezeptoren der tierische Organismus ist, und Weil und Felix haben gezeigt, daß von verschiedenen Stämmen aus der Typhusgruppe grobflockende Agglutinine erzeugt, nicht aber von den erzeugenden Stämmen gebunden werden, was ebenfalls auf die geringe Rezeptorenmenge hindeutet, die im Bindungsversuch nicht nachweisbar ist. In der nachstehenden Tabelle IV ist ein Versuch wiedergegeben, welcher

Tabelle IV.

Serumverdünnung	Gärtnerimmenserum, nat.		behandelt mit Gärtner	
	Gärtner	Ae. I	Gärtner	Ae. I
100	+++	+++	++	0
200	+++	+++	++	0
500	+++	++	++	0
1 000	++	++	++	—
2 000	++	0	++	—
10 000	++	0	+	—
20 000	++	—	+	—
200 000	++	—	—	—
Kontrolle	0	0	—	—
Art der Agglutination	grfein	fein	gr	—

Erklärung siehe Tabelle I. Technik siehe bei Weil und Felix.

mit dem ersten Teile der Feststellung von Sobernheim und Seligmann überstimmt. Es weist das Gärtnerimmenserum gegenüber Aertryck eine starke Mitagglutination auf, die durch das rein kleinflockige Aussehen als eine Gemeinsamkeit von stabilen Nebenrezeptoren anzusehen ist, was ja nach Untersuchungen von Weil und Felix die Regel darstellt. Dahingegen konnten wir zeigen, daß auch das Aertryckserum mit dem Gärtner eine Agglutination gibt, die zwar geringgradig (+—±) erst nach mehreren Stunden auftritt¹⁾, aber bis zu einem ziemlich hohen Titer (1:1000) vorhanden ist (Tabelle V B). Eine Erscheinung, die bei der Reaktion von Nebenagglutininen öfters zu beobachten ist.

Die scheinbare Umwandlung resp. Annäherung des Stammes Aertryck an Gärtner ist nach obiger Analyse

1) Sobernheim und Seligmann notierten die Versuche nach 2 Stunden 37°.

leicht erklärlich. Die Mitagglutination von B und Aertryck erfolgt durch labile, die von Aertryck und Gärtner durch stabile Nebenrezeptoren. Ein Aertryckstamm mit labilen und stabilen Rezeptoren (H-Form) wird dementsprechend sowohl in B- als auch in Gärtner Serum ausgeflockt. Nachdem die groben Agglutinine meist in höheren Verdünnungen wirksam sind als die feinen, wird ein solcher Aertryck als Paratyphus B (Typus Flügge-Kaen) bezeichnet. Ein Aertryck, welcher die labilen Rezeptoren verloren hat und nur die stabilen Rezeptoren besitzt (O-Form), hat hingegen mit Paratyphus B nichts mehr gemeinsam, ein solcher Stamm wird im Gärtner Serum so gut oder, wie auch die O-Formen der X-Stämme, etwas besser ausgeflockt als die H-Form. Wenn ein derart veränderter Keim einer der bestehenden zwei Hauptgruppen der Paratyphus B-Bakterien zugezählt wird, so kann er nur in der Gärtnergruppe eingereiht werden. Es liegt jedoch in diesem Falle keine tiefgreifende serologische Veränderung, sondern nur der Verlust eines labilen Rezeptors vor, was zuerst bei den X-Stämmen, seither aber bereits bei einer ganzen Reihe von Keimen beobachtet ist. Die Unvollständigkeit der wertvollen Arbeit von Sobernheim und Seligmann besteht darin, daß sie sich nicht durch Herstellung eines Immunserums mit der Variante und durch Erschöpfungsversuche über Verschiedenheit der Aertryck, B und Gärtnerrezeptoren überzeugt haben.

Eine reine O-Form von Aertryck zu isolieren, gelang uns zwar nicht, wohl aber erhielten wir Varianten, welche in Bezug auf Agglutinabilität in Paratyphus B und Gärtner Serum die Eigenschaften einer O-Form besitzen. Es ist möglich, daß auch Sobernheim und Seligmann solche Keime in der Hand hatten (siehe unten).

II.

Auf Grund der oben mitgeteilten Rezeptorenanalyse ist Paratyphus Aertryck von den gewöhnlichen Paratyphus B-Bakterien serologisch ebenso scharf abtrennbar wie die Gruppe jener Paratyphus B-Bakterien, deren Repräsentant Paratyphus β ist. Mit der Frage, ob die hier festgestellten serologischen Charakteristika konstant sind, ob ein Uebergang des Stammes

Aertryck in die typischen Vertreter des Paratyphus B festgestellt werden kann, steht und fällt die Berechtigung einer derartigen Systematisierung.

Infolge von vielen unvollständigen Arbeiten über Bakterien der Typhus-Coligruppe, insbesondere infolge ungenügender Durchführung einer Rezeptorenanalyse, welche erst durch Entdeckung der Doppelnatur der Rezeptoren und deren Charakteren in den letzten Jahren vervollkommenet wurde, ist die Auffassung entstanden, daß eine nähere Einteilung der Paratyphus B-Bakterien unmöglich ist. Auf Grund der hier herrschenden Verwirrung ist wohl auch Baur (6) zur Auffassung gelangt, „daß es eine reine Geschmackssache ist, ob man einen aus Darminhalt usw. isolierten Bakterienstamm der Coligruppe *B. coli* oder *B. enteritidis* oder *B. typhi* heißen soll“. Diese Ansicht wird selbstverständlich von keinem Bakteriologen geteilt, jedoch besteht auch unter manchen von ihnen der Glaube vom Uebergang eines Keimes einer serologisch gut definierbaren Art in eine wohlcharakterisierbare Bakterienspezies, z. B. eines Paratyphus B in einen Typhus, oder eines Paratyphus B in einen Gärtner. Toenison (7), der die Beständigkeit der Bakterienarten sehr gut kennt, anerkennt zwar Baerthleins Nachweis vom Uebergang des Typhusbazillus in Paratyphus B, sieht diese aber trotzdem nicht als Mutation an, weil bei derselben die absolute Konstanz nicht genügend festgestellt ist. Wir haben an anderer Stelle versucht, den Irrtum Baerthleins, eine Umzüchtung des Paratyphus B in Typhus durchgeführt zu haben, aufzuklären. Immerhin sind, wie aus den Arbeiten von Weil und Felix, Breinl, Gruschka und den eigenen hervorgeht, die serologischen Veränderungen, die an Bakterien sich vollziehen, oft so tiefgreifende, daß man in Verlegenheit gerät, ob derart serologisch veränderte Bakterien auch vom serologischen Standpunkt aus als eine neue Bakterienart anzusehen sind. Wir haben nun in eigenen Versuchen die serologische Variabilität des Stammes Aertryck studiert.

III.

Die vom Kralschen Museum bezogene Aertryckkultur enthielt weder morphologisch noch serologisch einheitliche

Keime. Der morphologischen Multiplizität, welche sich als erblich inkonstante Modifikation erwies, entsprach eine serologische Duplizität. Auch der Umstand, daß beide serologische Typen (Typus I und II) spontanagglutinabel waren, deutet auf die Möglichkeit einer vollzogenen tiefergreifenden Veränderung hin. Nach einigen Passagen verlor zuerst Typus I (Aertryck I) die Spontanagglutinabilität. Das Immunserum des Stammes Ae. I (dasselbe, mit welchem das in der vorigen Arbeit mitgeteilte Rezeptorenverhältnis von Paratyphus B, β und Ae. studiert wurde) agglutinierte den erzeugenden Stamm (Ae. I) grob 1:20000 und fein 1:10000, den zweiten Typus (Ae. II und Ae. III) nur fein 1:500. Das Immunserum des zweiten Typus agglutinierte den ersten Typus 1:2000 grob und fein, den zweiten Typus nur fein 1:10000 (Tabelle V). Schon der Umstand, daß die Sera der beiden Stämme nur den homologen Stamm hoch agglutinieren, sich gegenseitig nur in den Grenzen der Mitagglutination ausflocken, beweist die wichtige Tatsache, daß der Typus II neue Hauptrezeptoren besitzt, welche entsprechend der feinflockigen Agglutination als stabile Rezeptoren anzusehen sind. Der Umstand aber, daß das Immunserum dieses Stammes den Typus I auch grob agglutiniert, deutet darauf hin, daß seine ursprünglichen labilen Hauptrezeptoren verkümmert sind, in der Weise, daß sie zwar grobflockige Agglutinine noch erzeugen, aber nicht mehr mit ihnen in Reaktion treten. Der Bindungsversuch bestätigt diese Annahme (Tabelle V). Aertryck II entspricht einem Variantentypus, welcher bisher fast bei allen daraufhin untersuchten Bakterien mit stabilen und labilen Rezeptoren isoliert wurde, bei welchem die labilen Rezeptoren quantitativ, die stabilen qualitativ verändert sind. Typus II erzeugt auch die für Aertryck charakteristischen Nebenagglutine für B und β 1:1000. Er erschöpft auch diese Agglutinine, wird aber im Paratyphus B- und β -Serum nicht ausgeflockt. Im Gärtner serum werden beide Typen gleich hoch agglutiniert (siehe oben die scheinbare Umwandlung resp. Umwandlung von Paratyphus B zu Gärtner).

Diese zwei Typen verhielten sich nach mehreren Plattenpassagen in ihrer Nachkommenschaft serologisch einheitlich und konstant. Nun wurde in einer weiteren Versuchsreihe

Tabelle V.

A.

Serumverdünnung	Ser. Ae. I nativ		Ser. Ae. I ersch. Ae. II ¹⁾	
	Ae. I	Ae. II	Ae. I	Ae. II
100	+++	+++	+++	0
200	+++	+++	+++	0
500	+++	+	+++	0
1 000	+++	0	+++	—
2 000	+++	—	+++	—
5 000	++	—	++±	—
10 000	++	—	++	—
20 000	+	—	+	—
Kontrolle	0	0	0	—
Art der Aggl.	grfein	fein	grfein	—

B.

Serum- verdünnung	Ser. Ae. II nat.				Ser. Ae. II ersch. Ae. II			Ser. Ae. II ersch. Ae. I		
	Ae. I	Ae. II	β 1 ²⁾	Gärtner. ³⁾	Ae. I	Ae. II	β	Ae. I	Ae. II	β
200	+++	+++	++	+	0	0	0	0	++±	0
500	+++	+++	+	±	0	0	0	0	++±	0
1 000	+++	+++	±	±	0	0	0	0	++±	0
2 000	+++	+++	0	±	—	—	—	—	++±	—
5 000	±	++	—	(±)	—	—	—	—	+	—
10 000	0	+	—	0	—	—	—	—	0	—
20 000	0	±	—	0	—	—	—	—	0	—
Kontrolle	0	0	0	0	—	—	—	—	0	—
Art der Aggl.	grfein	fein	gr	—	—	—	—	—	fein	—

gr = grob-, grfein = grob- und feinflockige Agglutination.

Technik siehe bei Weil und Felix.

geprüft, in welcher Weise die beiden eben beschriebenen Typen zur Variation befähigt sind (bezüglich der Technik siehe Variationsversuche mit B. typhi).

Aus der Bouillon, welche mit Typus II (die oben erwähnte Variante mit neuen stabilen und verkümmerten labilen Rezeptoren) beimpft war, züchteten wir eine Variante, welche sich folgendermaßen verhielt: Sie wurde weder vom Immuns serum des Paratyphus B noch auch vom Immuns serum des Stammes Ae. I (Typus I) agglutiniert. Dahingegen erzeugte

1) Immuns serum Ae. I wurde mit Ae. II-Bakterien erschöpft, das erschöpfte Serum mit Ae. I und Ae. II-Bakterien agglutiniert.

2) Ebenso Paratyphus B.

3) Ebenso wird der B. ent. Gärtner im Immuns serum Ae. I ausgeflockt.

diese Variante, die wir als Ae. 6 bezeichnen, ein Immuserum, welches sie selbst bis 1:100000 grobflockig agglutinierte. Grobflockige Agglutinine gegenüber dem Typus I besitzt das Immuserum der Variante Ae. 6 nur in stärkeren Konzentrationen agglutiniert ihn aber in feinen Flocken bis 1:5000, Paratyphus B 1:100, β 1:200 und Typhus bis 1:2000. Die Analyse dieser Variante hat das prinzipiell neue Resultat ergeben, daß hier ein neuer labiler Hauptrezeptor entstanden ist, welcher ein hochwirksames grobflockendes Immuserum erzeugt, das den Originalstamm (Ae. I), der einen anderen labilen Hauptrezeptor besitzt, gar nicht beeinflußt. Bei keinem der bisher untersuchten Stämme, weder bei den X-Stämmen noch bei Typhus, Gärtner, Paratyphus B usw. ist dieses Ergebnis erzielt worden. Alle diese Stämme verhielten sich bezüglich der Veränderung labiler Rezeptoren in der Weise, daß diese entweder verkümmert oder ganz abgeworfen wurden. Neubildung von Rezeptoren wurden nur hinsichtlich der stabilen konstatiert, niemals aber eine solche der labilen, wie es bei der von uns untersuchten Variante Ae. 6 der Fall ist, beobachtet. Von Interesse schienen uns Komplementbindungsversuche mit der Variante Ae. 6. Durch die Untersuchung von Weil ist bekannt, daß die komplementbindenden Antikörper in erster Linie durch die stabilen Rezeptoren entstehen und dementsprechend, ohne mit den kleinflockigen Agglutininen identisch sein zu müssen, doch mit diesen in auf-

Tabelle VI.

Komplementbindungsversuch mit Immuserum Ae. 6 a.

Serumverdünnung	Ae. I	Ae. 6 a	Ae. Zwerg	Paraty B	Typhus
25 ¹⁾	0	0	0	0	0
100	0	0	0	k	0
500	0	0	0	—	0
1000	Sp	—	—	—	—
2000	k	fk	k	—	k
5000	„	k	—	—	—

0 = Hemmung, Sp = Spur, fk = fast komplette, k = komplette Lösung.

Technik siehe bei Weil und Felix.

1) Serum K. $\frac{1}{25}$ 0!

fallender Weise parallel gehen. Da nun das Immunserum des Stammes Ae. 6 reich ist an kleinflockigen Nebenagglutininen, so war auch ein weitgehendes Uebergreifen der Komplementbindenden Antikörper zu erwarten (Tabelle VI). Wir sehen in der Tat, daß Ae. 6-Immunserum nicht nur mit dem eigenen Stamm, sondern auch mit dem Originalstamm sowie mit Typhus, seinem Gehalt an kleinflockigen Agglutininen entsprechend, Komplement bindet. Das Resultat des mit dem Ae. 6-Immunserum angestellten Komplementbindungsversuches ist ein Beispiel dafür, wie ungeeignet häufig die Komplementbindung zur Differenzierung von Bakterien ist. Mit dem Immunserum Ae. 6 sensibilisiert, binden Typhus, Ae. I und Ae. 6 gleich viel Komplement (1:250 bis 500), trotzdem die Sensibilisierung durch verschiedene Antikörper erfolgt. Typhus und Ae. I werden durch Nebensensibilisine, Ae. 6 durch die Hauptsensibilisine sensibilisiert. Unter den Sensibilisinen sind die von Ae. I in Mehrzahl, doch bindet Typhus 901 gleich viel Komplement, weil dieser Stamm erfahrungsgemäß vielleicht wegen seiner geringen Eigenhemmung und Reichheit an Nebenrezeptoren sich zur Komplementbindung besser eignet, als der stark eigenhemmende Ae. I. Die Eigenhemmung war bei Ae. 6 noch stärker, so daß ungefähr $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ Antigen im Hauptversuche anzuwenden war, als bei Ae. I.

Kulturell unterscheidet sich Ae. 6 von den gewöhnlichen Paratyphus B-(Ae.-)Bakterien dadurch, daß er viel zarter wächst als diese. Auch das charakteristische Verhalten der Paratyphus B-Bakterien in der Molke ist bei ihm atypisch. Er wächst in der Molke, welche auch nach einigen Tagen nur schwach gerötet wird, sehr zart. Der Umschlag in blau bleibt aus. Er ist beweglich, wächst in Bouillon zart, diese wird homogen trüb. In Traubenzuckeragar auf Drigalski und Mannitagar verhielt er sich wie der Ausgangsstamm.

Variante Ae. Zwerg. Varianten von Bakterien, die an Wachstumsintensität des Ausgangsstammes eingebüßt haben, sind eine der interessantesten Erscheinungen der bakteriologischen Variationsforschung. Varianten von Paratyphusbakterien, welche nach 24 Stunden kaum größere Kolonien bilden als Streptokokken, oder dessen Wachstum nach 24 Stunden auch mit der Lupe unsichtbar ist, lassen uns an Keime

denken, welche auf unseren gewöhnlichen Nährböden überhaupt nicht wachsen.

Kleine und große Kolonien finden sich sozusagen auf allen Platten-Reinkulturen. Kleine Kolonien zwischen großen, wo die verminderte Vermehrungsintensität mit Ernährungsbedingungen nicht zu erklären ist, sind schon als echte Zwerge verdächtig. Doch lehrt uns die alltägliche Erfahrung, daß dieselben überimpft fast immer genau so große Kolonien bilden, als die größeren. Daß die von alternden Kulturen isolierten „Zwergbakterien“ mehrere Generationen lang Zwergkolonien bilden, kommt sehr selten vor. Die „Aertryckzwerge“, welche wir seit 10 Monaten in Reinkultur haben, bilden eine beständig abspaltende Sippe (Eisenbergs Nomenklatur). Es spalten sich aus ihnen ziemlich häufig, wenn auch nicht beständig, Keime vom Typus des Ausgangsstammes (Ae. II) ab. Um zu vermeiden, daß von solchen sehr üppig wachsenden Rückschlägen der Zwergtypus überwuchert werde, überimpfen wir ihn ein- bis zweiwöchentlich auf Agarplatten. Die eine Hälfte der Platte wird mit einem gewöhnlichen Aertryck, die andere mit einem „Aertryckzwerg“ beimpft. Nach 24 Stunden erreicht der Kontrollstamm regelmäßig die bekannte Größe von Paratyphus B-Keimen (1—3 mm Durchmesser), während „Aertryckzwerg“ entweder nicht sichtbare oder Kolonien von der Größe von Streptokokken, manchmal auch größere Kolonien bilden, welche aber immer unvergleichlich kleiner sind, als die Kolonien des Kontrollstammes. In den folgenden Tagen ist auf der Platte folgendes zu sehen: a) Die Zwergkolonien werden allmählich größer, erreichen aber auch annähernd nicht die Größe der Kontrollkolonien. b) Beinahe auf jeder Zwergplatte beobachtet man, daß aus einzelnen Zwergkolonien eine größere herauswächst, deren Struktur der des Ausgangsstammes entspricht. Dieselbe überimpft, bildet nur große Kolonien. c) Die alten Kolonien bekommen eine charakteristische Struktur, welche wir noch bei keinem Paratyphus B-Keim beobachtet haben. Durch Kultivierung in flüssigen Nährböden überwuchern die abgespalteten Rückschläge die Zwerge, was schon an der starken Trübung des Nährmediums zu erkennen ist. Aertryckzwerg wächst mit geringem Bodensatz und die Bouillonkultur ist beinahe klar. Auch Kochsalzabschwemmungen von Aertyck-

zwerg-Agarkulturen sind spontanagglutinabel. Auf Drigalski Mannit und in Traubenzuckeragar verhalten sich die Aertryckzwerg wie Paratyphus B-Bakterien. Ihr Verhalten in Molke ist atypisch, es bleibt bei ihnen der für Paratyphus B charakteristische Blauumschlag der schwach geröteten Molke aus. Erfolgt der Umschlag in blau nach einigen Tagen, so ist das die Folge der Ueberwucherung von Rückschlägen. Bekanntlich wurde die Molke als Hilfsmittel in der Differentialdiagnose innerhalb der Paratyphus B-Bakterien verwendet. Mehrere tierpathogene Stämme (Ferkeltyphus, Voldagsen und Glässer) verhalten sich in der Molke wie Aertryckzwerg.

Tabelle VII.
Uebersichtliche Tabelle.

	Immunserum					
	Ae. I	Ae. II	Ae. 6 a	Ae. Zwerg	B	β
Bakterienstamm { Ae. I Neigung zur Spontanagglutin.	10 000 fgr	2 000 fgr	2 000 grf	2000 grf	2000	10 000
{ Ae. II Starke Neigung zur Spontanagglut.	500 f	20 000 f	10 000 f	2000 f	100	100
{ Ae. 6 a Neigung zur Spontanagglutin.	100 f	—	100 000 grf	2000 grf	100	100
{ Ae. Zwerg			dauernd spontanagglutinabel			
{ B	5 000 gr	1 000 gr	100	100	5000	2 000
{ β	10 000 gr	1 000 gr	200	100	2000	50 000

Erklärung. Die angegebenen Zahlen bedeuten den Titer der Agglutination, gr = grobe, f = feine, grf = grob- und feinflockige Agglutination.

Serologisch ist Aertryckzwerg von großem Interesse. Er bildet nämlich ein Zwischenglied zwischen Ae. I und Ae. 6. Aertryckzwerg ist spontanagglutinabel und wird grob auch im eigenen Serum nicht ausgeflockt. (Die grobe Agglutination ist auch bei den spontanagglutinablen Bakterien verwertbar.) Komplement bindet er im eigenen Serum ebenso, wie im Immunserum Ae. I und Ae. 6. Er erzeugt auch Agglutinine und Sensibilisine für Ae. I genau so wie für Ae. 6. Besonders interessant ist, daß er auch grobe Agglutinine 1 : 2000 für den in Ae. I-Serum inagglutinablen und nicht komplementbindenden Ae. 6 erzeugte, annähernd in dem Maße, wie für Ae. I. Für B, β und Gärtner enthält sein Serum keine Agglutinine und sensibilisierenden Antikörper (Tabelle VI—VII).

Zusammenfassung.

I.

Paratyphus B, β und Aertryck sind serologisch drei Typen der Paratyphus B-Bakterien. Alle drei Stämme haben ihre eigenen labilen und stabilen Hauptrezeptoren. Die gegenseitige Ausflockung erfolgt durch labile Nebenrezeptoren. Dementsprechend binden die obigen Stämme nur mit dem eigenen Serum sensibilisiert Komplement und die O-Formen derselben haben überhaupt keine serologischen Beziehungen zueinander.

Es wird die scheinbare Umwandlung (Annäherung) des Bazillus Aertryck von Paratyphus B in Gärtner geklärt.

Es besteht keine Diskrepanz in Agglutininbildung und Bindung, wie es von Sobernheim und Seligmann angenommen wurde.

II.

Es wurde eine Variante eines Paratyphus B-(Aertryck-) Stammes beschrieben, welche die Rezeptoren des Ausgangsstammes nur in sehr kümmerlichen, bloß durch Tierversuch nachweisbaren Maße besitzt, und neue labile und stabile Rezeptoren erworben hat (Ae. 6), und eine andere, welche an Vermehrungsgeschwindigkeit des Ausgangsstammes eingebüßt hat (Ae. Zwerg), und serologisch die Zwischenstufe bildet zwischen der oben erwähnten extremen Variante (Ae. 6) und dem Ausgangsstamm.

Literatur (zum Teil nach Kolle-Wassermann).

- 1) De Nobele, Ann. de la soc. méd. Gand., 1899 u. 1902.
- 2) Lentz, Mikrobiologenkongreß in Wien 1909.
- 3) Böhme, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 1906.
Trautmann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, 1903.
Uhlenhuth in Leuthold Gedenk., Bd. 1.
Uhlenhuth und Hübener in Kolle-Wassermann.
- 4) Sobernheim und Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910.
- 5) Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29.
- 6) Baur, Einf. in die Vererbungslehre.
- 7) Toenisson, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 86.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Dr. O. Bail).]

Variationserscheinungen in der Dysenteriegruppe.

Von Dr. **Friedrich Breinl.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

Eine Untersuchung der Variabilität innerhalb der Dysenteriegruppe erscheint besonders anziehend im Hinblick auf die Mannigfaltigkeit ihrer Vertreter, die — mit dem gleichen pathogenen Vermögen begabt — in ihren kulturellen und antigenen Eigenschaften deutlich voneinander abweichen. Dazu kommt die große Zahl der atypischen Stämme, deren Erreger natur kaum bezweifelt werden kann, obwohl sie nicht in allen Merkmalen mit den typischen Ruhrbazillen übereinstimmen. Eine experimentelle Untersuchung über die Wandelbarkeit der typischen Dysenteriestämme verspricht gerade diese Befunde dem Verständnis näher zu bringen. In systematischer Weise ist diese Frage zum ersten Male von Baerthlein behandelt worden. Seine Methode besteht bekanntlich darin, daß Bouillonkulturen durch mehrere Wochen bei Zimmertemperatur gehalten werden, bis ein großer Teil der Flüssigkeit verdunstet ist; zur Platte gebracht, erscheinen dann neben normalen Kolonien solche, die in ihrem morphologischen und agglutinatorischen Verhalten ungewöhnlich sind.

Unsere eigenen Versuche erstrecken sich auf drei toxische und vier atoxische Stämme, die während verschiedener, zeitlich und örtlich getrennter Epidemien gezüchtet waren. Es werden hier nur jene Varianten beachtet, die — erblich fixiert — in ihrem serologischen Verhalten von der Norm abweichen.

Durch wiederholte Plattenaussaat und Kolonieauslese wurde eine Einzelkolonie gewonnen, in Bouillon eingimpft und nach 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei Zimmertemperatur belassen. In jeder folgenden Woche wurde die Kultur aufgeschüttelt und eine Oese des Inhaltes zur Platte

ausgestrichen. Die toxischen Ruhrstämme I (Cherson) und II (Kladno) — 3 Wochen nach ihrer Aussaat in Bouillon auf die Platte gebracht — zeigen verschiedene Kolonien, die mit freiem Auge im auffallenden und durchfallenden Licht betrachtet, sich in zwei Gruppen teilen lassen. Die eine hell, bläulich durchscheinend, mit glatter Oberfläche, entsprach ganz den Kolonien des Ausgangsstammes; die andere gelblich opak, stark granuliert mit rauher Oberfläche und zumeist auslaufendem Rand. Bei Lupenvergrößerung unterscheiden sich die Vertreter der zweiten Gruppe voneinander deutlich durch Größe, Profilstellung, Rand- und Oberflächenbeschaffenheit im Sinne der Bezeichnungen, die die nachstehende Tabelle I nennt; doch erwiesen sich diese Differenzen beim Umzüchten als inkonstant und kommen auch im antigenen Verhalten nicht zum Ausdruck. Allen Angehörigen dieser Gruppe war zur Zeit ihrer Isolierung aus der Dauerkultur eine mäßige Spontanagglutinabilität eigen, die heute, nach vielen Passagen, fast gänzlich geschwunden ist. Alle übrigen Merkmale behielten beide Gruppen unverändert bei. In den Reinkulturen der spontanagglutinablen Varianten erschienen mitunter vereinzelte Kolonien vom Typus des Ausgangsstammes, doch betrafen diese Rückschläge stets nur wenige Keime, die die serologischen Eigenschaften der Kultur nicht beeinflussen konnten.

Die mikroskopische Untersuchung der beiden Typen lehrt, daß der Variationsprozeß am Bakterienleibe eingreifende morphologische Aenderungen gesetzt hat: die Keime des Ausgangsstammes sind kurze, schmale Bazillen, hie und da zu längeren Fäden ausgewachsen, meist zu kleinen Häufchen agglomeriert; die variierte Kultur dagegen zeigt plumpe, geblähte, eiförmige Gebilde mit sehr scharfer Begrenzung, die — obzwar spontanagglutinabel — ganz gleichmäßig im Gesichtsfelde verteilt sind und nirgends eine Neigung zur Lagerung in Gruppen erkennen lassen. Nach ihren fermentativen Fähigkeiten erwiesen sich beide als typische Shiga-Krusestämmen: sie vermögen keinen der gebräuchlichen Zuckernährböden zu verändern. Die Agglutination in einem Serum vom Titer 1:5000 aus dem Serotherapeutischen Institut Wien hatte folgendes Ergebnis:

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 95.

12

Tabelle I.

	50	100	200	500	1000	2000	5000	Kontr.
Shiga I (Cherson)								
1 Kleinste Kolonie mit auslaufendem Rand	±	±	±	±	±	+	±	±
2 Kleinste Kolonie mit auslaufendem Rand	±	±	±	±	±	±	±	±
3 Kleine Kolonie, glatte Oberfläche	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
4 Sehr klein, glatt, durchscheinend	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
5 Sehr klein, derb granuliert	±	±	±	±	±	±	±	±
6 Klein, trübt, auslaufender Rand	±	±	±	±	±	±	±	±
7 Große Kolonie, derb, auslaufender Rand	±	±	±	±	±	±	±	±
8 Klein, knopfartig eleviertes Zentrum	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
9 Groß, chagriniert, auslaufender Rand	±	±	+	±	±	±	±	±
10 Groß, glatte Oberfläche, hell	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	±
11 Groß, glatte Oberfläche, hell	+	+	+	+	+	+	+	±
12 Klein, glatte Oberfläche, hell	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
Shiga II (Kladno)								
13 Klein, trüb, auslaufender Rand	±	±	±	±	±	±	±	+
14 Klein, hell, glatte Oberfläche	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
15 Groß, trüb, derb, auslaufender Rand	±	±	±	±	±	±	±	±
16 Groß, glatt, helle Normalkolonie	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

Von den 16 Stämmen sind also 8 typische Kruse-Shiga-Stämme, alle anderen sind spontanagglutinabel, und zeigen keinerlei Beeinflussung, die der Konzentration des Immunsersums parallel wäre. Das Agglutinat dieser selbstflockenden Stämme ist locker und läßt sich durch leichtes Schütteln gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilen; die Normalstämme dagegen werden in derben Brocken ausgeflockt. Komplementbindungsversuche im gleichen Serum verliefen völlig negativ.

Es muß nun entschieden werden, ob dieses refraktäre Verhalten im Serum nur durch Verlust des Ausflockungs-

vermögens (der ergophoren Gruppe) bei erhaltener Bindungsfähigkeit bedingt ist, — ob der Stamm bloß inagglutinabel geworden ist — oder ob der den homologen Immunkörper bindende Rezeptor am Bazillenleibe geschwunden ist: zu diesem Zwecke wurden Erschöpfungsversuche nach Castellani an- gestellt. Das Wiener Shiga-Kruseserum wurde mit Abkömmlingen des Stammes Sh. K. I und Sh. K. II erschöpft und ag- glutiniert.

Der Bakterienrasen einer gutbewachsenen Kolleschale wird mit 10 ccm phys. Kochsalzlösung abgeschwemmt, 1 Stunde lang auf 60° erhitzt, zentrifugiert, der Extrakt abgegossen. Die Bakterien werden in 5 ccm Immunserum der Verdünnung 1:50 aufgeschwemmt, 2 Stunden bei 37° gehalten, abzentrifugiert. Die Bakterien haben den homologen Ambozeptor vollständig gebunden.

Tabelle II.
Abkömmlinge des Stammes Shiga I (Cherson).

Erschöpft	Agglut.	50	100	200	500	1000	2000	Kontr.
0	3	+++	+++	+++	++	+	—	—
	1	±	±	±	±	±	±	±
	2	±	±	±	±	±	±	±
	9	±	±	±	±	±	+	±
3	3	—	—	—	—	—	—	—
	1	±	±	±	±	±	±	±
	2	±	±	±	±	±	±	±
	9	±	±	±	±	±	±	±
1	3	+++	+++	+++	++	+	—	—
	1	±	±	±	±	±	±	±
	2	±	±	±	±	±	±	±
	9	±	±	±	±	+	±	±
2	3	+++	+++	+++	++	+	—	—
	1	±	±	±	±	±	±	±
	2	±	±	±	±	±	±	±
	9	±	±	±	±	±	±	±
9	3	+++	+++	+++	++	+	—	—
	1	±	±	±	±	±	±	±
	2	±	±	±	±	±	±	±
	9	±	±	±	±	±	±	±

12*

Tabelle III.
Abkömmlinge des Stammes Shiga II (Kladno).

Erschöpft	Agglut.	50	100	200	500	1000	2000	Kontr.
9	13	±	±	±	±	±	±	±
	14	+++	+++	+++	++	±	—	—
	15	±	±	±	±	±	±	±
	16	+++	+++	+++	++	+	—	—
13	13	±	±	±	+	±	±	±
	14	+++	+++	+++	++	+	—	—
	15	±	±	±	±	±	±	±
	16	+++	+++	+++	++	+	—	—
14	13	±	±	±	+	±	±	±
	14	—	—	—	—	—	—	—
	15	±	±	±	±	±	±	±
	16	—	—	—	—	—	—	—
15	13	±	±	±	±	±	±	±
	14	+++	+++	+++	++	+	—	—
	15	±	±	±	±	±	±	±
	16	+++	+++	+++	++	+	—	—
16	13	±	±	±	±	±	±	±
	14	—	—	—	—	—	—	—
	15	±	±	±	±	±	±	±
	16	—	—	—	—	—	—	—

Die Stämme der zweiten Gruppe (1, 2, 9, 13, 15) sind offenbar nicht befähigt, Immunstoffe, die gegen Vertreter der ersten Gruppe (3, 14, 16) — das sind normale Kruse-Shiga-Stämme — gerichtet sind, zu verankern. Nach dem Ausfall dieses Versuches kann es nicht mehr zweifelhaft sein, daß sie nicht nur ihre Ausflockbarkeit verloren, sondern eine tiefgehende Aenderung an ihrem Rezeptorenapparat erlitten haben.

Es mußte nun untersucht werden, ob es sich etwa um serumfeste Stämme handelte — wie sie Friedberger und Moreschi in der Typhusgruppe beschrieben haben: atypische Stämme also, die gegen typische Vertreter ihrer Art Antikörper erzeugen, welche sie selbst aber nicht zu binden vermögen. Darüber konnte nur eine Untersuchung ihrer antigenen Eigenschaften Aufschluß geben.

Mit den Zweigstämmen 1, 2, 3, 9 (s. Tabelle I) wurden Kaninchen immunisiert: 1 Oese Agarkultur in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, bei 60° abgetötet, abzentrifugiert, der Extrakt abgegossen, der Satz abermals in 10 ccm eingetragen. Davon 1 ccm subkutan, am 7. Tage desgleichen, am 14. Tage 1 ccm intravenös. Nach weiteren 7 Tagen Entnahme.

Am 4. Tage nach der 1. Injektion verendete das mit Stamm 1 behandelte Tier mit bakteriologisch und anatomisch negativem Befund. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist das Tier der Toxinwirkung erlegen. Wir schließen daraus, daß die Variante, obwohl in ihrem serologischen Verhalten vom Ausgangsstamm völlig verschieden, ihre Toxizität dennoch beibehalten hat.

Tabelle IV zeigt das agglutinatorische Verhalten der untersuchten Stämme im Eigenserum.

Tabelle IV.

Serum Stamm	50	100	200	500	1000	2000	Kontr.
3	+++	+++	+++	++	+	—	—
1	±	±	±	±	±	±	±
2	±	±	±	±	±	±	±
9	±	±	±	±	±	±	±

Serum 3 agglutiniert den homologen Stamm (ebenso den Ausgangsstamm Shiga-Kruse I Cherson) bei einwandfreier Kontrolle bis zur Verdünnung 1:1000. Stamm 3 ist demnach (wie schon aus Tabelle I ersichtlich) ein normaler Shiga-Kruse. Die Sera der Varianten 1, 2, 9 vermögen ihn nicht zu beeinflussen.

Tabelle V.

Serum	50	100	200	500	1000	Kontr.	
3	+++	+++	+++	++	+	—	} Einsaat Stamm 3
1	—	—	—	—	—	—	
2	—	—	—	—	—	—	
9	—	—	—	—	—	—	

Die spontanagglutinablen Stämme 1, 2, 9 geben im Serum 3 den gleichen Befund, wie er in Tabelle IV verzeichnet ist. Da die Agglutination nicht imstande ist, über ihre serologischen Eigenschaften Aufschluß zu geben, mußte zur Komplementbindung gegriffen werden. Im Eigenserum verhielten sich die Stämme folgendermaßen.

Tabelle VI.

Stamm Serum	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,002	0,001
3	∅	w	st	f. kpl	kpl	kpl	kpl
1	∅	∅	∅	∅	∅	Sp	f. kpl
2	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
9	∅	∅	∅	∅	∅	∅	Sp

Das Serum 3 ist zur Komplementbindung ungeeignet, die Stämme 1, 2, 9 dagegen geben mit den homologen Seren kräftige Reaktion. Es mußte nun nach verwandten Rezeptoren innerhalb der untersuchten Kulturen gefahndet werden: jedes der Sera wurde mit den 4 Stämmen zur Komplementbindung angesetzt.

Tabelle VII.

Serum	Stamm	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
3	3	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	1	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	2	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	9	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
1	3	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	1	∅	∅	∅	∅	Sp	w	∅
	2	∅	∅	∅	∅	m	w	∅
	9	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
2	3	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	1	∅	∅	∅	∅	w	∅	∅
	2	∅	Sp	f. kpl	kpl	kpl	∅	∅
	9	∅	∅	∅	∅	∅	w	∅
9	3	f. kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	1	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	2	∅	∅	∅	∅	∅	∅	Sp
	9	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅

Keiner der untersuchten Stämme vermag mit Hilfe der im Serum 3 enthaltenen Ambozeptoren Komplement zu binden. Die Stämme und Sera 1, 2, 9 erweisen sich als identisch. Ebenso verhalten sich die Abkömmlinge des Shiga-Kruse-Stammes II (Kladno).

Tabelle VIII.

Serum	Stamm	0,5	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
9	13	∅	∅	∅	∅	Sp	m	st
	14	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	15	∅	∅	∅	∅	∅	∅	st
	16	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl

Stamm 13 und 15 sind selbstflockende Varianten, 14 und 16 im Ruhrserum gut agglutinabel (s. Tabelle II).

Das Ergebnis der bisher mitgeteilten Versuche läßt die Annahme, die spontanflockenden Varianten könnten serumfeste Shiga-Kruse-Stämme sein, unhaltbar erscheinen, es legt vielmehr die Vermutung nahe, daß zwischen ihnen und der Ausgangskultur keinerlei serologische Verwandtschaft mehr besteht. Diese Vermutung bestätigt der wechselseitige Erschöpfungsversuch.

(Technik der Erschöpfung wie oben beschrieben.)

Die Sera 1, 2, 9 wurden mit dem Stamme 3 erschöpft, dann mit dem Eigenstamm zur Komplementbindung angesetzt.

Tabelle IX.

Serum		0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
1	direkt	θ	θ	θ	θ	ikpl	f. kpl	kpl
	erschöpft	θ	θ	θ	θ	f. kpl	f. kpl	„
2	direkt	θ	θ	Sp	w	ikpl	kpl	„
	erschöpft	θ	θ	Sp	w	ikpl	kpl	„
9	direkt	θ	θ	θ	θ	w	ikpl	„
	erschöpft	θ	θ	θ	θ	w	ikpl	„

Demnach ist der Stamm 3 nicht imstande, die gegen die Varianten gerichteten Antikörper zu binden. Der umgekehrte Versuch, der die Unfähigkeit der spontanagglutinablen Stämme beweist, mit den für Stamm 3 wirksamen Immunstoffen zu reagieren, wurde bereits mitgeteilt (Tabelle II). Dagegen können die selbstflockenden Stämme jedes der 3 Variantensera durch Erschöpfung unwirksam machen. Als Beispiel sei nur ein Versuch mitgeteilt: Die 3 Variantensera wurden mit Stamm 9 erschöpft, dann mit dem homologen auf ihr komplementbindendes Vermögen geprüft.

Tabelle X.

Stamm Serum	0,1	0,005	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
2	direkt	θ	θ	θ	θ	ikpl	kpl
	erschöpft	θ	st	f. kpl	kpl	kpl	„
1	direkt	θ	θ	θ	θ	θ	Sp
	erschöpft	θ	θ	θ	w	m	ikpl
9	direkt	θ	θ	θ	θ	θ	st
	erschöpft	θ	Sp	m	kpl	kpl	kpl

Die Identität der Varianten untereinander ist damit wiederum bewiesen. Sie können, da sie ihren Hauptrezeptor verloren und einen neuen ganz anders gearteten erworben haben, mit den bisher gebräuchlichen agglutinierenden Shiga-Kruse-Seris nicht diagnostiziert werden und müssen als eine serologisch neue Art bezeichnet werden.

Der III. toxische Ruhrstamm Sh. Gh. (Prag) begann erst vier Wochen nach seiner Einsaat in die Bouillon Varianten abzuspalten. Die verschiedenen Kolonietypen und deren Verhalten im agglutinierenden Serum verzeichnet die folgende Tabelle.

Tabelle XI.

	100	200	500	1000	2000	Kontr.
Sh. Gh. 1 hell glatt	+++	+++	+++	+++	+++	—
2 hell chagriniert	±	±	±	±	±	±
3 glatt opak	±	±	±	±	±	±
4 zart hell	+++	+++	+++	+++	++	—
5 groß derb	+	+	+	+	+	+

Die Stämme Sh. Gh. 1 und 4 erweisen sich als normale Shiga-Kruse-Stämme, die anderen als spontanagglutinabel, vom Serum unbeeinflusst. Mit dem Variantenserum 1 zur Komplementbindung angesetzt, verhalten sich beide Gruppen — mit Ausnahme des Stammes Sh. Gh. 5 — ebenso wie die entsprechenden Abkömmlinge der Stämme I (Cherson) und II (Kladno).

Tabelle XII.

Stamm	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,002	0,001
Serum I { Sh. Gh. 1	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
„ 2	θ	θ	θ	θ	θ	w	„
„ 3	θ	θ	θ	θ	θ	Sp	m
„ 4	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
„ 5	„	„	„	„	„	„	„

Die spontanflockende Variante Sh. Gh. 5 ist hingegen nicht befähigt, die Ambozeptoren des Variantenserums zu binden; sie läßt sich in keine der beiden Gruppen einreihen. Dieser Befund veranlaßte uns auch unter den Varianten der Stämme I (Cherson) und II (Kladno) nach Ausnahmen dieser Art zu suchen. Die in Tabelle I angeführten 16 Stämme wurden

abermals auf Agarplatten gebracht und 93 Einzelkolonien mit dem Serum 1 auf ihr Komplementbindungsvermögen geprüft: es fanden sich unter ihnen drei spontanflockende, — die Stämme 17, 23, 35 — welche die dargebotenen Immunkörper nicht zu binden vermochten.

Tabelle XIII.

Stamm	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,002	0,001
Serum 1	1	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	17	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	23	"	"	"	"	"	"
	35	"	"	"	"	"	"
	Sh. 3	θ	θ	θ	θ	θ	ikpl
	Sh. 5	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl

Ein Immuserum mit dem Stamme Sh. Gh. 5 hergestellt zeigt nur mit dem gleichen Stamme Komplementbindung. Der Agglutinationsversuch verlief mit allen — auch dem homologen Stamme — negativ.

Tabelle XIV.

Komplementbindung.

Stamm	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
Serum Sh. Gh. 5	1	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
	17	"	"	"	"	"	"
	23	"	"	"	"	"	"
	35	ikpl	f. kpl	"	"	"	"
	Sh. Gh. 3	"	ikpl	f. kpl	"	"	"
	Sh. Gh. 5	θ	θ	θ	θ	w	st

Tabelle XV.

Agglutination.

Stamm	50	100	200	500	1000	2000	Kontr.
Serum Sh. Gh. 5	1	±	±	±	±	±	±
	17	±	±	±	±	±	±
	23	±	±	±	±	±	±
	35	+	+	+	+	+	+
	Sh. Gh. 3	±	±	±	±	±	±
	Sh. Gh. 5	+	+	+	+	+	+

Es erscheinen demnach unter den Abkömmlingen des Stammes III (Gh. Prag) zwei Typen, die durch Variation den für Bazillus Shiga-Kruse charakteristischen Hauptrezeptor

verloren haben. Jeder der beiden Typen hat einen neuen vom anderen verschiedenen Hauptrezeptor erworben.

Rückblickend sehen wir die drei toxischen Ruhrstämmen im Stadium der Variation erblich fixierte Stämme¹⁾ abspalten, deren antigene Eigenschaften voneinander und von denen der Ausgangskulturen vollständig verschieden sind. In überwiegender Mehrzahl erscheinen die Varianten vom Typus 1, 2, 9; vereinzelt die Typen Sh. Gh. 5, 17, 23, 35. Den Verwandtschaftsgrad der drei letztgenannten Abarten zu bestimmen, muß einer späteren Untersuchung vorbehalten bleiben. Alle diese Stämme können mit den bisher verwendeten diagnostischen Hilfsmitteln nicht als Ruhrbazillen erkannt werden.

Variationsversuche gleicher Art wurden auch mit atoxischen Ruhrstämmen angestellt.

Baerthlein hat aus einer alten Bouillonkultur, die mit atoxischer Dysenterie beimpft war, eine Variante gezüchtet, die mit Flexner-Immunsrum weder Agglutination noch Komplementbindung gab; als Antigen verwendet erzeugte sie ein Serum, von dem sie selbst unbeeinflusst blieb: dagegen reagierte dieses Serum bis zu hohen Verdünnungsgraden kräftig mit der Ausgangskultur.

Die vier Stämme, die zu den folgenden Versuchen verwendet wurden, stammen aus verschiedenen Epidemien. Nach vierwöchigem Aufenthalt in Bouillon wurden sie zur Platte ausgestrichen und verschiedene Einzelkolonien in einem agglutinierenden Serum vom Titer 1:10000 geprüft (Tabelle XVI und XVII).

Alle nicht agglutinierenden, bzw. komplementbindenden Varianten waren unmittelbar nach ihrer Isolierung spontanagglutinabel. Das Aussehen der Kolonien stimmte durchaus nicht immer mit ihrem serologischen Verhalten überein, es änderte sich auch bei öfterem Ueberimpfen in weiten Grenzen. Mikroskopisch und kulturell wurden die gleichen Befunde wie bei den Kruse-Stämmen erhoben.

Alle hier beschriebenen Stämme haben sich während zweijähriger Beobachtung als konstant erwiesen.

Tabelle XVI.
Selbsterzeugtes Flexnerserum.

		100	200	500	1000	2000	5000	10 000	Kontr.
klein, sehr hell	Fl. a. Gh. 1	±	±	±	±	±	±	±	±
groß, „	2	±	±	±	±	±	±	±	±
hell, flach „	3	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
klein, trüb, knopfartig	4	±	±	±	±	±	±	±	±
groß, trüb, flach	5	±	±	±	±	±	±	±	±
„ „ Kuppe	6	±	±	±	±	±	±	±	±
trüb, Kuppe ausl. Rand	Fl. b. Gh	±	±	±	±	±	±	±	±
hell, glatt	Flex. a 1	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
„ chagriniert	2	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
derb, auslauf. Rand	3	±	±	±	±	±	±	±	±
„ weiß, groß	4	±	±	±	±	±	±	±	±
klein, sehr hell	Flex. b 1	±	±	±	±	±	±	±	±
hell, glatte Oberfl.	2	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
groß, trüb	3	±	±	±	±	±	±	±	±
klein, „	4	±	±	±	±	±	±	±	±

Tabelle XVII.
Selbsterzeugtes Flexnerserum.

Stamm	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
Flex. a. Gh. 1	m	f. kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
„ 2	„	„	„	„	„	„
„ 3	θ	θ	θ	θ	θ	θ
„ 4	m	f. kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
„ 5	st	kpl	„	„	„	„
„ 6	„	„	„	„	„	„
Flex. b. Gh.	kpl	„	„	„	„	„
Flex. a. 1	θ	θ	θ	θ	w	„
„ 2	θ	θ	θ	θ	θ	θ
„ 3	st	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
„ 4	„	„	„	„	„	„
Flex. b. 1	f. kpl	„	„	„	„	„
„ 2	θ	θ	θ	θ	θ	w
„ 3	st	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl
„ 4	„	„	„	„	„	„

Mit der Variante Flex. a. Gh. 5 wurde ein Kaninchen immunisiert. Das Serum beeinflusste die spontanflockenden Varianten nur undeutlich in den hohen Konzentrationen, während die anderen Stämme bis zu 1:5000 agglutiniert wurden (siehe Tabelle XVIII).

Komplementbindungsversuche mit diesem Serum hatten das gleiche Ergebnis, wie sie mit normalem Flexnerserum erzielt wurden und in Tabelle XVII verzeichnet sind. Die Variante Flex. a. Gh. 5 ist also — wie alle anderen spontan-

Tabelle XVIII.

Serum		100	200	500	1000	2000	5000	Kontr.
Flex. a. Gh. 5	Flex. a. Gh. 1	++	++	++	++	+±	±	±
	2	±	±	±	±	±	±	±
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
	4	++	++	++	++	+	±	±
	5	++	++	++	+	±	±	±
	6	++	+	±	±	±	±	±
	Flex. b Gh.	±	±	±	±	±	±	±
	Flex. a 1	+++	+++	+++	+++	+++	+±	—
	3	±	±	±	±	±	±	±
	4	±	±	±	±	±	±	±
	Flex. b 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	4	++	++	++	++	+±	±	±

agglutinablen Varianten — nicht imstande, mittels der selbst-erzeugten Ambozeptoren Komplement zu binden; während die gutagglutinablen Ausgangsstämme mit denselben Immunkörpern kräftig reagieren. Der Stamm Flex. a. Gh. 5 ist aber — wie der folgende Versuch zeigt — dennoch imstande, den homologen Antikörper zu verankern; den eines normalen Flexnerserums läßt er dagegen fast unberührt. — Mit dem Ausgangsstamm erschöpft, werden beide Sera unwirksam.

Tabelle XIX.

Serum erschöpft	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	
Flex. norm.	θ	θ	θ	θ	m	ikpl	kpl	Antigen über- all Stamm Flex. b 2
	Flex. b 2	st	ikpl	ikpl	f. kpl	kpl	„	
Fl. a. Gh. 5	θ	θ	Sp	w	m	„	„	
Flex. a. Gh. 5	θ	θ	θ	θ	θ	θ	m	
	Flex. b 2	θ	w	s. st	kpl	kpl	kpl	
Fl. a. Gh. 5	ikpl	f. kpl	kpl	„	„	„	„	

Die vier untersuchten atoxischen Ruhrstämme variieren demnach alle in gleicher Richtung; wenn eine größere Zahl von Stämmen zum Versuch angesetzt worden wäre, so hätten sich vermutlich mehr serologische Typen unter den Varianten finden lassen.

Die Wandelbarkeit der Dysenteriekeime ist für die Epidemiologie und die bakteriologische Diagnostik von besonderem Interesse.

Der pandemische Charakter der Ruhr im Kriege kann — wie Seligmann bemerkt — mit der relativ geringen Anzahl

von Keimträgern kaum erklärt werden; ebensowenig jene Fälle von plötzlich gehäuften Dysenterieerkrankungen mit positivem Bazillenbefund, die nach Nahrungsschäden oder körperlichen Strapazen wiederholt zu beobachten waren. Seligmann sucht diese Erscheinungen mit einem „Neuentstehen infektiösen Materials“ zu erklären, das wohl nur als ein Variationsvorgang gedacht werden kann. In analoger Weise könnte man das Erlöschen einer Epidemie als Rückschlag des Erregers in eine avirulente Stammform auffassen. Seligmann fand am Beginn und am Ende einer Ruhr-epidemie Keime, die in kultureller und serologischer Beziehung von der Norm abwichen und nach der Auffassung dieses Autors als Uebergangsformen von einer saprophytischen Stammform zum typischen Erreger gedeutet werden können.

Unter ihnen waren solche, die aus Traubenzucker Gas bildeten und vom Patientenserum hoch agglutiniert wurden: Stämme, wie sie Falta-Kohn, Mayer, Manteufel, Konrich u. a. beschrieben haben. Falta-Kohn und Meyer konnten ihre Gasbildner — die vom agglutinierenden Ruhrserum stark beeinflußt wurden — durch den Variationsversuch im Tierkörper in typische Ruhrbazillen verwandeln. Seligmann beobachtete unter seinen inagglutinablen Flexnerstämmen solche, die nur vom Eigenserum ausgeflockt wurden und andere, deren Eigenserum sie unbeeinflußt ließ, typische Flexnerstämmen dagegen kräftig agglutinierte: also serumfeste Varianten, wie wir — ebenso Baerthlein — sie experimentell gewonnen haben. Wenn auch diese Deutung, die Seligmann seinen Befunden gibt, als durchaus hypothetisch bezeichnet werden muß, so wird doch der Epidemiologe die Erscheinungen der Bakterienvariabilität ständig im Auge behalten müssen.

Ueber atypische Shiga-Krusestämmen — gezüchtet aus klinischen Ruhrfällen — berichtet Bauch: Ein Teil seiner inagglutinablen Kulturen konnte nach fortgesetzten Agarpassagen oder nach Erhitzen in leicht angesäuerter Ausschwemmungsflüssigkeit serologisch diagnostiziert werden. Der andere Teil dagegen verhielt sich im agglutinierenden Serum vollständig refraktär, obzwar alle Stämme die kulturellen Merkmale des toxischen Ruhrbazillus zeigten und „teils aus blutig-

schleimigen, teils nur aus dünnflüssigen Stühlen gezüchtet waren“. Es ist nicht ausgeschlossen, daß der eine oder andere dieser Stämme mit unserer Shiga-Krusevariante (Typus 1, 2, 9 oder Sh. a. Gh. 5) identisch war. Besondere Beachtung verdient eine Mitteilung von Baerthlein: es gelang ihm, aus einer Reihe von inagglutinablen toxischen und atoxischen Ruhrstämmen durch systematische Variationsversuche nach der von ihm angegebenen Methode Zweigstämme abzuspalten, die vom Immunserum in normaler Weise agglutiniert wurden.

Die bakteriologisch-serologische Diagnostik der Ruhr wird nach alledem auf eine breitere Grundlage gestellt werden müssen. Es wird notwendig sein, die experimentell erzeugten Varianten, deren Rezeptorenapparat von dem der Ausgangsstämme völlig verschieden ist, unter den atypischen Funden der diagnostischen Praxis mit Hilfe eines Variantenserums zu suchen. Weiterhin kann durch Untersuchung auf die Kennzeichen der Serumfestigkeit die Zugehörigkeit einer Reihe abweichender — namentlich atoxischer — Stämme erkannt werden. Endlich wird man versuchen müssen, aus alten Kulturen des fraglichen Stammes den Rückschlag in die Normalform zu erhalten.

Zusammenfassung.

- 1) Drei untersuchte Shiga-Krusestämmen spalten Varianten ab, die voneinander und vom Ausgangsstamm serologisch vollkommen verschieden sind.
- 2) Vier atoxische Ruhrstämmen spalten die gleiche serumfeste Variante ab.
- 3) Die Befunde der experimentellen Variationsforschung werden in der klinischen Bakteriologie Verwertung finden.

Literatur.

- Baerthlein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 81, Heft 6.
Friedberger und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1905.
Seligmann, Centralbl. f. Bakt., Bd. 79, Heft 2.
Bauch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 81, Heft 4/5.
Mayer, Centralbl. f. Bakt., Bd. 66, S. 328.
Falta und Kohn, Wien. klin. Wochenschr., 1916.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.]

Ueber hämolytische Sera.

Von **Ernst Singer.**

Mit 14 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. April 1922.)

Die in der ersten Zeit des Studiums der Immunitätsreaktionen auf Grund der Ehrlichschen Theorie gemachte Voraussetzung, daß Ambozeptor und Rezeptor auf Grund chemischer Affinität in konstanten Mengenverhältnissen miteinander reagieren, stimmte mit den Resultaten eingehender Versuche bald nicht mehr überein. Bordet war der erste, der darauf hinwies, daß die Verbindung der Immunstoffe nach inkonstanten Verhältnissen vor sich gehe und der Adsorption von Farblösungen durch die Faser vergleichbar sei. Die Bindungsverhältnisse zwischen den an den verschiedenen Immunitätsreaktionen beteiligten Stoffen wurden in den folgenden Jahren eingehend studiert, und die Ueberzeugung, daß physikalische Kräfte eine große Rolle dabei spielen müßten, brach sich immer mehr Bahn. Auf sämtliche von Serologen und Kolloidchemikern publizierte Arbeiten einzugehen, selbst sie zu überblicken ist ein Ding der Unmöglichkeit. Ich verweise bloß auf die Arbeiten von Arrhenius, Bechhold, Landsteiner, Morgenroth, ferner Eisenberg und Volk u. a., die diese Verhältnisse besonders an Hämolysinen und Bakterienagglutininen studierten. Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, die Bindung verhältnismäßig gut bekannter Immunkörper, der Hämolysine, an ihr homologes Antigen zu studieren und mittels einfacher Versuche klarzustellen, welche Kräfte dabei im Spiele sind.

Verwendet man zu Versuchen über Immunitätsreaktionen Methoden der Physik und der physikalischen Chemie, so ist die größte Vorsicht in der Deutung der Resultate am Platze. Denn diese Methoden geben wohl scharfe, eindeutige Resultate,

wenn man mit Stoffen von einheitlicher Zusammensetzung arbeitet, deren Eigenschaften konstant und gut bekannt sind; arbeitet man aber mit Stoffen, deren Eigenschaften so wenig einheitlich sind, wie die der Hämolsine in hämolytischen Immunsereen und roten Blutkörperchen, so muß man zufrieden sein, wenn man aus den Versuchsergebnissen ersehen kann, welche Kräfte beim Zustandekommen dieser Resultate mitgewirkt haben. Um nur auf einige der Fehlerquellen einzugehen, sei darauf hingewiesen, daß sich in jedem hämolytischen Serum, nach den Untersuchungen P. Th. Müllers u. a., Ambozeptoren von sehr verschiedener Avidität finden, daß dementsprechend z. B. eine Adsorptionskurve nicht den Ausdruck der Adsorption eines bestimmten Serumbestandteiles resp. Ambozeptors an das Adsorbens darstellt, sondern bloß die Resultierende einer ganzen Kurvenschar. Wie die Eigenschaften des Serums und das Adsorbens sich von Versuch zu Versuch ändern, entzieht sich jeder Beurteilung. Deshalb wurde, um diese Fehlerquelle möglichst auszuschalten, darauf geachtet, gleichartige Versuche in möglichst schneller Aufeinanderfolge zu wiederholen und Versuche, die einen Vergleich zwischen verschiedenen Seren oder Adsorbentien bezweckten, wurden nur dann verwertet, wenn sie gleichzeitig und mit denselben Reagentien aufgestellt werden konnten.

Um die Bindung des hämolytischen Ambozeptors an das rote Blutkörperchen zu studieren, wurden zwei Versuchsanordnungen benutzt.

1) Gleichbleibende Menge des Ambozeptors — Variierung der Menge des Adsorbens. Um möglichst scharfe Unterschiede gegenüber einer chemischen Bindung zu erhalten, wurden die Mengen derartig gewählt, daß in jeder Versuchsreihe die doppelte Menge des in der vorhergehenden angewandten Stoffes zur Wirkung kam.

Die Versuchstechnik stellte sich folgendermaßen dar: In 4 Zentrifugierröhrchen wurde mit derselben Pipette je 1 ccm 5-proz., 2,5-proz., 1,25-proz., 0,625-proz. Blutaufschwemmung gegeben, deren jedes durch Verdünnung der nächsthöheren Konzentration auf das Doppelte hergestellt wurde. In diese Röhrchen kam dann je 1 ccm einer je nach dem Versuch verschieden hohen Serumverdünnung, worauf die Röhrchen geschüttelt und für 30 Minuten in den Brutschrank gebracht wurden.

Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Röhrchen scharf zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit vorsichtig abpipettiert und austitriert. Und zwar geschah dies in der Weise, daß von der Abgußflüssigkeit Ver-

dünnungsreihen aufgestellt wurden und so diejenige Menge festgestellt wurde, die gerade noch hinreichte, um 1 ccm 5-proz. Blut nach Komplementzusatz zu lösen. Abgelesen wurden alle Versuche nach 2stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° C, und wurden nach weiteren 16 bis 20 Stunden, während deren sie bei Zimmertemperatur standen, nachkontrolliert. Die Ablesung nach längerem Brutschrankaufenthalt erwies sich als ungenau, weil dann auch das Komplement allein etwas löste. Gleichzeitig wurde dann auch die Serumverdünnung, die in dem betreffenden Versuche als Stammlösung gedient hatte, ausgewertet, und zwar ebenfalls in der Weise, daß fallende Mengen mit Kochsalzlösung auf das Gesamtvolumen von 1 ccm aufgefüllt wurden und jedem Röhrchen 1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung und 0,05 Komplement zugesetzt wurde.

2) In Versuchsanordnung 2 wurde von der Serumverdünnung analog den Blutverdünnungen in Versuchsanordnung 1 Verdünnungen hergestellt und in je 1 ccm dieser Verdünnungen das Zentrifugat von 2 ccm 5-proz. Blutes aufgewirbelt. Im übrigen die einzelnen Röhrchen gleich behandelt wie in Versuchsanordnung 1.

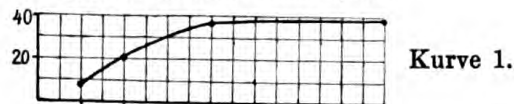
Erwiesen sich diese Blutmengen als zu gering, wie z. B. bei Untersuchung der vom Meerschweinchen gewonnenen Immunsera, so wurden größere Blutmengen genommen, die, um das Volumen in den einzelnen Röhrchen konstant zu erhalten, zentrifugiert wurden, wonach das Zentrifugat in der betreffenden Serummenge verteilt wurde. Die Immunsera wurden, soweit sie vom Kaninchen stammten, in der Weise hergestellt, daß das Tier in Abständen von je 8 Tagen 3 Injektionen erhielt, die erste Injektion von 1 ccm gewaschener Blutkörperchen intravenös, die zwei folgenden von 10 ccm intraperitoneal. 8 Tage nach der letzten Injektion wurde aus der Jugularis Blut entnommen, das im Verlauf von 48 Stunden abgepreßte Serum blutfrei zentrifugiert und 30 Minuten auf 55° C erhitzt. Die Meerschweinchen erhielten in Abständen von je 3 Tagen 3 Injektionen von je 2 ccm gewaschenen Blutes intraperitoneal und wurden 8 Tage nach der letzten Injektion verblutet.

Hammelhämolysches Kaninchenserum.

Alle Versuche über die Bindung der Hammelambozeptoren wurden mit demselben Serum ausgeführt, das einen Titer von ca. 0,0002 hatte. In Tabelle I sind einige der Versuchsergebnisse nach Versuchsanordnung 1 reproduziert.

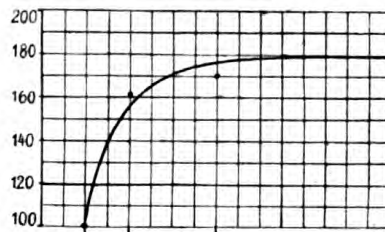
Tabelle I.

Hammelhämolysches Kaninchenserum.
Einfach lösende Dosis 0,0002.



Angeboten 40 lös. Dos.

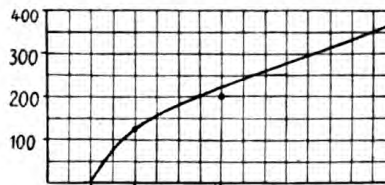
1 ccm	5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	mehr als	38 lös. Dos.
1 „	2,5-proz.	„	„	36 „ „
1 „	1,25-proz.	„	„	20 „ „
1 „	0,625-proz.	„	„	7 „ „



Kurve 2.

Angeboten 200 lös. Dos.

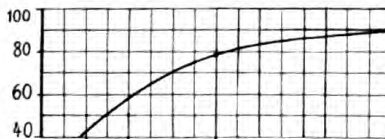
1 ccm	5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	180 lös. Dos.
1 „	2,5-proz.	„	170 „ „
1 „	1,25-proz.	„	160 „ „
1 „	0,625-proz.	„	100 „ „



Kurve 3.

Angeboten 400 lös. Dos.

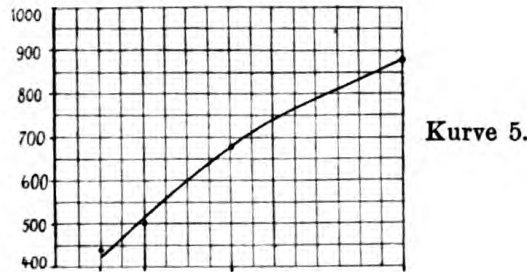
1 ccm	5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	360 lös. Dos.
1 „	2,5-proz.	„	200 „ „
1 „	1,25-proz.	„	134 „ „
1 „	0,625-proz.	„	0 „ „



Kurve 4.

Angeboten 100 lös. Dos.

1 ccm	5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	90 lös. Dos.
1 „	2,5-proz.	„	87 „ „
1 „	1,25-proz.	„	50 „ „
1 „	0,625-proz.	„	50 „ „



Angeboten 1000 lös. Dos.

1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	900 lös. Dos.
1 „ 2,5-proz. „	„	667 „ „
1 „ 1,25-proz. „	„	500 „ „
1 „ 0,625-proz. „	„	434 „ „

Mit dieser Versuchsanordnung erhält man Resultate, die auf überwiegende Bedeutung der Adsorption bei der Bindung des Ambozeptors an das homologe Blutkörperchen hinweisen. Allerdings nur, wenn man ein gewisses Maximum der angebotenen Ambozeptormenge, das bei den einzelnen Versuchen zur Ermittlung dieser Grenze nicht gleich war, aber ungefähr bei 500 lös. Dos. liegen dürfte, nicht überschreitet. Ohne den Charakter der Adsorptionskurve vollständig einzubüßen, ändert sich die Gestalt der Kurve bei Ueberschreitung dieser Menge doch derart, daß diese Erscheinung nicht mit Adsorption allein erklärt werden kann. Es scheint da noch ein anderer Faktor, nämlich die Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln, eine nicht unwesentliche Rolle zu spielen (Kurve 3 und 5), die in Versuchen, bei denen kleinere Ambozeptormengen angeboten werden, vollständig von der Adsorption verdeckt wird. Anzeichen von anormaler Adsorption konnten auch in Versuchen mit noch höheren Serumdosen nicht nachgewiesen werden, es sei denn, daß man in dem Umstand, daß in Versuch 3 von 400 lös. Dos. von 1 ccm 0,625 Proz. Blut nichts gebunden wurde, ein Anzeichen dafür erblicken will, welches Resultat aber auch durch die bei so hohen Serumdosen ziemlich ungenaue, aber einzig mögliche Methode der Titration vorgetäuscht werden konnte. Gleichzeitig sieht man in diesen Versuchen, in wie weiten Grenzen die Bindungskraft der roten Blutkörperchen schwankt, was mit einer chemischen Bindung unvereinbar ist. Wie schon erwähnt, müssen diese Kurven

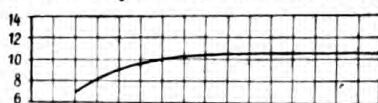
13*

als die Resultierende sämtlicher in dem betreffenden Serum vorhandenen Ambozeptortypen gedeutet werden. Aufgabe weiterer Untersuchungen muß es sein, festzustellen, ob Adsorption und Verteilung zwischen Lösungsmitteln bei stark und schwach aviden Ambozeptoren dieselbe Rolle spielen oder ob sich nicht noch Unterschiede ergeben.

Die Untersuchung der von Meerschweinchen gewonnenen Immunsera spricht nicht dafür, daß diese Annahme zutrifft. Auch die Versuche mit den, wie Weil entdeckt hat, sehr schwach aviden Ambozeptoren des Meerschweinchens ergaben Resultate, die sich als Adsorption deuten lassen.

Tabelle II.

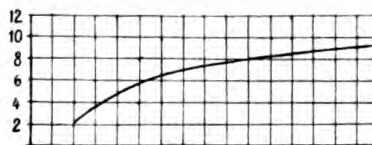
Hammelhämolysches Meerschweinchenserum.



Kurve 6.

Angeboten 22 lö. Dos.

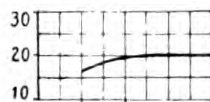
8 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	12 lö. Dos.
4 " " " "	" "	10 " "
2 " " " "	" "	9 " "
1 " " " "	" "	7 " "



Kurve 7.

Angeboten 12 lö. Dos.

8 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung	adsorbiert:	9 lö. Dos.
4 " " " "	" "	7 " "
2 " " " "	" "	5 " "
1 " " " "	" "	2 " "



Kurve 8.

Angeboten 50 lö. Dos.

1 ccm 5-proz. Blutaufschwemm.	adsorbiert:	17 lö. Dos.
2 " " " "	" "	20 " "
4 " " " "	" "	20 " "

Es ist sogar der Charakter dieser Kurven ausgesprochener der von Adsorptionskurven, was sich wohl ohne weiteres aus der bei kleinen Ambozeptormengen um ein Mehrfaches genaueren Ablesung erklärt. Versuche, die mit einem größeren Gesamtvolumen von 5 und 10 ccm in den einzelnen Röhren

aufgestellt wurden — alle Versuche in Tabelle I und II wurden im Volumen von 2 ccm aufgestellt — ergaben gleiche Resultate wie die im Volumen von 2 ccm aufgestellten Parallelversuche.

Menschenhämolysches Kaninchenserum.

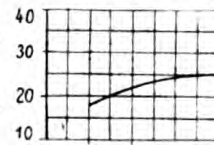
Auffallenderweise ergaben sich bei der Untersuchung der Antimensch- und auch der Antihundsera große Unterschiede gegenüber dem Antihammelserum. Der auffallendste Unterschied war das Zurücktreten der hämolytischen Wirkung des Serums gegenüber der hämagglutinierenden, was sich übrigens auch bei den Versuchen sehr störend bemerkbar machte, weil sich der fast augenblicklich entstehende, aus agglutinierten Blutkörperchen bestehende Bodensatz nur sehr schwer zerschütteln ließ, auch bald wieder entstand und so die Hämolyse stark verzögerte. Außerdem ergaben sich deutliche Aviditätsunterschiede der hämolytischen Ambozeptoren gegenüber den Hammelambozeptoren. Es stellte sich heraus, daß unter gleichen Versuchsbedingungen ein bedeutend geringerer Prozentsatz der angebotenen gegen Menschenblut gerichteten Ambozeptoren von Menschenblut gebunden wurde als von der gleichen Hammelblutmenge Ambozeptoren gegen Hammelblut aufgenommen wurden (Tabelle III und IV).

Tabelle III.

Menschenhämolysches Kaninchenserum.

Angeboten 35 lös. Dos.

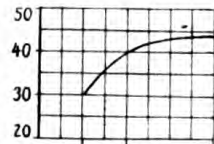
4 ccm	5-proz. Blutaufschwemm.	adsorbiert:	25 lös. Dos.
2 "	" "	" "	22 " "
1 "	" "	" "	17 " "



Kurve 9.

Angeboten 100 lös. Dos.

1 ccm	5-proz. Blutaufschwemm.	adsorbiert:	44 lös. Dos.
1 "	2,5-proz. "	" "	40 " "
1 "	1,25-proz. "	" "	30 " "



Kurve 10.

Tabelle IV.

Hammelhämolysches Kaninchenserum.

Angeboten	125 lös. Dos.	2 ccm	5-proz. Blut	adsorbiert:	123 lös. Dos.
"	62 " "	2 "	" "	" "	62 " "
"	31 " "	2 "	" "	" "	31 " "

Menschenhämolysches Kaninchenserum.

Angeboden	75 lös. Dos.	2 ccm 5-proz. Blut adsorbiert:	30 lös. Dos.
"	37 " "	2 " " " "	17 " "
"	18 " "	2 " " " "	15 " "

Hammelhämolysches Meerschweinchenserum.

Angeboden	125 lös. Dos.	2 ccm 5-proz. Blut adsorbiert:	20 lös. Dos.
"	62 " "	2 " " " "	12 " "
"	31 " "	2 " " " "	11 " "

Hundehämolysches Kaninchenserum.

Angeboden	100 lös. Dos.	2 ccm 5-proz. Blut adsorbiert:	34 lös. Dos.
"	50 " "	2 " " " "	20 " "
"	25 " "	2 " " " "	12 " "

Was das Verhältnis von Agglutination und Hämolysse betrifft, das sich bei den Antimensch- und Antihundseren gegenüber den Antihammelseren, bei denen sich die Agglutination bei nicht speziell darauf gerichteten Versuchsanordnungen kaum bemerkbar machte, stark zugunsten der Agglutination verschob, ist dieses abweichende antigene Verhalten dieser und anderer Blutarten schon von mehreren Autoren, so von Landsteiner, Neufeld und Sleeswijk beschrieben worden. Was die Aviditätsunterschiede der hämolyschen Ambozeptoren betrifft, so läßt dieses Verhalten an die Möglichkeit denken, daß die von Weil aufgestellten 2 Typen (Kaninchen, Meerschweinchen) vielleicht durch Uebergänge verbunden werden. Daß der niedrige hämolysische Titer die Ursache der schwachen Avidität der Ambozeptoren sei, erscheint unwahrscheinlich; denn Kontrollversuche mit einem schwach wirksamen (Titer 0,001) Antihammelserum vom Kaninchen und außerdem noch mit den Hammelblutnormalambozeptoren des Menschenserums ergaben auch für letztere eine bedeutend höhere Avidität gegen Hammelblut, als der Immunambozeptoren gegen Menschenblut. Uebrigens sind die Unterschiede nur quantitative, denn auch die Versuche mit dem Antimenschserum sprechen dafür, daß bei der Bindung des Ambozeptors an das Blutkörperchen Adsorptionsvorgänge die Hauptrolle spielen.

Dasselbe Verhalten wie das Antimenschserum, sowohl was die Avidität der hämolyschen Ambozeptoren als auch der agglutinierenden und hämolysierenden Titer des Serums betrifft, zeigte das Antihundserum, so daß sich ein näheres Ein-

gehen auf die Resultate mit diesem Serum, auch die Reproduktion mehrerer Versuche erübrigt. Ich verweise auf die in Tabelle IV reproduzierten Versuche.

Große Unterschiede zeigten auch die vom Meerschweinchen gewonnenen Immunsera gegen Menschenblut gegenüber den Seren gegen Hammelblut. Und zwar unterschieden sich die Sera durch ihren ziemlich hohen Komplementverbrauch von den Antihammerseren, die auch in Konzentrationen 1 : 5 keinen Komplementverbrauch erkennen ließen, deren komplementbindende Kraft wenigstens zu gering war, um die ganze angebotene Komplementmenge von 0,05 unwirksam zu machen.

Tabelle V.
Hammelhämolysische Meerschweinchensera.
Bindungsdauer 1 Stunde.

Serum 1									
0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	
kpl +	kpl +	kpl θ	kpl θ	kpl θ	st θ	Sp θ	Sp θ	θ θ	Hämolyse Agglutination Komplement- verbrauch
kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	

Bindungsdauer 2 Stunden 30 Minuten.

Serum 2									
0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	
kpl ++ kpl	kpl +	kpl +	kpl +	f. kpl θ kpl	m θ kpl	e θ kpl	θ θ kpl	θ θ kpl	Hämolyse Agglutination Komplement- verbrauch
kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	

Menschenhämolysische Meerschweinchensera.

Serum 1									
0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	
kpl +++ θ	kpl +++ θ	kpl +++ θ	f. kpl +++ θ	st +++ st	θ +++ kpl	θ +++ kpl	θ +++ kpl	θ +++ kpl	Hämolyse Agglutination Komplement- verbrauch
kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	

Serum 2									
0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	
f. kpl +++ θ	st +++ θ	Sp +++ θ	θ +++ f. kpl	θ +++ kpl	θ +++ kpl	θ +++ kpl	θ +++ kpl	θ +++ kpl	Hämolyse Agglutination Komplement- verbrauch
kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	kpl	

Die Versuche, die aufgestellt wurden, um den Komplementverbrauch der einzelnen Sera zu bestimmen, wurden derart angeordnet, daß als Antigen 1 ccm 10-proz. Aufschwemmung des homologen Blutes genommen wurde, 0,05 Komplement zugesetzt, nach einer Stunde bei 37° die ungelösten Blutkörperchen abzentrifugiert, die klare Flüssigkeit in neue Röhren umgegossen und zur Bestimmung der zurückgebliebenen Komplementmenge 1 ccm dreifach sensibilisierten 5-proz. Hammelblutes beigefügt wurde.

Bei dieser Versuchsanordnung ergaben die Antimenschsera Komplementverbrauch bis 1:50, selbst 1:100, während die Antihammelsera auch in Versuchen, die die geringe Avidität der vom Meerschweinchen gewonnenen Antikörper durch verlängerte (2 Stunden 30 Minuten) Bindungsdauer berücksichtigten, stets ein negatives Resultat gaben. Die Agglutination war dem Komplementverbrauch der verschiedenen Sera entsprechend bei den Antimenschseren, stark bei den Antihammelseren schwach. Im Gegensatz dazu war der hämolytische Titer wie bei den Kaninchenseren, bei den Antihammelseren hoch, bei den Antimenschseren niedrig. Diese Unterschiede in der Hämolyse einerseits, der Agglutination und dem Komplementverbrauch andererseits, weiter die Beobachtung, daß nach Behandlung des Serums mit Blutkörperchen die Hämolyse stark, die Agglutination fast gar nicht abgenommen hatte, legte den Gedanken nahe, die Hämolyse von den Agglutininen durch Erschöpfen der Sera mit Blutkörperchen zu trennen. Zur Trennung der Immunchämolyse von den Agglutininen genügt die Behandlung des Serums mit einer Menge von roten Blutkörperchen, die allerdings für jedes Serum empirisch festgestellt werden muß. Ein weiterer Kunstgriff, wie Erschöpfen in der Kälte, wie das Landsteiner für normale Immunkörper beschrieben hat, ist unnötig. Hat man die zum Erschöpfen nötige Menge einmal festgestellt, so gelingt die Trennung mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit so weit, daß man die Hämolyse vollständig oder doch fast vollständig erschöpft, während Agglutination und Komplementverbrauch nur unwesentlich abgeschwächt werden. Allerdings gelang dies mit den verschiedenen Seren verschieden gut, am besten mit dem Antihundserum, bei dem die Hämolyse wirklich

vollständig erschöpft werden konnte, während bei den Antimensch- und Hammelseren noch eine Spur Hämolyse zurückblieb. Bei dem nativ sehr hoch hämolytisch wirksamen Antihammelserum zeigte es sich, daß sich die Hämolyse auch durch wiederholtes Erschöpfen nicht vollständig entfernen ließen, wie das schon Müller für die schwach aviden Ambozeptoren beschrieben hat. Der schwachen Avidität der zurückgebliebenen Hämolyse entsprechend trat die Hämolyse nicht in den Röhrchen, die die größten Serummengen enthielten, sondern erst in den Verdünnungen auf, die nur mehr schwachen oder gar keinen Komplementverbrauch mehr gaben. Dieser Umstand kann nur damit erklärt werden, daß die avideren, komplementbindenden Antikörper alles Komplement verbrauchten, so daß für die hämolytischen Ambozeptoren nichts mehr übrig blieb.

Verschiedene Versuche, die Komplement verbrauchenden Antikörper von den agglutinierenden zu trennen und weitere Versuche, diese Antikörper aus dem Serum zu entfernen, ohne die hämolytischen stark abzuschwächen, schlugen fehl. Weitere Versuche werden sich in dieser Richtung bewegen müssen. Vielleicht verspricht die Adsorption mit künstlichen Emulsionen mehr Erfolg als die Bindungsversuche mit Organbrei, gekochtem Blut usw. Ueber die erwähnten Erschöpfungsversuche siehe Tabelle VI.

Tabelle VI.
Hammelhäemolytisches Kaninchenserum.
Erschöpfungsversuch.

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	0,0001	Natives Serum
kpl +++ θ	kpl +++ θ	kpl +++ θ	kpl +++ θ	kpl ++ θ	kpl ++ m	kpl ++ f.kpl	kpl θ kpl	f.kpl θ kpl	m θ kpl	Hämolyse Agglutination Komplement- verbrauch
2mal je 0,75 ccm Vollblut gewaschen, zentrifugiert, damit 3 ccm der Verdünnung 1:5 erschöpft.										
0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	0,0005	0,0002	0,0001	
θ +++ θ	θ +++ θ	Sp +++ θ	m ++ θ	θ + m	θ + f.kpl	θ θ kpl	θ θ kpl	θ θ kpl	θ θ kpl	Hämolyse Agglutination Komplement- verbrauch

Erschöpfungsversuche.
Menschenhämolysches Kaninchenserum.

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	Natives Serum
k	k	k	k	θ	θ	θ	Hämolyse (1 ccm 5-proz. Blut)
+++	+++	+++	++	++	θ	θ	Agglutination (1 Tropfen 10-proz. Blut)
θ	θ	θ	θ	k	k	k	Komplementverbrauch. Antigen: 1 ccm 10-proz. Blut, 0,05 Komplement.

15 ccm 10-proz. Blutaufschwemmung werden zentrifugiert, mit dem Bodensatz 4 ccm einer Serumverdünnung 1:5 erschöpft.

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	Serum erschöpft
m	Sp	Sp	θ	θ	θ	θ	Hämolyse
+++	+++	+++	+	θ	θ	θ	Agglutination
θ	θ	θ	f.k	k	k	k	Komplementverbrauch

Hundehämolysches Kaninchenserum.

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	Natives Serum
k	k	k	f.k	st	θ	θ	Hämolyse
+++	+++	+++	+++	+++	++	θ	Agglutination
θ	θ	θ	θ	θ	st	k	Komplementverbrauch

3 ccm der Serumverdünnung 1:5 erschöpft mit 1,5 ccm gewaschenem Vollblut.

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	Serum erschöpft
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	Hämolyse
+++	+++	++	++	++	θ	0	Agglutination
θ	θ	θ	θ	m	k	k	Komplementverbrauch

Tabelle VII.

Antihammelserum.

Parallelversuch mit nativem und gekochtem Blut.

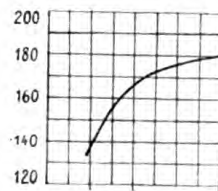
Natives Blut.

Angeboten 200 lös. Dos.

1 ccm 5-proz. Blutaufschw.	adsorbiert:	180 lös. Dos.
1 „ 2,5-proz. „	„	167 „ „
1 „ 1,25-proz. „	„	134 „ „

Komplementbindung.

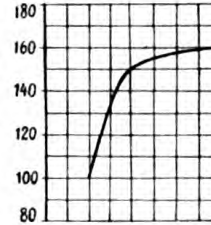
0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
θ	θ	θ	θ	θ	θ	k



Kurve 11.

Gekochtes Blut.

Angeboden 200 lös. Dos.
 1 ccm 5-proz. Blutaufschw. adsorbiert: 160 lös. Dos.
 1 „ 2,5-proz. „ „ 150 „ „
 1 „ 1,25-proz. „ „ 100 „ „



Kurve 12.

Komplementbindung*).

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
θ	θ	θ	θ	k	k	k

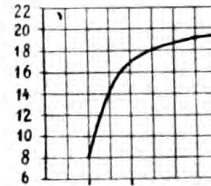
*) Als Antigen 1 ccm 10-proz. gekochter Blutaufschwemmung.

Antihundserum.

Parallelversuch mit nativem und gekochtem Blut (1 Std. im Dampftopf).

Natives Blut.

Angeboden 33 lös. Dos.
 1 ccm 5-proz. Blutaufschw. adsorbiert: 19 lös. Dos.
 1 „ 2,5-proz. „ „ 17 „ „
 1 „ 1,25-proz. „ „ 8 „ „



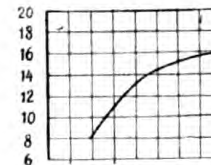
Kurve 13.

Komplementbindung.

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
θ	θ	θ	θ	k	k	k

Gekochtes Blut.

Angeboden 33 lös. Dos.
 1 ccm 5-proz. Blutaufschw. adsorbiert: 16 lös. Dos.
 1 „ 2,5-proz. „ „ 13 „ „
 1 „ 1,25-proz. „ „ 8 „ „



Kurve 14.

Komplementbindung*).

0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
θ	θ	Sp	k	k	k	k

*) Als Antigen 1 ccm einer 10-proz. gekochten Blutaufschwemmung.

Weiter wurde noch die Bindung der Immunkörper an gekochtem Blut untersucht. Diese Versuche zeigten, daß die Bindungskraft roter Blutkörperchen, die 1 Stunde der Temperatur von 100° C ausgesetzt waren, nur unwesentlich abnimmt, wie das von Landsteiner und Prašek für gekochte Blutkörperchen und Stromata beschrieben worden ist. Die Bindungsversuche Forssmans und Muirs und Fergusons sind mit unzulänglicher Versuchsanordnung aufgestellt, vor allem fehlt bei allen diesen Versuchen die Kon-

trolle, ob bei der Bindung der Immunstoffe an durch Hitze denaturierte Blutkörperchen nicht ebenso wie bei den Versuchen von Weil und Spät über die Adsorption von Präzipitinen an gekochtem Eiweiß unspezifische Adsorption vorliegt. Parallelversuche mit nativem und gekochtem homologen und heterologen Blut erwiesen aber eindeutig, daß die Adsorption an heterologes Blut, sei es nativ oder gekocht, äußerst gering und bei den kleinen zur Adsorption verwendeten Blutmengen praktisch überhaupt nicht nachweisbar sei. Für die Komplement verbrauchenden Antikörper konnte man dieses Resultat ohne weiteres voraussagen, da ja nach den Untersuchungen Weils unspezifisch adsorbierte Antikörper kein Komplement binden. Gleichzeitig widerlegen diese Resultate, und außerdem noch Kontrollversuche, die mit Serum als Antigen aufgestellt wurden, den Einwand, daß die Präzipitine es seien, die den Komplementverbrauch in den Versuchen auf Tabelle V, VI und VII bedingen.

Zusammenfassung.

1) Die Bindung des hämolytischen Ambozeptors an das homologe Blutkörperchen erfolgt im allgemeinen nach den Gesetzen der Adsorption.

2) Die gegen Menschen- und Hundeblood gerichteten Ambozeptoren zeigen eine geringere Avidität als die auf gleiche Weise erzeugten Hammelblutambozeptoren.

3) Es gelingt, durch einfaches Erschöpfen der Immunsera mit ihrem homologen Antigen die Hämolytine von den Hämagglutininen zu trennen.

4) Da der Komplementverbrauch erschöpfter Seren ebenso wie die Agglutination gegenüber dem nativen Serum nur geringfügig abgeschwächt erscheint, während die Hämolytine fast vollständig entfernt sind, ist die Annahme gerechtfertigt, daß die Agglutinine es sind, welche den Komplementverbrauch bedingen.

Literatur.

Arrhenius, Immunochemie.

Bechhold, Kolloide in Medizin und Biologie.

Landsteiner und Prašek, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1911, 1912.

Weil, Biochem. Zeitschr., 1913, 1914.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Dr. O. Bail).]

Variationserscheinungen in der Paratyphusgruppe.

Von **F. Breinl** und **M. Fischer**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Juni 1922.)

Der Bacillus paratyphi B scheint gegenüber der variationsanregenden Wirkung des Alterns einer Kultur im flüssigen Medium wesentlich resistenter zu sein als die übrigen Keime dieser Gruppe. Das Ziel dieser Untersuchung — eine serologisch-differente Abart des Paratyphus B experimentell zu erzeugen — wurde erst nach 12monatiger Beeinflussung der Ausgangskultur erreicht. Vielleicht sind aber andere Paratyphus B-Stämme in ihrem antigenen Bau weniger fest als der hier beschriebene.

Ein seit Jahren im Laboratorium verwendeter Paratyphus B-Stamm wurde nach mehreren Plattenaussaaten in Bouillonröhrchen verimpft, die mit Watte leicht verschlossen bei Zimmertemperatur gehalten wurden. Die ersten Ausstriche, nach 3 Monaten angelegt, zeigten (Phase I) typische Paratyphus B-Kolonien und daneben solche, die den charakteristischen Schleimwall verloren hatten, auch in ihrer Oberflächen- und Randbeschaffenheit vom Ausgangstypus abwichen. Von diesen morphologischen Eigenheiten abgesehen, stimmten sie in allen Punkten mit dem Paratyphus B überein.

Nach weiteren 3 Monaten — die Nährlösung war auf etwa $\frac{1}{10}$ ihres Ausgangsvolumen eingengt und tiefbraun gefärbt — erscheinen auf der Platte (Phase II) neben den schon beschriebenen Formen derbe schleimlose Kolonien, deren glatte Oberfläche sich nach mehrtägigem Wachstum in Falten — konzentrisch um eine zentrale Vertiefung — legt. Diese Kolonien werden allmählich hart, sie zerfallen beim Abimpfen in Stücke und verfärben sich auf Drigalskiagar tiefblau, wodurch sie

unter den anderen Kolonien leicht kenntlich sind. Serologisch ist auch diese Abart vom Ausgangsstamm in keiner Weise zu unterscheiden, nur die leichte Spontanagglutinabilität, die übrigens nach mehreren Agarpassagen zu verschwinden pflegt, zeigt eine geringe Alteration ihrer Leibessubstanz an.

Eine Kolonie dieser Art wurde in frische Bouillon übertragen und wiederum 6 Monate bei Zimmertemperatur gehalten. Nach dieser Zeit erschien im Plattenausstrich (Phase III) eine Fülle eigenartiger Kolonieformen:

I. Normale Paratyphus B-Kolonien.

II. Kolonien der Phase I.

III. Kolonien der Phase II.

IV. Schleimkolonien: a) Die Schleimbildung erfolgt nicht wie beim normalen Paratyphus B am Rande der Kolonie, sondern schreitet vom Zentrum aus gegen die Peripherie fort, eine Randzone bleibt frei. b) Die Kolonien verschleimen vollständig, sind fadenziehend, vom Bazillus Friedländer nicht zu unterscheiden.

V. Riesenkolonien: flach mit schwach gewulsteten Rändern, erreichen nach 48 Std. einen Durchmesser bis 15 mm. Spontanflockend.

VI. Zwergkolonien: a) Nach 24stünd. Wachstum eben mit der Lupe erkennbar, erreichen sie nach mehreren Tagen die Größe eines Stecknadelkopfes, gelblich undurchsichtig. Neigen zum Rückschlag in flache, schleimlose Kolonien. b) Ständig rückschlagende Sippe, etwas größer, knopfartig, jede einzelne Kolonie schlägt zurück, indem aus ihr eine flache graue Kolonie hervorsproßt, die überimpft, als solche konstant bleibt. Aus den Knöpfen gehen immer ständig rückschlagende Kolonien hervor.

VII. In Normalkolonien eingeschlossene schleimlose opake Sektoren. Aus einem solchen Sektor gehen a) mittelgroße, glattrandige Kolonien hervor, die, im durchfallenden Lichte betrachtet, eine radiäre Struktur erkennen lassen. Nach wiederholter Plattenaussaat spaltet diese Kolonie in zwei Abarten auf; b) trübe gezacktrandige Kolonien mit gekörnter Oberfläche; c) helle, glattrandige, mit glatter Oberfläche. Die letztgenannte Art (c) ist in ihrem Aussehen am ehesten einer jungen Paratyphus A-Kolonie zu vergleichen.

Alle die aufgezählten Spielarten gleichen in ihrem fermentativen Vermögen gegenüber den gebräuchlichen Kohlehydraten vollständig dem normalen Paratyphus B. Die einzelnen Stäbchen der Stämme IVa, VI, VIIa und VIIc sind etwas kürzer, plumper als die des Ausgangsstammes und im Gegensatz zu ihm fast völlig geißellos, nur einzelne Exemplare sind — nach Zettnow gefärbt — mit spärlichen Geißeln besetzt. Diese morphologischen Besonderheiten sind nunmehr seit einem Jahre bei fast täglicher Ueberimpfung unverändert geblieben. Auch eine Reihe von 30 Bouillonpassagen, die im Abstände von 24 Std. eigens zum Zwecke der Konstanzprüfung angestellt wurde, blieb ohne Wirkung. Ebenso hielt der antigene Bau der einzelnen Varianten — der jetzt ausführlich besprochen werden soll — allen Uebertragungen stand.

Die Kolonietypen II, III, IVa, V, VIb und VIIb reagieren im Paratyphus B-Serum ganz ebenso wie der erzeugende Originalstamm (I), während die übrigen Stämme sich durch die Art der Agglutination unterscheiden; sie fallen auch in starken Serumkonzentrationen ausschließlich in feinen Flocken aus.

Tabelle I.
Paratyphus B-Serum.

Stamm	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000	Art der Agglutination
I	+++	+++	+++	+++	+++	++±	++	++	grobe und feine Flocken
IVb	+++	+++	+++	++±	++	+	—	—	feine Flocken
VIa	+++	+++	++	++	+	±	—	—	” ”
VIIa	+++	+++	+++	++±	++	++	+	±	” ”
VIIc	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	” ”

Obwohl diese Stämme in gleicher Weise agglutiniert werden und im Bindungsversuch nur das feinflockende Agglutinin aus dem B-Serum entfernen, stimmen sie doch in ihrem Rezeptorengehalt nicht ganz überein. Die Varianten IVb und VIa erzeugen, als Antigen verwendet, ein Immuneserum, das beide Agglutinintypen für den Ausgangsstamm (I) enthält. Als Beispiel sei ein Versuch mit dem Serum IVb angeführt¹⁾.

1) Technik der Erschöpfung wie in den vorhergehenden Arbeiten beschrieben.

Tabelle IIa.
Serum IVb.

Aggluti- niert	Erschöpft									Art der Aggluti- nation		
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000			
B(I)	θ	+++	+++	+++	+++	++f ¹⁾	++f ¹⁾	—	—	—	grob u. fein	
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	IV b	++	++	+	±	—	—	—	—	—		grob grob
	B (I) 100°	++	++	++	++	++	±	—	—	—		
	IV b 100°	++	++	++	++	++	+	±	—	—	grob fein	
IV b	θ	+++	+++	+++±	++	++	+	+	±	—		
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	fein fein	
	IV b	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	B (I) 100°	++	+	±	—	—	—	—	—	—		
	IV b 100°	++	+	±	—	—	—	—	—	—		

Tabelle II b.
Serum Paratyphus B (I).

Aggluti- niert	Erschöpft									Art der Aggluti- nation	
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000		
B(I)	θ	+++	+++	+++	+++	+++±	++	++	+	+	grob u. fein grob „ „ „
	Paraty B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	IV b	++	++	++	++	++	+	±	—	—	
	B 100°	++	++	++	++	+	±	—	—	—	
	IV b 100°	++	++	++	++	+	+	±	—	—	fein
IV b	θ	++	++	++	++	++	+	—	—	—	
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	fein
	IV b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	B (I) 100°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	IV b 100°	+	—	—	—	—	—	—	—	—	

Die beiden Immunsere stimmen danach in bezug auf ihren Antikörpergehalt vollständig überein. Die Tatsache, daß der Stamm IV b nur das feinflockende Agglutinin bindet, während er auch das grobflockende erzeugt, dürfte so zu erklären sein, daß der grobflockende Rezeptor nicht vollkommen verloren gegangen ist, sondern nur so weit, daß der verbliebene Rest zur Erzeugung des homologen Antikörpers noch hinreicht, aber nicht mehr imstande ist, ihn in merkbarer Menge zu binden. Der Stamm IV a produziert auch, wie aus Tabelle II a zu entnehmen ist, weit weniger grobflockende

1) f = rein feine Agglutination.

Agglutinine als der B (I). Nimmt man an, daß der grobflockende Rezeptor mit dem Geißelapparat identisch ist, so spricht für diese Erklärung der schon erwähnte Befund, daß der Stamm IV b bedeutend schwächer begeißelt ist, als der normale Paratyphus B. Aus dem Versuch geht weiter hervor, daß der Stamm IV b durch den Variationsvorgang tatsächlich nur den grobflockenden-thermolabilen Rezeptor verloren hat, denn der Ausgangsstamm, 1 Stunde auf 100° erhitzt, verhält sich im Immunserum ebenso wie der IV b, während dieser — 1 Stunde auf 100° erhitzt — keine Veränderung seines Bindungsvermögens erleidet.

Ebenso hat auch der Stamm VI a seinen grobflockenden Rezeptor nur teilweise verloren.

Anders verhalten sich die Stämme VII a und VII c. VII a, dessen Kolonie eine trübe radiäre Zeichnung aufweist und der in der Folge in den ganz transparenten VII c und den ganz trüben VII b spaltet, erzeugt ein Serum, in dem alle Varianten ebenso wie der Ausgangsstamm B (I) rein feinflockend agglutiniert werden. Es kommt also beim Immunisierungsprozeß nur der feinflockende Rezeptor, nicht aber der in ihm auch enthaltene — im abgespaltenen Stamme VII b zur Entfaltung gelangte — grobflockende zur Geltung. Mit dem konstanten Stamme VII c erhält man ebenfalls ein rein feinflockendes Serum.

Tabelle III.

Serum	Stamm								Art der Agglutination
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
B (I)	B (I)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	grob u. fein
	VII c	+++	+++	+++	++	+	±	—	
VII c	B (I)	+++	+++	+++	++	++	+	—	fein
	VII c	++	++	++	++	++	+	—	„

Den antigenen Bau des Stammes VII c klären die folgenden Bindungsversuche im normalen Paratyphus B- und im Eigen serum auf (s. Tabelle IV a und IV b).

Der Umstand, daß der Stamm VII c erhitzt und unerhitzt aus dem normalen Paratyphus B-Serum nur das feinflockende Agglutinin bindet — ebenso wie der auf 100° erhitzte

Tabelle IV a.
Paratyphus B (I) Serum.

Aggluti- niert	Erschöpft								Art der Aggluti- nation	
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000		
B (I)	ϑ	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	grob u. fein	
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—		
	VII c	++	++	++	++	++	+	±		grob „ „ fein
	B (I) 100°	++	++	++	++	++	++	+		
	VII c 100°	++	++	++	++	++	++	+		
VII c	ϑ	+++	+++	++	++	+	±	—	fein	
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—		
	VII c	—	—	—	—	—	—	—		
	B (I) 100°	—	—	—	—	—	—	—		
	VII c 100°	—	—	—	—	—	—	—		

Tabelle IV b.
Serum VII c.

Aggluti- niert	Erschöpft								Art der Aggluti- nation	
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000		
B (I)	ϑ	+++	+++	++	+	±	—	—	fein	
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—		
	VII c	—	—	—	—	—	—	—		
	B (I) 100°	±	—	—	—	—	—	—		
	VII c 100°	—	—	—	—	—	—	—		
VII c	ϑ	+++	+++	+++	++	+±	+	—	fein	
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—		
	VII c	—	—	—	—	—	—	—		
	B (I) 100°	+	+	±	—	—	—	—		fein
	VII c 100°	—	—	—	—	—	—	—		

Stamm B (I) (siehe Tabelle IV a), beweist, daß er nur mehr den thermostabilen Rezeptor besitzt: das mit ihm behandelte Serum besitzt dann überhaupt keine Immunstoffe mehr (Tabelle IV b). Demnach ist der Stamm VII c als die „O-Form“ des Paratyphus B im Sinne von Weil und Felix zu bezeichnen¹⁾. Es muß betont werden, daß auch dieser Stamm nicht völlig geißelfrei ist; die Entscheidung, ob der thermolabile Rezeptor im Geißelapparat sein physisches Substrat hat, kann danach nicht mit Sicherheit getroffen werden.

1) Es ist möglich, daß Baerthlein bei seinen Variationsversuchen einen Stamm gleich VII c gezüchtet hat.

Ein vom Králschen Museum bezogener Stamm „Meißelbeck“ aus der Gruppe der Fleischvergifter verhielt sich im Paratyphus B-Serum ebenso wie die beschriebene Variante VII c und erzeugte ein Immunserum, in dem er selbst, sowie Paratyphus B und VII c rein feinflockend agglutiniert wurden. Es schien damit ein in der Natur vorkommender Keim gefunden zu sein, der in seinem antigenen Bau der experimentell erzeugten Variante vollständig gleicht. Doch erschienen schon nach wenigen Bouillonpassagen auf der Agarplatte Kolonien, die sich von den ursprünglichen durch gekörnte Oberfläche, gezackten Rand und geringere Transparenz unterschieden [Mei. neu]; sie reagierten mit beiden Agglutininen des normalen B-Serums und erzeugten sowohl grob- wie feinflockende Antikörper gegen B und sich selbst. Die Kolonien von ursprünglichem Typus, die die Bouillonpassagen überdauerten, blieben auch weiterhin morphologisch und serologisch konstant [Mei. alt]. In einem Kaninchen-Immunserum, das mit dem typischen Fleischvergifter „Breslau“ hergestellt war, verhielten sich die beiden Varianten des „Meißelbeck“ ebenso wie im B-Serum.

Tabelle V.

Agglutiniert	Serum	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000	Art der Agglutination
B (I)	B (I)	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	grob u. fein
	Breslau	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	dgl.
	Mei. alt	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	fein
	Mei. neu	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	grob u. fein
Breslau	B (I)	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	grob u. fein
	Breslau	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	dgl.
	Mei. alt	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	fein
	Mei. neu	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	grob u. fein
Mei. alt	B (I)	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	fein
	Breslau	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	„
	Mei. alt	+++	+++	+++	++	±	+	—	—	„
	Mei. neu	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	„
Mei. neu	B (I)	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	grob u. fein
	Breslau	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	dgl.
	Mei. alt	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	fein
	Mei. neu	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	grob u. fein

Danach steht der Stamm „Mei. alt“ im Verhältnis einer „O-Form“ zu „Mei. neu“: der grobflockende Rezeptor ist beim Altern der Kultur offenbar der Involution verfallen und

14*

erst beim Eintritt günstigerer Ernährungsbedingungen (Bouillonpassagen) bei einer Anzahl von Individuen wieder zur Entfaltung gelangt.

Tabelle VI.
Serum „Mei. neu“.

Agglutination	Erschöpft									Art der Agglutination
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000	
Mei. neu	θ	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	grob und fein
	Mei. neu	—	—	—	—	—	—	—	—	
Mei. alt	Mei. alt	+++	+++	++±	++	+	±	—	—	grob
	θ	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	
Mei. alt	Mei. neu	—	—	—	—	—	—	—	—	fein
	Mei. alt	—	—	—	—	—	—	—	—	

Das Serum „Mei. neu“, mit dem Stamm „Mei. alt“ erschöpft, behält tatsächlich nur die grobflockenden Agglutinine. „Mei. alt“ unterscheidet sich also vom erzeugenden Stamme durch das Fehlen der thermolabilen Rezeptors.

Der Rezeptorenapparat des Stammes „Mei. neu“ zeigt bei serologischer Analyse volle Uebereinstimmung mit den Befunden, die Schiff an Fleischvergiftungen erhoben hat.

Tabelle VIIa.
Serum Paratyphus B (I).

Agglutination	Erschöpft									Art der Agglutination
		1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000	
B (I)	θ	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	grob u. fein
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Mei. neu	Mei. neu	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	grob
	θ	+++	+++	+++	++±	++	++	+	±	
Mei. neu	B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	grob u. fein
	Mei. neu	—	—	—	—	—	—	—	—	

Jeder der beiden Stämme (Paratyphus B und „Mei. neu“) wird vom Serum des anderen in groben und kleinen Flocken agglutiniert und ist doch nicht imstande, dieses Serum vollständig — wie das Eigenserum — zu erschöpfen: entfernt wird aus dem fremden Serum nur das feinflockende Agglutinin und eine Komponente des grobflockenden, während ein mehr oder weniger erheblicher Rest des letzteren immer zurück-

Tabelle VIIb.
Serum „Mei. neu“.

Aggluti- nation	Erschöpft	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000	1:20 000	Art der Aggluti- nation
B (I)	θ	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	grob u. fein
	B (I)	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Mei. neu	—	—	—	—	—	—	—	—	
Mei. neu	θ	+++	+++	+++	++	++	+	±	—	grob u. fein grob
	B (I)	++	++	+	+	—	—	—	—	
	Mei. neu	—	—	—	—	—	—	—	—	

gelassen wird. Daraus ist zu schließen, daß der thermostabile und ein thermolabiler Rezeptor beiden Stämmen gemeinsam sind, während jeder der Stämme außerdem noch einen zweiten labilen Rezeptor besitzt, an dem seine spezifische Gruppenzugehörigkeit — Paratyphus B oder Fleischvergifter — kenntlich ist.

Der Stamm „Breslau“ verhielt sich in mehreren Versuchen, von deren Mitteilung abgesehen werden kann, ebenso wie der Stamm „Mei. neu“, das Immuserum „Breslau“ ebenso wie das Immuserum „Mei. neu“. — Im kreuzweisen Bindungsversuch werden beide Sera vollständig erschöpft.

Die beschriebene Meißelbeckvariante ist durch den Verlust beider grobflockender Rezeptoren aus dem — durch Rückschlag wiedergewonnenen — Ausgangsstamm entstanden, ebenso wie die B-Variante VII c aus dem Originalstamm B (I). Beide besitzen nur noch den der Paratyphus B- und Fleischvergiftergruppe gemeinsamen thermostabilen Rezeptor, daher erschöpft jede der beiden Varianten das Eigenserum der anderen ebenso vollständig wie das selbsterzeugte.

Tabelle VIIIa.
Serum VII c unerschöpft und erschöpft mit „Mei. alt“.

Stamm	Unerschöpft	Erschöpft
B (I)	Agglutinat. ¹⁾ bis 1:25 000 f	θ
VII c	1:10 000 f	θ
Mei. neu	1:5000 f	θ
Mei. alt	1:5000 f	θ

Tabelle VIIIb.
Serum „Mei. alt“ unerschöpft und erschöpft mit VII c.

Stamm	Unerschöpft	Erschöpft
B (I)	Agglutinat. ¹⁾ bis 1:10 000	1:200 +
VII c	1:10 000	θ
Mei. neu	1:10 000	θ
Mei. alt	1:5000	

1) Agglutination in feinen Flocken.

Die beiden Stämme stimmen in ihrem antigenen Bau vollständig überein: es sind in jedem Falle zwei grobflockende Rezeptoren verloren gegangen. Die Züchtung einer Variante, die neben dem stabilen noch einen labilen Rezeptor behalten hat, ist trotz Aufwendung einiger darauf verwendeter Mühe nicht gelungen. Mit Hilfe kultureller und serologischer Methoden läßt sich nicht entscheiden, welcher der beiden Stämme von der Paratyphus-, welcher von der Fleischvergiftergruppe abstammt: sie nehmen eine Mittelstellung zwischen diesen Gruppen ein. Die pathogenen Eigenschaften der beiden Stämme sollen später untersucht werden.

Zusammenfassung.

Durch systematische Variationsversuche gelingt es, aus einem Paratyphus B-Stamm eine Reihe von Varianten abzuspalten. Darunter eine solche, die nur mehr den thermostabilen Rezeptor besitzt (O-Form). Eine ebensolche Variante wurde aus dem Fleischvergiftungsstamme „Meißelbeck“ gezüchtet. Diese beiden Varianten sind voneinander weder auf kulturellem noch auf serologischem Wege zu trennen.

Literatur.

- Baerthlein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 81.
Schiff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33.
Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Beiträge zur Frage der Tuberkulinimmunität, speziell auch zu der der antigenen Wirkung des Tuberkulins.

Von Dr. A. Wolff-Eisner, Berlin.

Mit 9 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. März 1922.)

Das Ergebnis meiner bisherigen Untersuchungen über Tuberkuloseimmunität, wie ich es an anderer Stelle ausführlich niedergelegt habe, läßt sich folgendermaßen kurz zusammenfassen:

Die Gifte des Tuberkelbazillus sind die Tuberkuline. Dieses Tuberkulin ist kein Toxin (vom Charakter des Diphtherie- oder Tetanustoxins):

- a) weil es nicht primär-toxisch ist, sondern ein Gift vom Charakter der Eiweißgifte (Endotoxine);
- b) weil die Einverleibung von Tuberkulin nicht die Bildung von Antitoxinen auslöst.

Es ist nach meiner Ansicht einer der Hauptfortschritte der neuen, seit ca. 13 Jahren einsetzenden Periode der Tuberkuloseforschung, daß der Beweis erbracht ist, daß das Tuberkulin kein primäres Toxin, wie Hamburger dies nennt, ist, sondern daß es erst toxisch wirkt unter dem Einfluß von Stoffen, welche der Körper hinzugeben muß: Stoffe bakteriolytischer Natur, wie sie meine Theorie annimmt.

Daß diese Anschauung über das Tuberkulin sich nur langsam Eingang verschaffen konnte, liegt an einem von Koch selbst ausgeführten und anscheinend beweisenden Versuch. Koch selbst hatte auf 2 cg Tuberkulin Reaktion gezeigt und hatte daraus den an sich sehr naheliegenden Schluß gezogen, daß auch beim Normalen 2 cg Tuberkulin an sich Reaktion auszulösen vermöchten, daß also 2 cg für sich allein toxisch zu wirken vermögen. Diese hieraus resultierende irrite

Anschauung über die Natur des Tuberkulins galt bis zum Erscheinen der oben angeführten Publikation als ein nie angefochtenes Dogma. Wenn man an sich experimentiert, ist es von vornherein naheliegend, sich für den Gesunden und den Normalen zu halten, und doch muß man immer wieder darauf hinweisen, daß der Begriff des Normalen gegenüber der tuberkulösen Infektion durchaus kein so eindeutiger ist wie gegenüber fast jeder anderen Krankheit.

Wenn für diese Reaktionsstoffe, die aus Tuberkulin und Tuberkelbazillensubstanzen Gifte in Freiheit setzen, eine gleiche Struktur, wie für die Hämolysine und Bakteriolyse angenommen wird, und diese Stoffe ausdrücklich als Ambozeptor bezeichnet werden (cf. Bestätigung bei Ruppel), so folgt mit logischer Notwendigkeit aus den Prämissen, daß zum Inwirkungtreten das passende Komplement gehört.

Es treten zur Erzielung der Tuberkulinwirkung also zusammen:

Die Leibesgifte des Tuberkelbazillus, enthalten z. B. im käuflichen Alttuberkulin	und	Reaktionsstoffe des Körpers auf die Einwirkung von Tuberkelbazillengiften: Albumino-Lysine vom Bau der Bakteriolyse = Ambozeptoren + passendes Komplement.
---	-----	---

Sie ergeben einen löslichen Stoff, den Träger der sogenannten Tuberkulinwirkung.

Sahli folgert dies — wie sich dies für jeden mit Immunitätsfragen Vertrauten von selbst versteht — aus meinen Darlegungen, vermißt aber einen direkten Hinweis, der hiermit gegeben wird.

Nicht nur die Infreihetsetzung der Tuberkelbazillengifte, sondern den ganzen Vorgang der Ueberempfindlichkeit denke ich unter dem Vorgang der Bakteriolyse, d. h. bedingt durch das Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement, und habe die Lehre von der lytischen Grundlage der Ueberempfindlichkeit in vielen Kämpfen v. Pirquet gegenüber vertreten. R. Pfeiffer sah anfangs nichts weiter in diesem Kampfe als eine Popularisierung seiner Typhus- und Cholerabakteriolyse.

Diese Ansicht, die R. Pfeiffer anscheinend selbst nicht mehr aufrecht erhält, dürfte kaum zutreffend sein; denn die Bedeutung der Ueberempfindlichkeit geht weit über das Gebiet

des bakteriellen Lebens hinaus. Falls meine Anschauungen zutreffen, bedeuten sie, daß das Gesetz der von Pfeiffer für Cholera und Typhus gefundenen Bakteriolyse für die gesamte Resorption des Eiweiß im Tierkörper gilt und somit alle Abwehr-, Immunitäts- und Krankheitserscheinungen bei der Infektion und bei der Resorption von Eiweiß umfaßt.

Einige Jahre später hat sich ein anderer Schüler von R. Pfeiffer, E. Friedberger, in umfangreichen Arbeiten ebenfalls mit dem Mechanismus der Ueberempfindlichkeit befaßt. Er kommt zu dem Resultat, daß das Ueberempfindlichkeitsgift unter Komplementverbrauch abgespalten wird. Ich sehe in den wertvollen Arbeiten Friedbergers vor allem eine prinzipielle Bestätigung meines Standpunktes und kann nicht erkennen, wo denn eine prinzipielle Differenz liegen sollte. Mir ist die Bakteriolyse ein Bild, genau so wie die Seitenkettentheorie ein schönes Bild, das die Brücke zwischen den sichtbaren Erscheinungen bei der Typhusinfektion und den nur aus den Folgeerscheinungen zu erschließenden bei der Serumkrankheit, beim Heufieber, bei der Tuberkulinwirkung schlägt. Daß es sich bei der Lyse des Eiweiß, bei der von mir so genannten Albuminolyse, nur um ein Bild handelt, habe ich von 1906 an bis jetzt vertreten und unter anderem in der Berliner klin. Wochenschrift¹⁾ ausgeführt, daß ich Lyse, Verdauung und Abbau gewissermaßen als Synonyma für den gleichen Vorgang ansehe.

Und ich sehe auch keinen Grund ein, warum man den Abbau sich nicht unter dem wohlvertrauten Bilde einer Bakteriolyse resp. Lyse vorstellen soll. Niemand sollte das Bild vertrauter sein als Friedberger, diesem Schüler Pfeiffers, der ja gerade nachgewiesen hat, daß bei der Abspaltung des „Anaphylaxiegiftes“ Komplement verbraucht wird, was am zwanglosesten sich in die Erscheinungsform lytischer resp. bakteriolytischer Vorgänge einordnen läßt.

Und was wird gegen den Gebrauch des Bildes angeführt? Daß normales Meerschweinchenserum aus Tuberkelbazillen Gift in Freiheit setzt, ohne daß Bakteriolyse nachweisbar ist. Nun habe ich aber selbst wiederholt darauf hingewiesen, daß

1) Ueber die Beziehungen zwischen der Theorie der Tuberkulinwirkung und der Tuberkulintherapie. Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 36.

bei Tuberkelbazillen der morphologische Vorgang der Auflösung selbst nie nachweisbar zu sein scheint¹⁾, obwohl alle Erfahrungen über Immunität (cf. Römer und Wolff-Eisner) zwingend auf das reale Vorhandensein einer Bakteriolyse von Tuberkelbazillen hinweisen, und ich habe schon früher die optischen Gründe angeführt, welche den optischen Nachweis einer Bakteriolyse von dem Zusammentreffen einer Reihe von glücklichen Umständen abhängig machen, wie er gerade bei Typhus- und Cholerabazillen am günstigsten realisiert ist.

Leider haben die positiven Tuberkulinreaktionen bei klinisch völlig gesunden Menschen (Franz, v. Pirquet, Wolff-Eisner u. v. a.) noch immer nicht zu der einzig möglichen Folgerung geführt, daß die Mehrzahl der Menschen gegenüber der Infektion mit Tuberkelbazillen nicht „normal“ sich verhalten, wenn man hier unter „normal“ völlige Tuberkulosefreiheit im pathologisch-anatomischen und bakteriologischen Sinne verstehen will.

Im Prinzip sind die Ergebnisse der bakteriologischen und pathologisch-anatomischen Untersuchung als sich deckende anzusehen, d. h. die Fälle mit pathologisch-anatomisch nachweisbaren Herden sind dieselben, die in irgendeiner Weise auf Tuberkulin reagieren, wenn man wiederholt subkutan injiziert (auf Kutanimpfung, auf Stichinjektion, auf wiederholte konjunktivale Applikation etc.).

Die bisweilen auftretenden Divergenzen zwischen pathologisch-anatomischem Befund und Ergebnis der Tuberkulinreaktion, die besonders bei den großen Tuberkulinimpfungsserien, die bei Rindern mit nachfolgender Schlachtung ausgeführt wurden und zu umfangreichen Diskussionen und zur Feststellung einer prozentuellen Fehlerquelle (Fehlerquotient) bei Tuberkulininjektionen geführt haben, erklären sich in ungezwungenster Weise aus der Schwierigkeit, bei der Sektion auch nicht einen kleinen tuberkulösen Herd zu übersehen. Um diese Fehlerquelle einzuschränken, hat man die exakteste mikroskopische Untersuchung in Serienschnitten verlangt, und auch dies hat sich als nicht genügend erwiesen, und man müßte zahlreiche Tierversuche noch anstellen, um mit einigem Recht behaupten zu können: „Der aus einer positiven Tuberkulinreaktion gezogene Schluß, daß das betr. Individuum einmal mit Tuberkelbazillen in Reaktionskontakt getreten sei, sei irrig gewesen.“ Und selbst dieser Schluß wäre falsch. Denn wir kennen jetzt mitigierte Infektionen, die selbst beim Meerschweinchen erst in 13—16 Monaten oder

1) Neuerdings wird übrigens von verschiedenen Autoren (Ruppel u. a.) berichtet, daß sie die Auflösung von Tuberkelbazillen unter Serumwirkung beobachtet haben.

gar nicht zum Tode führen¹⁾, die den Meerschweinchenversuch daher nicht mehr als absolut beweiskräftig erscheinen lassen.

I. Negativer Sektionsbefund bei positiver Tuberkulinreaktion berechtigt daher nach dem heutigen Stand der Forschung den Pathologen kaum jemals, die biologische Bedeutung der positiven Tuberkulinreaktion anzuzweifeln.

II. Positiver Sektionsbefund bei negativer Tuberkulinreaktion ist ein nicht seltenes Vorkommnis. Es handelt sich dabei:

- a) um kleine, meist in gering vaskularisiertem Gewebe liegende tuberkulöse Herde, welche nicht die zur Herbeiführung einer Reaktion erforderliche Umstimmung des Körpers (z. B. Lysinbildung) ausgelöst haben,
- b) um progrediente Prozesse, bei denen, wie jetzt allgemein anerkannt wird, die Tuberkulinreaktionen ausbleiben. (Die Gründe sind komplizierter Natur und sei hier auf sie nicht weiter eingegangen; cf. l. c.²⁾.)

Im Untersucher liegende Fehlerquellen, wie falsche Messungen etc., sind hier nicht einmal berücksichtigt, so daß der geringe Fehlerquotient zwischen Tuberkulinreaktion und pathologisch-anatomischem Befund geradezu Erstaunen erregen muß, und nur dadurch zu erklären ist, daß es sich bei den Impfungen der Rinder mit Tuberkulin nur ausnahmsweise um schwerkranke Tiere gehandelt hat.

Versuche, die über das Verhalten von Tuberkulosefreien gegenüber dem Tuberkulin eine Antwort geben, sollten nicht an Erwachsenen durchgeführt werden, bei denen vollkommene Tuberkulosefreiheit eine Seltenheit ist, sondern müssen an kleinen Kindern (am besten Säuglingen) oder an Tieren angestellt werden, bei denen das Vorkommen von Tuberkulose eine Seltenheit ist.

Es sind nicht nur bakteriologische Beweise (Schlußfolgerungen aus dem positiven Ausfall der Tuberkulinreaktionen), welche zeigen, daß die überwiegende Mehrzahl der Erwachsenen als tuberkulös infiziert zu gelten haben, sondern auch die — wie oben nachgewiesen — in ihren Ergebnissen identischen, pathologisch-anatomischen Untersuchungen Nägelis haben bei ca. 90 Proz. der Erwachsenen den Nachweis einer durchgemachten tuberkulösen Infektion erbracht, und mit diesen Untersuchungen stehen die Ergebnisse der spezifischen Tuberkulinreaktionen, der Stichreaktion mit Tuberkulin, der

1) Cf. A. Wolff-Eisner, Die soziale Bedeutung der neueren Tuberkuloseforschung. Mediz. Reform, 1908, S. 509.

2) Wolff-Eisner, Frühdiagnose und Tuberkuloseimmunität, Würzburg 1909; 3. Aufl. Leipzig 1921.

Kutanreaktion, der wiederholt ausgeführten Subkutan- resp. Konjunktivalreaktionen in geradezu erstaunlicher Uebereinstimmung.

Da von Erwachsenen nicht nur die Mehrzahl, sondern sogar die meisten auf Tuberkulin positiv reagieren, so könnte man leicht irrigerweise zu der Ansicht kommen, daß der Mensch normalerweise auf Tuberkulin reagiert. Wenn man aber unter einem normalen Menschen einen solchen versteht, der vollkommen frei von tuberkulöser Infektion ist, so liegen hier die Verhältnisse ganz anders. Ueber diese Verhältnisse verschaffen Versuche an gesunden Säuglingen oder an gesunden Tieren ein richtiges Bild. Das Ergebnis ist dann folgendes:

Tuberkulosefreie reagieren nicht auf 2 cg Tuberkulin, auch nicht auf höhere Dosen; zur Reaktion auf Tuberkulin gehört, daß das betreffende Individuum unter dem Einfluß einer tuberkulösen Infektion gestanden hat. Ohne die Umstimmung des Körpers durch eine tuberkulöse Infektion ist Tuberkulin völlig unwirksam: Tuberkulin ist eben, wie wir oben an die Spitze dieser Ausführungen gestellt haben, kein primäres Toxin, sondern ist völlig unwirksam, wenn nicht im Körper vorhandene Reaktionsstoffe aus ihm ein Gift freimachen.

Diese Feststellung bedeutete eine Uebertragung der lytischen Theorie der Ueberempfindlichkeit auf die Tuberkulose. Die Tuberkulose hatte auf dem Gebiet der Infektionskrankheiten eine ausgesprochene Sonderstellung, daß es zunächst fraglich sein konnte, ob die Uebertragung der lytischen Theorie (Giftaufschließung und Bakterienzerstörung nach Analogie der Bakteriolyse = Hämolyse) zutrifft. Die Resistenz der Tuberkelbazillen gegen alle chemischen und mechanischen Einflüsse schien schon allein eine Sonderstellung zu begründen. Ebenso schien die weitgehende Spezifität des Tuberkulins gegen die Einheitlichkeit des Anaphylaxiegiftes, wie sie von E. Friedberger postuliert wird, zu sprechen.

Jedenfalls hat die lytische Auffassung der Tuberkulinwirkung, wie besonders aus den Arbeiten von Sahli, Saat-

hoff und Römer hervorgeht, eine weitgehende heuristische Bedeutung gehabt, und die Anschauung, daß im Ablauf der Tuberkuloseerkrankung Immunitätsvorgänge mit im Spiel sind, hat erst seitdem festen Fuß fassen können.

Die lytische Theorie fand zuerst in Römer einen Befürworter, der wichtiges Beweismaterial noch hinzubachte. Die Untersuchungen von Römer und meine eigenen zeigten, daß die nach dem Ueberstehen einer tuberkulösen Infektion zurückbleibende Empfindlichkeit gegen Tuberkulin, oder wenn man will Ueberempfindlichkeit, einen sehr hochgradigen, ja vielleicht sogar den einzig möglichen Schutz gegenüber einer tuberkulösen Infektion verleiht. Dieser Schutz versagt nur in einem Falle, wenn es sich nämlich um eine sogenannte massive Infektion¹⁾ handelt, der gegenüber dann diejenige Form der Ueberempfindlichkeit in die Erscheinung tritt, die nicht in beschleunigter Reaktion mit konsekutiver Vernichtung der Infektionserreger in Erscheinung tritt.

Das Hauptergebnis der oben ausgeführten Versuche ist also, daß auf Tuberkulin nur dann Reaktion eintritt, wenn der Körper etwas zu dem Tuberkulin hinzuzugeben vermag, wenn er, wie ich es ausdrücke, das Tuberkulin aufschließt. Solche aufschließenden Stoffe bezeichne ich als lytische. Derartige aufschließende Stoffe (Lysine) besitzt der Körper aber erfahrungsgemäß nur dann, wenn er unter dem Einfluß einer tuberkulösen Infektion gestanden hat, und hierin beruht der diagnostische Wert des positiven Ausfalls der Tuberkulinreaktion, der also ein Zeichen für die Umstimmung, die der Körper unter dem Einfluß einer tuberkulösen Infektion erfahren hat, ist, und somit indirekt auch das Vorhandensein einer tuberkulösen Infektion anzeigt. Es muß aber mit aller Schärfe hervorgehoben werden, daß die Entwicklung dieser Umstimmung Zeit erfordert und daß somit im Körper schon Tuberkelbazillen vorhanden sein können, wenn die Tuberkulinreaktionen noch negativ ausfallen und umgekehrt, daß die Umstimmung nach unseren bisherigen Kenntnissen noch lange Zeit — viele Jahre — erhalten

1) Paul H. Römer, Brauers Beitr., Bd. 11, 1908, H. 2. — A. Wolff-Eisner, Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose, 22. V. 1909.

bleiben kann, nachdem der tuberkulöse Herd operativ entfernt oder aber durch Bindegewebskapselung inaktiv geworden ist.

Ferner kann der negative Ausfall von Tuberkulinreaktionen dadurch bedingt sein, daß der Körper des Infizierten mit den Tuberkelbazillen nicht in den erforderlichen Reaktionskontakt getreten ist. Dies ist dann möglich, wenn der tuberkulöse Herd in schlecht vaskularisierten Geweben liegt, so daß die Umstimmung des Körpers, welche die Voraussetzung der Tuberkulinreaktion bildet, nicht oder noch nicht eingetreten ist.

Ich habe solche Fälle, die mir von großer prinzipieller Wichtigkeit scheinen, beobachtet und im Handbuch der Serumtherapie¹⁾ ausführlich mitgeteilt. Man kann bei ihnen nicht ganz vom saprophytischen Vorhandensein der Tuberkelbazillen im menschlichen Körper sprechen, immerhin kommt dieser Ausdruck den tatsächlich bestehenden Verhältnissen immer noch am nächsten.

Es handelt sich nämlich darum, daß in schlecht vaskularisiertem Gewebe Tuberkelbazillen sitzen, ohne den Körper zu einer Reaktion zu veranlassen. Dieselbe Ursache, die keine Umstimmung des Körpers zustande kommen läßt, verhindert auch, daß toxische Erscheinungen auftreten²⁾. Es fehlen daher in solchen Fällen Fieber, Schweiß, Gewichtsabnahme, ja sogar Schwankungen des opsonischen Index.

An die Spitze meiner Darlegungen hatte ich den Satz gestellt: „Die Gifte der Tuberkelbazillen sind die Tuberkuline.“ Diese Anschauung, falls sie sich als richtig erweisen läßt, führt zu einer großen Vereinfachung, ja zu einer geradezu unitaristischen Auffassung. In Anbetracht der vielgestaltigen klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungsformen

1) Handbuch der Serumtherapie, J. F. Lehmann, 1910.

2) Vor kurzem wurde mir von pathologisch-anatomischer Seite die Frage vorgelegt, ob ich es für möglich erachtete, daß Tuberkelbazillen reaktionslos im Körper verweilen könnten, gewissermaßen als Saprophyten. Aus den obigen Ausführungen geht hervor, daß zum mindesten zeitweise eine Anwesenheit von Tuberkelbazillen ohne erkennbare Reaktion (d. h. ohne pathologisch-anatomische Veränderungen und ohne zur Tuberkulinreaktion führende Umstimmung) denkbar ist, und daß weiter Herde im Körper vorhanden sein können, die ebenfalls nicht zur erforderlichen Umstimmung führen.

der Tuberkulose war die Mehrzahl der Forscher immer geneigt, eine sehr große Anzahl von verschiedenen Tuberkelbazillengiften anzunehmen. Tatsächlich gibt es auch Tuberkuline sehr verschiedener Wirksamkeit. Trotz Anerkennung dieser Tatsache führten mich meine Versuche zu einer unitaristischen Anschauung, indem ich die Wirkung der Tuberkelbazillengifte auf die Wirkung der Leibesstoffe der Tuberkelbazillen (die sogenannten Endotoxine) zurückführen konnte, so daß zwischen den einzelnen Tuberkulinen wohl Verschiedenheiten in der Resorptionsmöglichkeit (somit Differenzen quantitativer Natur), aber keinerlei prinzipielle Differenzen anzuerkennen waren.

Mit dieser Anschauung setzte ich mich in prinzipiellen Gegensatz zu der von Koch vertretenen mindestens dualistischen Auffassung des Tuberkulins, sowie zu der zurzeit noch uneingeschränkt herrschenden Auffassung, deren Grundtendenz sich in dem Satze widerspiegelt: „Immunität gegen Tuberkulin ist nicht identisch mit Immunität gegen Tuberkulose.“

Ein Verständnis der hier vorliegenden komplizierten Verhältnisse ermöglicht nur die historische Analyse.

Die dualistische Auffassung des Tuberkuloseproblems war die von Robert Koch gegebene. Dazu kamen einwandfreie Beobachtungen, daß trotz eingetretener Unempfindlichkeit gegen Tuberkulin die Heilung der Tuberkulose aufgeblieben war. So blieb das obige Paradoxon als Rückzugslinie, das auf der Basis der Dualität die beiden inkommensurablen Tatsachen nebeneinander bestehen ließ. War das Axiom richtig, so hätte logischerweise jeder weitere Versuch mit der Tuberkulinbehandlung unterbleiben müssen. — Eine klare experimentelle Fragestellung, wie sie jeder Immunitätsforscher hätte vornehmen müssen, unterblieb. — Denn damals beschäftigten sich Immunitätsforscher kaum mit diesem Problem, dessen Bearbeitung im wesentlichen den Heilstättenärzten vorbehalten war. Die Monopolisierung der Tuberkuloseforschung in den Heilstätten ist für den Fortschritt auf dem Gebiete der Tuberkuloseforschung nicht unter allen Umständen förderlich.

Auch der Praktiker mußte bei dem Satze: „Immunität gegen Tuberkulin ist nicht gleichbedeutend mit Immunität

gegen Tuberkulose“ die vielgerühmte spezifische Therapie mit Tuberkulin für ein im Prinzip verfehltes Unterfangen halten.

Ich glaube, daß die unitaristische Auffassung zum mindesten ein Verständnis der Tuberkulinreaktion und der Tuberkulintherapie ermöglicht, ohne daß man durch die Macht der Tatsachen gezwungen wäre, komplizierende und sinnverwirrende Hilfskonstruktionen aufzuführen.

Die beifolgenden Untersuchungen geben nun einige neue Beiträge zu der unitaristischen Auffassung der Tuberkulinwirkung, wie ich sie in der ersten und zweiten Auflage meines Buches „Frühdiagnose und Tuberkuloseimmunität“ niedergelegt hatte. Inzwischen sind von anderer Seite schon ebenfalls Befunde und Versuche mitgeteilt worden, welche als Beweis der Richtigkeit dieser unitaristischen Anschauung verwendet werden können und müssen.

Wenn ich die Wirkung sämtlicher Tuberkelbazillengifte allein auf die in den Tuberkelbazillen enthaltenen Eiweißstoffe zurückführte, so müßten, wenn diese Anschauung als richtig sich erweisen sollte, logischerweise die Gifte des Tuberkelbazillus (also alle die so verschiedenen Tuberkuline) einheitlicher Natur sein.

Mit der Aufstellung der Theorie von der Wesensgleichheit der Tuberkuline ist natürlich durchaus nicht gesagt, daß die Tuberkuline überhaupt keinerlei Verschiedenheiten aufweisen (siehe oben). Diese sind aber meiner Auffassung nach nicht qualitativer, sondern im wesentlichen quantitativer Natur und beruhen auf Differenzen der Resorbierbarkeit. Darum ist es durchaus kein Widerspruch, wie F. Meyer annimmt, wenn ich ein Tuberkulin angegeben habe, das die Wirksamkeit von Alt- und Neutuberkulin kombiniert. Dieses Präparat, das ich als Misch-Tuberkulin bezeichne, ist nach meinen Erfahrungen von hervorragender praktischer Brauchbarkeit.

Gegen diese Anschauung von der einheitlichen Wirkung des Tuberkulins sind nun einige Einwände geltend gemacht worden. So hat z. B. Koch durch den Mund von Jochmann mitteilen lassen, daß er auch jetzt Alt-Tuberkulin und Neutuberkulin für verschiedenartig halte, und daß er die Tuberkulintherapie daher in der Weise durchführe, daß er mit Alt-Tuberkulin spritze, bis ihm der negative Ausfall der Pirquetschen

Reaktion den Eintritt der Immunität gegen Alttuberkulin anzeige, daß er dann die Immunisierung mit Neutuberkulin fortsetze, bis auch der negative Ausfall der Immunisierung mit Neutuberkulin die Immunisierung mit Neutuberkulin anzeige.

Es handelt sich hier nach meiner Ansicht darum, daß die Ergebnisse der vorgenommenen Versuche nicht ganz richtig gedeutet wurden. Die Pirquetsche Reaktion gibt, wie ich in Uebereinstimmung mit Hamburger hervorhebe, nur einen bestimmten Grad der Tuberkulinempfindlichkeit an. Der positive Ausfall der Pirquetschen Reaktion mit Alttuberkulin entspricht im großen und ganzen einer Tuberkulinempfindlichkeit gegenüber einer Tuberkulinlösung 1 : 1 000 000 (bei intrakutaner Injektion). Fällt die Pirquet-Reaktion negativ aus, so bedeutet dies daher in keiner Weise Immunität gegen Alttuberkulin, sondern unter Umständen nur eine Verschiebung des Empfindlichkeitsgrades. Der Betreffende reagiert etwa jetzt bei intrakutaner Injektion negativ auf eine Lösung von 1 : 1 000 000, aber positiv gegenüber einer Verdünnung von 1 : 100 000 oder etwa 1 : 10 000.

Es ist nun, wie ich an gemeinsam mit Maß im Jahre 1908 angestellten Versuchen gezeigt habe, möglich, mit Hilfe angestellter intrakutaner Stichreaktionen verschiedene Tuberkulinpräparate mit großer Genauigkeit gegeneinander auszutitrieren¹⁾. Es entspricht nach meinen Ergebnissen ungefähr eine Verdünnung von 1 : 1 000 000 Alttuberkulin einer Verdünnung von 1 : 200 000 der Höchster Bazillenemulsion, von der 1 ccm 5 mg zerriebene Tuberkelbazillen enthält, woraus umgerechnet hervorgeht, daß $\frac{1}{40}$ ccm (g) der nicht emulsierten Bazillenzerreibung 1 ccm Alttuberkulin entspricht²⁾, daß also Neutuberkulin (Substanz, nicht Emulsion!) entsprechend seinem

1) Wolff-Eisner, Bericht über die Ergebnisse der Konjunktivalreaktion mit Tuberkulin. Zeitschr. f. Tiermedizin, Bd. 15, 1911. — Wolff-Eisner, Die Bedeutung der Konjunktivalreaktion nach 4000 klinischen Beobachtungen, nebst Bemerkungen über Tuberkulose-Immunität und -Reaktion. Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 45.

2) Nach folgender Gleichung:

$$\frac{1}{1\,000\,000 \text{ Alttuberkulin}} = \frac{1}{200\,000} \times \frac{1}{200} = \frac{1}{40\,000\,000}$$

Neutuberkulin = Bazillenemulsionssubstanz.

viel größeren Gehalt an wirksamen Bazillenleiberstoffen von 40fach stärkerer Wirkung ist als Alttuberkulin.

Wenn man in dieser Weise exakt vorgeht, bekommt man ein besseres Bild über die quantitativen Verhältnisse zwischen Alt- und Neutuberkulin, als es die Anstellung der Pirquet-Reaktion gestattet. Die Pirquet-Reaktion führt hier vollkommen in die Irre, wenn man aus ihrem Ausfall das Ergebnis herauslesen will, daß nach Behandlung mit Alttuberkulin eine Immunisierung nur gegen Alttuberkulin eingetreten ist und daß nach Weiterbehandlung mit Neutuberkulin nun noch eine Immunisierung gegen Neutuberkulin einträte. In Wahrheit tritt unter der Tuberkulinbehandlung nichts anderes ein, als eine Verschiebung der Tuberkulinempfindlichkeit, die nach einer Behandlung mit Alttuberkulin, z. B. gegenüber Alt- und Neutuberkulin, in vollkommen gleichmäßiger Weise in Erscheinung tritt.

Aus den Versuchen geht mit Sicherheit hervor: Alt- und Neutuberkulin sind nicht nach dem Ausfall der Pirquet-Reaktion allein miteinander in Vergleich zu setzen, sondern, wenn überhaupt, erst dann, nachdem man durch Titrierungen, wie ich sie vorgenommen habe, denjenigen Titer für die Alt- und Neutuberkulinlösung gefunden und zu den Versuchen benutzt, der eine Anstellung von Pirquet-Reaktion mit Alt- und Neutuberkulin zuläßt, d. h. Konzentrationen, die dem Tuberkulinwert nach miteinander in Relation gesetzt werden dürfen.

Wenn so selbst Koch in der Bewertung von Pirquet-Reaktionen infolge Nichtbeachtung der Titerstellung der betreffenden Lösungen zu irrümlichen Schlußfolgerungen gekommen ist, so liegt die Erklärung hierfür in einem Fehler der Pirquet-Reaktion, der in den obigen Ausführungen schon angedeutet ist, auf welchen aber zur Vermeidung weiterer irriger Schlußfolgerungen mit genügender Schärfe die Aufmerksamkeit gelenkt werden muß. Die Pirquet-Reaktion zeigt uns nicht das Verhalten des Körpers zum Tuberkulin überhaupt, sondern zeigt uns nur eine bestimmte Stufe der Empfindlichkeit an, d. h. die Reaktion fällt nur dann positiv aus, wenn, wie wir oben schon erwähnt haben, der Körper bei der Stichreaktion mit Alttuberkulin auf eine Verdünnung 1:1'000'000 noch reagiert. Es ist dies ein ganz erheblicher Nachteil der

Pirquetschen Reaktion, welchen die durch intrakutane Injektion erzielte Stichreaktion vermeidet. Die Tatsache, daß die Stichreaktion so lange unbekannt geblieben ist, hat dazu geführt, die Modifikation der Stichreaktion, welche die Kutanreaktion darstellt, ganz wesentlich zu überschätzen. Eine Modifikation, die zwar eine für viele Zwecke ausreichende Vereinfachung, aber keine Verbesserung der Stichreaktion darstellt.

Die Auffassung, die Koch und mit ihm viele andere von dem Ausbleiben der Kutanreaktion hatten, und die nach meinen Versuchen nicht zutreffenden Schlußfolgerungen, die sie für das Bestehen einer Tuberkulinimmunität daraus zogen, nötigt uns, von unserem Thema abzuschweifen und in sehr eingehender Weise an der Hand eigener Versuche und der Literatur das Wesen und die Bedeutung der Stichreaktion und des Tuberkulintiters darzustellen.

Wir kommen auf die im Anfang dieser Arbeit ausgesprochene Behauptung zurück: „Tuberkulin ist das Gift des Tuberkelbazillus“. Wenn es also eine wirkliche Immunität gegen Tuberkulin gäbe, müßte es auch unbedingt eine wahre Immunität gegen Tuberkelbazillen geben. Nicht nur das; die von uns herbeigeführte Immunität gegen Tuberkulin müßte auch gleichzeitig eine Immunität gegen Tuberkelbazillen bewirken. Dies ist nun — und darüber besteht wenigstens allgemeine Uebereinstimmung — nicht der Fall, und hieraus allein könnte man den Rückschluß machen, daß es demnach auch eine wahre Immunität gegen Tuberkulin nicht geben kann. Aber wir haben dafür direkte Beweise gefordert und auch erbracht.

Die Annahme einer Tuberkulinimmunität ist nun natürlich nicht vollkommen aus der Luft gegriffen. Es gibt eine Reihe von Tatsachen, die allgemein im Sinne einer Tuberkulinimmunität gedeutet wurden. Man sieht beim Menschen häufig, und beim Rinde sogar konstant, daß nach Wiederholung subkutaner Tuberkulininjektionen die Fiebersteigerungen ausbleiben. Diese im Gedächtnis haftende Tatsache ließ immer wieder auf die Annahme einer Tuberkulinimmunität zurückkommen. Besonders deutlich zeigt dies Escherich¹⁾ in

1) Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 20.

seiner Arbeit, der einerseits Wolff-Eisners Theorie folgend, das Tuberkulin für ein Endotoxin erklärt (das also keine Antitoxine produzieren kann, was im Wesen des Endotoxinbegriffs ja begründet liegt) und wenige Seiten später von immunisatorischer Tuberkulinbehandlung im Sinne der Antitoxinbildung spricht. Ein Kliniker muß erkennen, wie gezwungen, unbefriedigend und unwahrscheinlich es ist, für die spontane Heilung der Tuberkulose und für die durch Tuberkulinbehandlung der Tuberkulose etwa eintretende einen ganz differenten Mechanismus anzunehmen.

Und dabei wendet sich auch Escherich, genau wie ich es vorher (in Handbuch der Serumtherapie) getan hatte, gegen die Annahme von Antitoxinen und Antituberkulinen, wie sie Pickert und Löwenstein aus dem Ausbleiben resp. der Abschwächung von Kutanreaktionen gefolgert haben. Obwohl ich an der zitierten Stelle glaube dargelegt zu haben, daß die Folgerungen von Pickert und Löwenstein auf einem experimentellen Irrtum beruhen, wird diese Arbeit in der Literatur doch immer wieder angeführt, weil sie eine scheinbare experimentelle Stütze für die bisher herrschende und gewollte Auffassung einer Tuberkulinimmunität bietet. Darum halte ich diese Arbeit, die von keiner anderen Seite unter Berücksichtigung der von mir angegebenen Fehlerquellen bisher nachgeprüft worden ist, für diejenige, welche am stärksten die Ausbreitung einer richtigen Anschauung über die Wirkung des Tuberkulins verhindert. Die Lehre von einer humoralen Tuberkulinimmunität ist durch den Nachweis erschüttert, daß die Unempfindlichkeit gegen Tuberkulin nicht auf humoralen antitoxischen Stoffen, sondern nur auf der Bindung an sessile Gewebs- resp. Zellrezeptoren beruht: also auf dem gleichen Mechanismus, wie ich ihn für die natürliche Immunität gegen Toxine als vorhanden nachgewiesen habe¹⁾. Es fehlt daher zwischen beiden Formen der Immunität durchaus nicht an Vergleichspunkten, deren Verständnis die Verfolgung der Verhältnisse bei der natürlichen Immunität gegen Toxine erleichtert, wobei auch gleich die Differenzen zwischen Anti-

1) Wolff-Eisner, Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität. Centralbl. f. Bakt., 1908, Heft 1 u. 2.

toxin- und Ambozeptorenimmunität deutlich werden. Die Träger der natürlichen Immunität, die Gewebsrezeptoren gegen Toxine, sind Rezeptoren erster Ordnung (entsprechend der Ehrlichschen Seitenkettentheorie) und darum können sie, ins Serum abgestoßen, als Antitoxine funktionieren. Die Rezeptoren für endotoxische Gifte (Eiweißgifte) sind Rezeptoren dritter Ordnung und funktionieren darum, ins Serum abgestoßen, als Ambozeptoren resp. Lysine. Das bedingt die prinzipielle Differenz zwischen beiden Gruppen von Antikörpern, daß im ersten Fall die abgestoßenen Rezeptoren als neutralisierende, im zweiten Fall als aufschließende Stoffe wirken, während die sessilen, d. h. die noch an der Zelle sitzenden Rezeptoren gegenüber Toxinen und endotoxischen Giften gleiche Wirkung ausüben, d. h. Bindung der Gifte herbeiführen. Es stehen so die humoralen Immunitätsphänomene (Immunität im weitesten Sinne gebraucht) in direktem Gegensatz zueinander, während die zellulären einander gleichen. Da nun zelluläre und humorale Bindung sich nur theoretisch ganz trennen lassen, aber in praxi sich nebeneinander vollziehen (ganz besonders gerade bei der Tuberkulinwirkung), so ist es verständlich, zu wieviel mißverständlichen Auffassungen es führen muß, wenn nicht im Prinzip diese beiden Phänomene: die Wirkung der sessilen und der abgestoßenen Zellrezeptoren auf das schärfste voneinander getrennt werden.

Ich muß noch weiter eine Arbeit von Escherich über Indikationen und Erfolge der Tuberkulintherapie bei kindlicher Tuberkulose (Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 20) anführen.

Escherich schreibt: „Diese Eigenschaft (das Empfänglichmachen für das an sich ungiftige Endotoxin der Tuberkelbazillen) haftet nicht an den Zellen resp. Organen, sondern geht in die Körpersäfte über und läßt sich mit diesen übertragen. Bei dem Zusammentreffen des Anaphylaxins mit dem von den Bazillen abgesonderten Toxin entsteht ein neuer Giftstoff usw.“ Dies ist unverändert meine lytische Theorie mit der einzigen Modifikation, daß einmal von Endotoxin und einmal von Toxin (irriger- und nicht ganz logischerweise) gesprochen wird, eine Theorie, wie ich sie für alle Endotoxine

schon 1904, für Tuberkulin speziell 1907 aufgestellt habe, damals gerade im Gegensatz zu Pirquet (Wolff-Eisner, Eiweißimmunität und Serumkrankheit. Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 1908, Heft 3; ferner auch Klinische Immunitätslehre, Jena 1910).

Er schreibt weiter: „Tuberkuline sind für den normalen, nicht mit Tuberkulose infizierten Menschen nicht giftig, sondern, wie Hamburger sich ausdrückt, ein sekundäres Gift.“

Auch dies ist die 1907 von mir vertretene Theorie mit neugewählter Nomenklatur. Denn meine Annahme besagte, daß Tuberkulin für den absolut gesunden Menschen ungiftig, erst unter der Wirkung aufschließender Stoffe eine Wirkung entfaltet (Hamburger sekundäres Gift).

Es war ein Wagnis gewesen, gegenüber der entgegenstehenden Autorität von Robert Koch eine solche Anschauung aufzustellen und zu vertreten. Da Hamburger und Escherich nur auf Römers Arbeiten rekurrieren, so sei der Hinweis gestattet, daß gerade Römer¹⁾ selbst in der zitierten Arbeit in ausführlicher Weise auf meine gleichzeitigen und unabhängigen Befunde über Tuberkuloseimmunität oder, wie ich es richtiger ausdrücken möchte, über die vermehrte Resistenz des einmal Tuberkuloseinfizierten gegenüber der tuberkulösen Infektion eingegangen war.

Es ist nach unseren Ausführungen in der Tatsache, daß beim Menschen nach wiederholter Tuberkulininjektion Unempfindlichkeit auftreten kann, kein Gegengrund zu erblicken, daß nicht Tuberkulin doch ein Eiweißgift vom Charakter des Endotoxins ist, jedoch müßte es dann durch sein Eindringen in den Körper einen Zustand von Ueberempfindlichkeit schaffen. Eine solche tritt ja auch tatsächlich ein, wie der Zustand von Ueberempfindlichkeit beweist, den wir diagnostisch bei allen unseren Tuberkulinproben benutzen. Es ist die Tuberkulinüberempfindlichkeit fast die erste bekannt gewordene Ueberempfindlichkeits- oder Anaphylaxiereaktion überhaupt.

Aber nach wiederholter subkutaner Injektion bleibt diese Empfindlichkeit schließlich aus, und noch Escherich hat

1) Paul H. Römer, Spezifische Ueberempfindlichkeit und Tuberkulose-Immunität. Brauers Beitr., Bd. 11, 1908, Heft 2.

ganz kürzlich, wie schon erwähnt, für das Auftreten der Ueberempfindlichkeit und Unempfindlichkeit zwei ganz verschiedene Formen der Tuberkulinwirkung angenommen, also eine dualistische Theorie aufgestellt.

Wenn man aber den Nachweis als geführt ansieht, daß das Tuberkulin und das Gift der Tuberkelbazillen identisch ist, so wird man nur zögernd mit dem Gedanken sich abfinden, daß das subkutan zugeführte Tuberkulin prinzipiell andere Wirkungen entfaltet, als das Tuberkulin, das vom Krankheitsherde aus in den Körper gelangt. Von anderen Gründen abgesehen, die ich in meiner Frühdiagnose usw. angeführt habe, und die den Nachweis für die gleiche Wirkung für das Tuberkulin erbringen, das subkutan zugeführt oder vom Krankheitsherd in den Körper gelangt, erlaubt der Nachweis, daß die Tuberkulinempfindlichkeit durch Bindung an sessile Zellrezeptoren herbeigeführt wird: gegenüber der dualistischen Auffassung eine einheitliche Auffassung. Weiter ist für die Beurteilung der bei der Bindung des Tuberkulins an Zellrezeptoren bestehenden Verhältnisse der Nachweis von Bedeutung, daß die Bindung des Tuberkulins sich bei subkutaner Injektion zuerst an den wenig lebenswichtigen Rezeptoren des Bindegewebes abspielt, während sonst das Tuberkulin an die Rezeptoren im Krankheitsherd, z. B. in der Lunge, gelangt.

Der Bindungsvorgang ist in beiden Fällen der gleiche, die klinischen Erscheinungen sind jedoch differente, weil nämlich im Krankheitsherde infolge der Anwesenheit von lebenden Tuberkelbazillen, die ja als Träger des Giftes funktionieren, im Krankheitsherde eine Addition von Giftstoffen ermöglicht ist.

Die Annahme, die durch viele Beweise gestützt ist, daß Tuberkulin ein schwer aufschließbares Endotoxin ist, das an sich ungiftig, erst durch aufschließende Stoffe eine Giftwirkung entfaltet, und daß die aufschließenden Stoffe abgestoßene Zellrezeptoren sind, die, solange sie an der Zelle sitzen, Tuberkulin zu binden vermögen, ermöglicht eine völlig einheitliche Auffassung der bei der Tuberkuloseinfektion, Tuberkulose-resistenz, Tuberkuloseheilung, Tuberkulindiagnostik und Tuberkulintherapie sich abspielenden Vorgänge.

Die nach dem von mir aufgestellten Gesetz der Immunität, daß die wiederholte parenterale Einverleibung einer körperfremden Eiweißsubstanz zur Ueberempfindlichkeit führt auch gegenüber dem Tuberkulin zu erhebende Forderung, wird also beim Tuberkulin erfüllt. Die bei subkutaner Zufuhr allmählich auftretende Unempfindlichkeit beruht auf der Konkurrenz zellulärer Bindungsphänomene, und die hierdurch vorgetäuschte Unempfindlichkeit beruht demnach nicht auf humoralen antitoxischen, neutralisierenden Kräften, ist also trotz ihrer realen Existenz eine Pseudoimmunität. Dementsprechend ist diese Immunität, wie ich wiederholt hervorgehoben habe, **nicht** übertragbar.

Bindung des Tuberkulins und Neutralisierung bewirken allein die an der Zelle sitzenden Rezeptoren, die mit dem Serum nicht übertragbar sind, und die abgestoßenen und darum mit dem Serum übertragbaren Rezeptoren haben aufschließende Funktionen. Darum ist die Unempfindlichkeit nicht übertragbar, sondern nur unter gewissen Umständen die an die aufschließenden Stoffe geknüpfte Ueberempfindlichkeit. Ebenso erklärt sich die kurze Dauer der Tuberkulinunempfindlichkeit¹⁾ beim mit subkutanen Injektionen behandelten Menschen, wie dies z. B. selbst von Löwenstein hervorgehoben wird, in sehr einfacher Weise dadurch, daß die Mehrzahl der sessilen Rezeptoren abgestoßen wird und dann als Lysin im Serum kreist, womit der Möglichkeit der Unempfindlichkeit der Boden entzogen ist.

Da mir der Erfolg der Tuberkulintherapie in sehr wesentlicher Weise an die Bildung und Abstoßung sessiler Rezeptoren geknüpft zu sein scheint, erklärt es sich sehr einfach, warum man eine Tuberkulinbehandlung nicht abbrechen darf, sondern möglichst Jahre hindurch fortführen muß.

So bliebe nur die Tatsache zu erklären, daß beim Gesunden die wiederholte Tuberkulinzufuhr keine Ueberempfindlichkeit schafft. Diese Tatsache ergibt sich allgemein aus den übereinstimmenden Resultaten sämtlicher Forscher. Auf ihr

1) Dies wird von Carlos Krämer und Hayek geleugnet und bildet die Klarstellung dieses Punktes eines der wichtigsten Dinge auf dem Gebiete der theoretischen und praktischen Tuberkuloseforschung.

beruht die diagnostische Tuberkulinanwendung und ist dies noch jüngst von Hamburger, Erlandsen u. a. hervorgehoben worden. (Daß die Tatsache in dieser Formulierung nicht ganz zutreffend ist, ergeben die weiter angeführten Versuche.)

Wie die Mehrzahl der Tuberkuloseprobleme, so ist auch die Lösung dieser Frage, warum Gesunde auf wiederholte Tuberkulininjektion keine Ueberempfindlichkeitserscheinungen aufweisen, relativ schwierig.

Wir wollen von folgenden Gesichtspunkten ausgehen:

Eine Anzahl von Menschen reagieren auf eine einmalige Tuberkulinzufuhr, das sind nach meiner Ansicht meist die Tuberkulösen (im Sinne aktiver Erkrankung).

Eine große Anzahl von Menschen reagieren erst auf wiederholte Tuberkulinzufuhr. Da die überwiegende Mehrzahl der Menschen diesen Reaktionstypus aufweist, war die Deutung eine sehr schwierige. Die von vielen Tausenden von Autoren geführte Diskussion über die praktische Bedeutung der Tuberkulindiagnostik war in Wirklichkeit nichts anderes als Versuch einer Lösung des Problems, was dieser Reaktionstypus zu bedeuten habe.

Eine Reihe von Menschen, vielleicht 20—30 Proz., reagieren auch nicht auf wiederholte Tuberkulinzufuhr. Abgesehen von diesen, weisen 1) junge Kinder, vor allem Säuglinge, 2) junge Kälber und 3) gesunde Versuchstiere nur ausnahmsweise auf ein- oder mehrmalige Tuberkulinzufuhr Reaktionen auf.

Beim Versuch, die Bedeutung dieser Tatsachen zu erkennen, kam ich schließlich zu der Anschauung, die jetzt anfängt, sich langsam allgemeinere Geltung zu verschaffen, daß Gesunde auf Tuberkulin überhaupt nicht reagieren.

Da diese Anschauung der Kochschen Lehre zuwider lief, stellte sich mein damaliger Mitarbeiter Stadelmann in unserer gemeinsamen Arbeit auf den mir entgegengesetzten Standpunkt, daß die kutane Dauerreaktion die Tuberkulinreaktion des gesunden Menschen vorstelle. Es war dann nur noch notwendig, die Tatsache zu erklären, warum zahlreiche Individuen erst auf wiederholte Tuberkulinzufuhr Reaktion aufweisen. Die auf wiederholte Zufuhr von Tuberkulin eintretende Re-

aktion ist auf eine Sensibilisierung zurückzuführen, die nur bei denjenigen Individuen eintritt, die Träger einer inaktiven Tuberkulose sind oder die zum mindesten Träger einer tuberkulösen Infektion gewesen sind, weil nur bei diesen das einmal vorhandene Vermögen, lytische aufschließende Stoffe zu bilden, stimuliert werden kann.

In diese Auffassung muß der wichtige Befund von Ruppel, daß artfremde Tuberkelbazillen Tuberkulinempfindlichkeit erzeugen und Tuberkulinbehandlung sie wieder aufhebt, sinngemäß hineingearbeitet werden.

Nun kann es aber keinem Zweifel unterliegen, daß auch beim gesunden tuberkulosefreien Individuum wiederholte Tuberkulininjektionen — wenn anders Tuberkulin ein Endotoxin, d. h. ein Eiweißgift ist — zu einer Ueberempfindlichkeit führen müßte und daß das Ausbleiben dieser Ueberempfindlichkeit ein Manko meiner Theorie war, die sich sonst als so heuristisch wertvoll erwiesen hatte und die zahlreichen komplizierten Phänomene der Tuberkulinwirkung mit so außerordentlicher Leichtigkeit erklärt hatte. Trotzdem war es nicht nötig, wegen dieser Erscheinung die Theorie aufzugeben.

Wenn man den Gründen dieser Erscheinung nachging, so lag es sehr nahe, die Differenz zwischen den sonstigen Giften und den Eiweißgiften der Tuberkelbazillen darin zu sehen, daß diese durch ihren Aufbau, durch eine besondere Panzerung allen aufschließenden Stoffen einen besonderen Widerstand entgegensetzten.

Der von Hamburger geprägte Ausdruck „sekundär toxisch“ gibt keine Erklärung für das Phänomen, sondern nur eine kurze prägnante Fassung der Tatsache, daß Tuberkulin und Tuberkelbazillen nur unter Wirkung aufschließender Stoffe eine Wirkung entfalten.

Da ich immer daran festhielt, daß auch die Tuberkelbazillen-Eiweißgifte sich dem Grundgesetze, das die wiederholte Einverleibung von Eiweißsubstanzen beherrscht, fügen, war ich in meiner „Frühdiagnose“¹⁾ zu der Anschauung gekommen, daß es bisher noch nicht gelungen war, die Versuchs-

1) Frühdiagnose und Tuberkuloseimmunität, Würzburg, C. Kabitsch, 1909.

bedingungen so zu gestalten, daß sie den bei der tuberkulösen Infektion vorhandenen Bedingungen glichen.

Es ist von verschiedenen Autoren schon wiederholt versucht worden, ein Empfindlichmachen (Sensibilisierung) mit Tuberkulin herbeizuführen (Hamburger, Schick und Novotny, Brauers Beitr., Bd. 12, und eigene schon 1904 angestellte Versuche).

Ein Erfolg war diesen Versuchen nicht beschert gewesen. Wegen der theoretischen und praktischen Bedeutung dieser grundlegenden Fragestellung mußten aber diese Versuche trotz aller Schwierigkeiten erneut experimentell wieder aufgenommen werden. Vorher aber war es dringend notwendig, sich mit den Friedbergerschen Versuchen und Anschauungen irgendwie auseinanderzusetzen.

Wie oben ausgeführt, behaupten wir, daß Tuberkulin kein Toxin ist. Nach unserer Definition ist hiervon die Konsequenz, daß sich im infizierten oder tuberkulinbehandelten Menschen oder Tier keine Antitoxine finden. Da immer wieder, auch von Fritz Meyer, z. B. die Behauptung aufgestellt wurde, daß im Serum Tuberkulöser neutralisierende Stoffe vorhanden seien, so haben wir zwar schon früher gezeigt, daß das mit Antikörpern versehene sogenannte sensibilisierte Tuberkulin seine Tuberkulinwirkung voll und ganz bei der Prüfung am Menschen mit der empfindlichen quantitativen Prüfung (Intrakutanprobe!) behalten hat¹⁾. Trotzdem hielten wir es für richtig, noch in eine tierexperimentelle Prüfung der Frage einzugehen. Ein Ziegenbock wurde, wie das beigefügte Protokoll S. 238 zeigt, sehr lange und sehr intensiv

1) Ruppel hat neuerdings in persönlicher Aussprache der Ansicht Ausdruck gegeben, daß die Resultate dadurch erzielt seien, daß es sich nicht um frische Bazillenemulsion-Antikörperbindung gehandelt habe und daß die frisch hergestellten Präparate jede Tuberkulinreaktion vermissen lassen würden. Frische Gemische sind mir bisher nicht zur Verfügung gestellt worden und meine Befunde beziehen sich natürlich, wie hier noch ausdrücklich vermerkt werden soll, auf die im Handel befindliche sensibilisierte Bazillenemulsion, auf welche sich die Arbeiten von Fritz Meyer ja ebenfalls bezogen haben. Durch die Unterscheidung von frischer Bindung der Bazillenemulsion mit Antikörpern und eventuell wieder durch Lagern dissoziiert, wird ein neues Moment in die Diskussion hineingetragen, welches natürlich experimenteller Prüfung bedarf.

mit Tuberkulin, Tuberkelbazillen in Emulsion und Höchster Bazillenemulsion behandelt (zuerst subkutan, dann intravenös) und dann in Stichreaktionen an Tuberkulösen (und Nicht-tuberkulösen) geprüft, ob Tuberkulin neutralisierende Stoffe nachzuweisen waren. Wie die Versuche beweisen, tritt eine Verminderung der Tuberkulinwirkung nicht ein. Auch die Verstärkung der Tuberkulinwirkung, die man vielleicht erwartet hätte, bleibt aus. Ueber die Gründe wollen wir uns nicht äußern, weil sie ins Gebiet der haltlosen, unfundierten Hypothesen fallen würden.

Hieran schließen sich Versuche über Tuberkulinbindung. In einer früheren Arbeit¹⁾ haben wir den Befund mitgeteilt, daß in nicht vorbehandelten mehr oder weniger resistenten Tieren die Organe zum großen Teil die Fähigkeit haben, Toxin zu binden, und wir konnten in Versuchen den Befund erheben, daß die natürliche Immunität darauf beruht, daß das betreffende Gift durch diese Bindungen von den lebenswichtigen Zentren ferngehalten wird, welche z. B. für Tetanustoxin stets Rezeptoren (auch beim Huhn und Frosch) aufweisen. Zwischen Toxinen und Endotoxinen gibt es nun nicht nur prinzipielle Unterschiede, sondern auch Brücken, und es lag nahe, daran zu denken, daß die bekannte Unempfindlichkeit des nicht tuberkulös Infizierten darauf beruht, daß ebenfalls an nicht lebenswichtigen Organen das Tuberkulin festgebunden, verankert wurde. Man braucht dann nur die relativ einfache Annahme zu machen, daß die Zellvitalität unter dem Einfluß der Infektion sich in einem für den Organismus ungünstigen Sinne änderte. Die Schwierigkeit besteht nun darin, daß man mit Tuberkulin nicht wie mit einem Toxin quantitativ arbeiten kann, aber sie wurde behoben, als wir 1908—1910 gefunden zu haben glaubten, daß man mit der Stichreaktion den relativen Tuberkulinwert verschiedener Tuberkulinpräparate exakt bestimmen kann und auf diese Weise sehr wertvolle quantitative Anhaltspunkte bekommt. Jedenfalls konnten wir schon damals zeigen, daß verschiedene staatlich geprüfte Präparate einen verschiedenen Tuberkulinwert hatten, und die Notwendigkeit der 1920 von

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, H. 1 u. 2.

Moro aufgestellten Forderung eines diagnostischen Tuberkulins, weil die verschiedenen Präparate einen verschiedenen Tuberkulinwert haben, war schon vor so langen Jahren, ebenso wie der Weg zur Abhilfe gezeigt.

Die nachfolgenden Versuche zeigen, daß man exakt feststellen kann, ob von der benutzten Tuberkulinkonzentration etwas gebunden ist, oder ob trotz Mischung mit Organen oder zellulären Elementen der volle Tuberkulingehalt zur Wirkung kommt. In dem Nachweis dieser Möglichkeit liegt der Wert der weiter angeführten Versuche. Sie haben gezeigt, daß mit Hammelserum, Erythrozyten und den benutzten Bakterien eine Tuberkulinbindung nicht eintritt. Mit diesen negativen Befunden sind diese Versuchsreihen natürlich noch nicht abgeschlossen, da sie in derselben Weise, wie ich sie früher gegenüber Toxin durchgeführt habe, mit sämtlichen Organverreibungen tuberkulinempfindlicher und nicht empfindlicher, dann tuberkulös infizierter Tiere in den verschiedensten Stadien der Erkrankung auf Bindungsvermögen gegenüber Tuberkulin zu untersuchen sind. Die experimentellen Studien sind um so wichtiger, als Beobachtungen an Menschen es sicher erscheinen lassen, daß im Bindegewebe des Tuberkulösen Tuberkulin gebunden wird. An diese Versuchsreihe hoffe ich herangehen zu können, wenn glückliche äußere Umstände die erforderlichen Mittel und Hilfskräfte gewähren.

Nach dieser Anführung der Versuchsprotokolle fahren wir in unseren Ausführungen fort.

Alle von mir angeführten Tatsachen und Theorien werden unter dem Begriff „lytische Theorie der Tuberkulinwirkung“ zusammengefaßt. Der Name besagt nicht ganz, was die Theorie umfaßt. Es handelt sich bei ihr weniger um das morphologische Bild der Bakteriolyse, als darum, daß das Tuberkulin den Gesetzen der Eiweißüberempfindlichkeit folgt, sowie die schwere Aufschließbarkeit der Tuberkelbazillenderivate durch lytische Antikörper beseitigt worden ist. Diese Anschauung ist von zahlreichen Autoren anerkannt worden und ist besonders ihr heuristischer Wert hervorgehoben worden, so von Sahli, Lewandowski, Römer, Schröder u. v. a. Sahli hat z. B. seine eigene Theorie über die Tuberkulinwirkung zugunsten der lytischen Theorie aufgegeben. Einwände sind

Versuchsprotokoll zu S. 235.

Ziegenbock, kastriert, Temperatur 38,7.

6. VIII. $9\frac{1}{2}$ h, 2 ccm zerrieb. Tuberkelbaz. Höchst (0,1 : 10,0) subkutan.

	1 Std.	Temp.	38,5	
	3 "	"	38,65	
	5 "	"	38,9	
	7 "	"	39,9	
7. VIII.	24 "	"	38,9	
	36 "	"	38,75	
8. VIII.			38,2	
9. VIII.			39,1	
10. VIII.			38,9	
11. VIII.			38,5	
13. VIII.			38,6	Wiederhol. d. 1. Inj.
	1 "	"	39,0	
	2 "	"	38,8	
	3 "	"	38,6	
	7 "	"	38,6	
14. VIII.			39,6	
15. VIII.			39,0	
17. VIII.			38,4	
19. VIII.			38,2	
21. VIII.			38,3	Wiederhol.
	$\frac{1}{2}$ "	"	38,6	
	$1\frac{1}{2}$ "	"	38,8	
	$4\frac{1}{8}$ "	"	38,8	
	$6\frac{1}{2}$ "	"	39,3	
22. VIII.	22 "	"	39,2	
24. VIII.			38,5	
17. X.			38,6	
	4 "	"	39,2	
	7 "	"	39,1	
	20 "	"	38,8	
	36 "	"	38,8	
6. XI.			38,5	3. Wiederhol.
	1 "	"	38,5	
	2 "	"	38,7	
	3 "	"	39,0	
	5 "	"	39,4	subkutan
	8 "	"	39,0	
7. XI.	abends	"	39,9	
9. XI.		"	38,6	
11. XI.		"	38,6	
12. XI.		"	39,4	
17. XI.		"	39,1	
19. XI.				4. Wiederhol.
10. XII.	2 ccm intrak.	Tbk.-Emulsion		
		Temp.	38,6	
	1 Std.	"	38,8	
	3 "	"	39,1	
	5 "	"	39,5	
	7 "	"	39,6	
	20 "	"	39,6	
	30 "	"	39,5	
12. XII.		"	39,2	

Bock, kastriert.

20. XI. 09, Temp. 38,8, 2 ccm einer Mischung von Tuberkulin + zerriebene Tb. Höchst + Tb.-Emulsion intravenös.

	nach	1/2 Std.	Temp.	39,2	
	"	1	"	39,7	
	"	1 1/2	"	40,0	
	"	3 1/2	"	40,5	
	"	5 1/2	"	40,4	
	"	20	"	40,3	
	"	24	"	40,3	
22. XI. 09			"	39,2	morgens
do.			"	38,8	abends
24. XI. 09			"	37,9	
25. XI. 09			"	37,6	
26. XI. 09			"	37,8	
27. XI. 09			"	37,5	
28. XI. 09			"	37,4	
29. XI. 09			"	37,5	

1. XII. 09 2 ccm einer Mischung a (Wiederholung vom 20. XI. 09)

	nach	1/2 Std.	Temp.	37,6		
	"	1 1/2	"	38,7		
	"	5	"	39,2	Resultat:	
	"	7	"	39,3	Wassermannsche Probe	Ser.
			"	39,6	I. Tbk. 10-proz.	0,2 0,2
2. XII.			"	38,0	II. zerr. Tbk. H. 0,1 : 10	0,2 0,2
3. XII.			"	38,3	davon 0,5 : 4,5	0,4 0,2
					Kontr. { Tbk. 10-proz.	0,5
					{ Tbk. z. H. Ser.	0,5

9. XII. 09 2 ccm einer Mischung von Tbk. + zerriebene Tbk. Höchst (Wiederholung)

	nach	10 Min.	Temp.	39,4
	"	30	"	39,3
	"	1 Std.	"	39,6
	"	1 1/2	"	39,6
	"	2	"	39,7
	"	3	"	39,4
	"	4	"	39,4
10. XII.	"	24	"	39,5
	"	mittags	"	40,6
			"	40,5

23. XII. 2 ccm einer Mischung von Tbk. + Tb.-Em. + Tb. H.

	nach	1 Std.	Temp.	39,0
	"	2	"	39,7
	"	3	"	40,0
	"	5	"	40,1
	"	20	"	39,5

Vergleich der Wirkung von Tuberkulin und von Tuberkulin + „Immunserum“ vom Bock s. S. 238.

	Tuberkulin 1:1000	Tuberkulin 1:1000 + Bock Tuberk. Serum
2. XII. Freienwalde 20 J. Tbk. II. Stad. Konj.-R. +	24 Std. Infiltr. ++	Infiltr. ++
	48 „ Infiltr. +	Infiltr. ++
	96 „ Spur	Spur
2. XII. Rückert	24 Std. Infiltr. ++	Infiltr. ++
	72 „ Infiltr. ++	Infiltr. ++
	96 „ —	—
Ambruch (unbehandelt mit Tuberkul.)	24 Std. Spur Infiltr.	Spur Infiltr.
	48 „ Infiltr. +/++	Infiltr. +
	96 „ Infiltr. +	Infiltr. +

Maximowitsch Prot. No. 536	Tuberkulin 1:1000	Tuberkulin 1:1000 + Im- munserum von Bock kastr.
11. XII. 09	24 Std. Spur/+	Spur/+
	48 „ Spur	Spur
Tech.	24 Std. Spur Jucken	Spur Jucken
	48 „ —	—
Tworoger	24 Std. —	—
	48 „ —	—
Rost	24 Std. Spur/+	Spur
	48 „ —	—
Ambruch	24 Std. Spur	Spur
	48 „ Spur	++
	72 „ Spur	Spur

Versuche über Tuberkulinbindung.

Es wird Alttuberkulin Koch Ruete-Enoch in einer Lösung 1:1000 mit $\frac{1}{4}$ -proz. Karbol-phys. Kochsalzlösung versetzt mit

- | | |
|---|---|
| 1) 0,2 Hammelserum | } Die Mischungen kommen eine Stunde in den Thermostaten 37°, dann 20 Stunden in den Eisschrank. |
| 2) mit 1 ccm 3mal gewaschenen Hammelblutkörperchen | |
| 3) mit 1,0 Hammelserum | |
| 4) mit einer Mischung von Typhus- und Colibakterien | |

Feststellungen: Sämtliche mit verschiedenen Mengen roter Blutkörperchen versehenen Röhren zeigen starke Hämolyse. Das Hämolysat ist so eiweißreich, daß es beim Kochen total gerinnt. Es wird durch Zentri-

fugieren der ungelöste Blutkörperchenrückstand vom Hämolysat getrennt und wir erhalten folgende Lösungen, die an Stich-Intrakutanreaktionen am Patienten ausgetitriert werden:

- 1) Kontrolle: Tuberkulinverdünnung 1 : 3000.
- 2) Tuberkulinverdünnung
1 : 1000 + Hammelserum 0,2 (s. o.) zum Kochen erhitzt.
- 3) 1 : 1000 + hämolyt. Blutwasser (s. o.) unerhitzt.
- 4) 1 : 1000 + Bakterien (s. o.) 1/2 Stunde im Dampftopf erhitzt.
- 5) 1 : 1000 + Hammelserum 1,0 (bei 56° 1/2 Stunde erhitzt).
- 6) 1 : 1000 + aus Erythrozyten bestehender Bodensatz (unerhitzt).

Die zur Titrierung benutzten Patienten (Stad. 1 Ksenzyk und Diederich) zeigten in früheren Versuchen einen hohen Grad von Stichempfindlichkeit, sind also zur Anstellung derartiger Titrationsversuche geeignete Objekte.

Ergebnisse am Patienten.

1) Ksienzyk.

	Sofort ¹⁾	6 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden	8 Tage
Kontr. { 1 Tuberkulin 1 : 30000	Spur	halbpennig- großes Ery- them, nichtin- filtriert	kaum pennig- großes Infiltr.	Infiltr. halb- penniggroß	Infiltr. halb- penniggroß	Spur Infiltr.
2 Tbk. 1:1000 + Hammel- Serum 0,2 erhitzt	starke Re- aktion, Rötung usw.	dgl. } No. 2 am schwäch- sten	pfenniggroßes Infiltr.	Infiltr. pfennig- groß	Infiltr. pfennig- groß	schuppender Fleck
3 Tbk. 1:1000 Hämolysat	dgl.	„	markstückgr. Infiltr.	Spur	Spur Infiltr.	—
4 Tbk. 1:1000 + Bakt. er- hitzt	dgl.	markstückgr. Infiltr. und Rötung	talergroße Rö- tung, halb- pennigzentr. Infiltr.	nichts	Spur Infiltr.	Spur Infiltr.
5 Tbk. 1:1000 + Hammel- Ser. 1,0 bei 56° erhitzt	dgl.	dgl.	minimale Spur Infiltr.	Spur Infiltr.	Spur Infiltr.	Spur Infiltr.
6 Tbk. 1:1000 Blutkörper- chenrest	dgl.	nur pfennig- großer blau- schwarzer Fleck	pfenniggroße braunrote Verfärbung, erbsengroße Urticaria- quaddel	Spur Infiltr.	—	—

1) Die sofortige Reaktion ist wohl auf den 1/4-proz. Karbolgehalt zu beziehen.

2) Diederich.

	Sofort ¹⁾	6 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden	8 Tage
Kontr. { 1 Tbk. 1:3000	Spur	markstückgr. Quaddel, leicht infiltr.	kaum pfennig-großes Infiltr.	Infiltr. pfennig-groß	Infiltr. halb-pfenniggroß	Spur Infiltr.
2 Tbk. 1:1000 + Hammel-Serum 0,2 erhitzt	starke Rötung	zweimarkstück-große, stark inf. u. gerötete Quaddel, schmerzhaft	talergroßes Infiltr., fünf-markstückgr. Rötung herum	Infiltr. talergroß, hand-tellergröße Rötung	Infiltr. markstückgroß	markgroßer schuppender Fleck
3 Tbk. 1:1000 Hämolystat	dgl.	einmarkstück-große flache, wenig entzündete Quaddel	markstückgr. mittleres Infiltr.	Spur Infiltr.	Infiltr. markstückgroß	nur Spur Infiltr.
4 Tbk. 1:1000 + Bakt. erhitzt	dgl.	wie 2 stark infiltriert	bohnen großes Infiltr., hand-tellergröße Rötung	fünfmarkstück-große Rötung und Infiltr.	Spur Infiltr.	erbsengroßes Infiltr.
5 Tbk. 1:1000 + Serum 1,0 bei 56° erhitzt	schwächer als 2, 4, 6	wie 2 stark infiltriert	Spur Infiltr.	Spur Infiltr.	Spur Infiltr.	—

	Sofort ¹⁾	6 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden	8 Tage
Kontr. { 1 Tbk. 1:1000 Blutkörperchenrest	starke Rötung	zweimarkstück-großer blauer Fleck	nur Verfärbung	Spur Rötung und Infiltr.	Infiltr. minimale Spur	—

vor allem von Aronsohn erfolgt, welcher den Tuberkulinreaktionen den anaphylaktischen Charakter absprechen wollte, und neuerdings von Selter.

Eine Auseinandersetzung über diese Grundfrage hat die Klärung der antigenen Natur des Tuberkulins zur Vorbedingung.

In Muchs großem Aufbau seiner Partialantigene liegt an sich zu unserer Theorie kein Widerspruch, aber er gelangt durch den Weg, den er gegangen, schließlich zu einem Widerspruch. Es lag in seinen Anschauungen, das Tuberkulin als therapeutisch unbrauchbar zu bezeichnen: Nach ihm enthält es drei (wasserunlösliche) Partialantigene, ein besonderes Gift

1) Die sofortige Reaktion ist wohl auf den $\frac{1}{4}$ -proz. Karbolgehalt zu beziehen.

	Stichreaktion 1 : 2000	Ochsen Serum Tbk. 1 : 5000	Ochs.-Erythro.- Flüssigkeit + Tbk. 1 : 5000	Ochs.-Ery- thro.- Rück- stand
Günther 25. XI.	24 Std. Infiltr. erbsengroß 48 Std. Spur	Infiltr. mark- stückgroß Spur	Infiltr. mark- stückgroß Spur	Infiltr. mark- stückgroß Spur
Rückert 25. XI.	24 Std. Spur Rötung	Spur Rötung	Spur Rötung	Spur Rötung
27. XI.	Spur	3 1/2 : 4 cm Rötung	Spur	mehrsals 1-3 Rötung 4 : 6 cm
29. XI.	—	—	—	—
Schulhof 25. XI.	24 Std. Infiltr. erbsengroß 48 Std. Spur In- filtr. 5 Tage	Spur Rötung — Quaddel, Urtica- ria, Serum- krankheit	Spur Rötung — —	talergroße Rötung — —
Obst	Tbk. Dosis 6 : 100 ohne Reaktion			
26. XI.	24 Std. Infiltr. und talergroße Rötung	dgl.	dgl.	dgl.
29. XI.	48 Std. —	—	—	—
3. XII.	Spur Rötung	Spur Rötung	Spur Rötung	Spur Rötung
Bergmann	24 Std.	24 Std. Infiltr. 48 Std. —	Infiltr. nach 36 Std. —	— —

	Tbk. 1 : 1000	Tbk. 1 : 1000 + Ochsen Serum	Tbk. 1 : 1000 + Ochs.-Erythro.
Freienwalde 2. XII. Tbk. II. des I. O. L.	24 Std. Infiltr. ++	Infiltr. ++, schwä- cher als die an- deren	Infiltr. ++
Konj. ++	48 Std. Infiltr. + 96 Std. Spur	Infiltr. + Spur	Infiltr. + Spur
Rückert 2. XII.	24 Std. Infiltr. ++ 72 Std. dgl. 96 Std. Reaktion	Infiltr. Spur dgl. —	Infiltr. ++ dgl. —
Ambruch unbehandelt	24 Std. Spur Inf. 48 Std. Inf. +/+ + 96 Std. Infiltr. +	Spur Infiltr. Infiltr. + Infiltr. +	Spur Infiltr., grö- ßer als 1, 2, 3 Infiltr. +/+ + Infiltr. Spur

und einen Riechstoff. Auch der Riechstoff ist nach ihm beim (tuberkulösen?) Menschen hoch reaktiv, ich weiß mich aber mit Ruppel in Uebereinstimmung, wenn ich behaupte, daß die Reaktionen bei der Tuberkulinherstellung nicht durch den Riechstoff bedingt werden, sondern durch beim Kochen bei der Fabrikation des Alttuberkulins infolge Verdampfung hochgerissene Tuberkulintröpfchen, wie auch das Kochsalz an der See durch Brandung in die Luft gerissen wird.

Nach Much sollen die Partialantigene ein tuberkulöses Meerschweinchen nicht töten, dagegen der wasserlösliche Anteil „L“. Diese Versuche bedürfen unseres Erachtens sehr dringend einer Nachprüfung, da ja Much selbst angibt, daß die Ueberempfindlichkeit durch die Partialantigene erhöht wird, und der Tod des tuberkulösen Meerschweinchens durch Tuberkulininjektion nur ein Höhepunkt der Ueberempfindlichkeitsreaktion ist, welche die Tuberkulinreaktion in ganz ausgesprochener Weise darstellt. Dazu kommt, was Ruppel in seinen Arbeiten ebenfalls fand, daß mit Neutuberkulin-Bazillenemulsion ebenfalls tuberkulöse Meerschweinchen zu töten sind und man dafür doch kaum den wasserlöslichen Tuberkulinanteil „L“ im Sinne Muchs verantwortlich machen kann, da Much (cf. Weichardts Ergebnisse, 1917, p. 652) selbst die Bazillenemulsion als unaufgeschlossene Bazillenstoffe bezeichnet.

Das Tuberkulin als unbrauchbar (zugunsten der Partialantigene) zu erklären, weil auch brauchbare Antigene einen Körper schädigen können, ist nicht ganz logisch. Daß durch falsch bemessene Injektion von Antigen eine negative Phase oder Antikörperstörung auftritt, ist eine sehr bekannte Tatsache. Man muß daher versuchen, die Injektionen richtig zu bemessen. Sonst müßte man ja geradezu nach denaturierten Antigenen suchen. Eine anaphylaktisierende Tuberkulintherapie, von der so viel geredet wird, gibt es meines Erachtens nicht, sondern bei jeder Tuberkulinbehandlung, selbst bei brüskem Vorgehen mit starken Reaktionen tritt Absinken der Empfindlichkeit auf, ich verweise auf die seinerzeit gemeinsam mit Stadelmann ausgeführten Versuche, nach denen (cf. Frühdiagnose und Tuberkuloseimmunität) nach sukzessiver Injektion von 1,3 und 5 mg Tuberkulin sich steigendes Fieber

auftrat, während nach der vierten Injektion von 10 mg das Fieber ausblieb und dafür an der Injektionsstelle starke Schwellungen auftraten. Für intrakutane Injektion gilt das gleiche. Es beweist dies die Kurve von Mantoux (Presse médicale, 1910, No. 2).

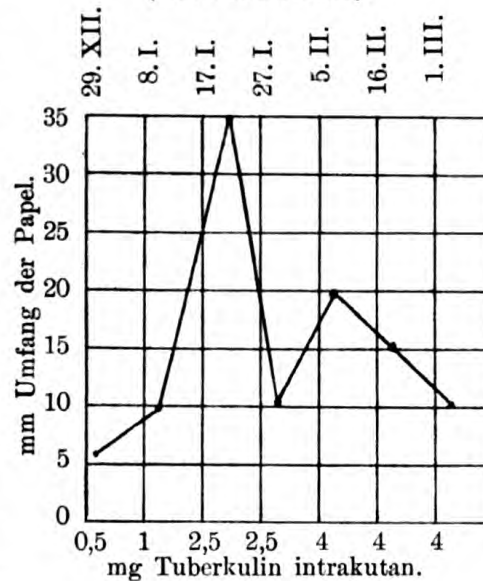
„Une même dose de toxine (gemeint ist Tuberkulin) a produit successivement des réactions décroissantes de 20, 15 et 10 mm de diamètre, par contre, il a fallu des doses de 1/1000 puis 2.5/1000, puis 4/1000 mg pour obtenir une même réaction de 10 mm à mesure que progressait l'immunisation.“

Much sagt weiter l. c. p. 652: „Mit keinem der gebräuchlichen Tuberkuline kann man normale Tiere so vorbehandeln, daß sie gegen Tuberkulose geschützt sind.“ Dies ist vollkommen richtig, gilt meines Erachtens aber auch für die Partial-

antigene. Viel merkwürdiger aber und ein schwereres Problem für die oben aufgestellte Theorie ist die Tatsache, daß man auch durch Vorbehandlung mit keinem Tuberkulin eine Empfindlichkeit gegen Tuberkulin hervorzurufen in der Lage sein soll. Soll das nur der lebende Tb. können? Hier liegt eines der Grundprobleme der ganzen Tuberkuloseforschung.

Nicol (Brauers Beitr., Bd. 30) und Amrein geben folgende morphologische Darstellung, welche aber tief in die biologischen Probleme hineingreift. Tbc. (lebende) bewirken proliferierende Formen, die Stoffwechselprodukte des Tb. exsudative Formen der Tuberkulose. Tote Tbc. bewirken Knötchenbildung, und zwar nach Baumgarten und wenigstens

Abnahme der Reaktionsfähigkeit bei wiederholter intrakutaner Tuberkulininjektion.
(Nach Mantoux).



Kurve 1.

der Mehrzahl der Autoren keine Verkäsung, wohl aber einen exquisit exsudativen Prozeß, und schon hieraus geht hervor, wie schwer die Tb. selbst von Stoffwechselprodukten zu trennen sind. (Nach Prudden, Newyork med. Journ., Dezember 1891 vermögen nur die lebenden Bazillen die spezifische Substanz zu bilden, welche die käsige Degeneration bewirkt.)

Wir wenden uns in erster Linie der Frage zu, ob Tuberkulin ein Antigen ist in dem Sinne, daß beim nicht tuberkulösen Tiere Ueberempfindlichkeit erzeugt werden kann oder ob, was uns als dasselbe erscheint, Tuberkulinreaktionen bei diesen auftreten.

Zunächst müssen wir aber unsere Ergebnisse mit den von Friedberger erhaltenen in Vergleich stellen. 1906 hatte ich als Ergebnis meiner Versuche mitgeteilt, daß die endotoxische Giftwirkung sämtlicher (Infektionskrankheiten erzeugender) Bakterien nur ein Sonderfall der die wiederholte Einverleibung von Eiweiß beherrschenden Gesetze ist, und Friedberger hat in Versuchen, deren fundamentale Bedeutung meines Erachtens nicht ganz die genügende Würdigung gefunden haben, gezeigt, daß beim mit Serum sensibilisierten Tiere durch Serum Erscheinungen hervorgerufen werden, welche sehr nahe Beziehungen zu den Erscheinungen, welche Infektionskrankheiten auslösen, haben. Die gleichen Sensibilisierungen sind ihm mit totem Bakterieneiweiß gelungen. Die Dosen, die dabei zur Verwendung kommen mußten, sind allerdings so enorm, daß ein Zweifel darüber kaum bestehen kann, daß bei einer Infektionskrankheit gleiche Riesenmengen von Bakterien nicht in Aktion treten.

Wenn wir den von Friedberger eingeführten Begriff des anaphylaktischen Index beibehalten und eine Dosis efficax, die Dosis, welche temperaturerhöhend beim normalen Tiere wirkt, mit der die gleiche Wirkung beim vorbehandelten Tiere auslösenden vergleichen,

$$\frac{\text{Dosis für normales Tier}}{\text{Dosis für vorbehandeltes Tier}} = \text{Index}$$

so zeigten Tiere nach subkutaner Vorbehandlung mit 0,02 g trockener toter Tbc. einen Index 10, da sie bei 0,002 g intravenös gegeben starben, während nicht vorbehandelte Tiere intravenös 0,02 g zu gleichem Effekt brauchten. Bei Hammel-

serum ist der Index unter Umständen 1 Million, aber das ist insofern ein Sonderfall, als der Index bei Pferdeserum nur 10 beträgt (wie oben bei Tb.).

Friedberger hat dann Versuche über passive Uebertragung der Anaphylaxie ausgeführt und mit antikörperhaltigen Seren (die 24 Stunden vor dem Versuch injiziert wurden) die tödliche Dosis für Tb. bis auf $\frac{1}{5}$ (von 0,025 auf 0,005) herabsetzen können.

Eine besondere Besprechung verdienen die Friedbergerschen Versuche (Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 2) über die Bildung seines Anaphylatoxins aus Tuberkelbazillen. Friedberger gibt an, daß es unter gewissen Voraussetzungen gelingt, aus getrockneten Tuberkelbazillen mit aktivem Meerschweinchenserum das Anaphylatoxin zu gewinnen. Aber nach Friedbergers eigenen Angaben starben an 1 g dieses Anaphylatoxins tuberkulöse Meerschweinchen auf der Höhe der Infektion, während nicht vorbehandelte (d. h. nicht tuberkulöse) Meerschweinchen 3,5 g ohne Krankheitserscheinungen vertragen. Dieser Befund verdient recht sehr hervorgehoben zu werden, denn erstens beweist er, daß es kein einheitliches Anaphylatoxin gibt, da das aus Tb. gewonnene nur auf tuberkulöse Meerschweinchen eine Wirkung ausübt. Es bleibt nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß Friedberger aus den Tb. eine tuberkulinähnliche Substanz gewinnt.

Es besteht so zwischen maßgebenden Forschern ein Widerspruch, der aufgeklärt werden muß und der bisher in der Literatur noch nicht einmal klar umrissen wurde. In den Friedbergerschen Versuchen wurden die Tiere unter der Wirkung der Ambozeptoren antikörperempfindlicher (sensibilisiert), während sie in den Ruppelschen Versuchen unempfindlich wurden. Es ist nun unbedingte Notwendigkeit, daß die weitere Forschung versucht, die Gründe dieser prinzipiellen Differenzen bei zwei ausgezeichneten Experimentatoren festzustellen. An und für sich neige ich nach dem Ergebnis meiner eigenen Versuche dazu, anzunehmen, daß durch Ambozeptoren aus den Tb.-Substanzen giftig wirkende Stoffe freigemacht werden, also eine Sensibilisierung eintritt. Trotzdem besteht die Möglichkeit, daß Ambozeptoren eine Unempfindlichkeit herbeiführen, entweder, wenn die Friedbergersche An-

sicht richtig ist, daß der Abbau über eine giftige Stufe zu einer ungiftigen führt oder die verwandte Anschauung von Pfeiffer und Friedberger, wonach die Virulenz der Bakterien abnimmt, je mehr von den Rezeptoren des Bakteriums mit Ambozeptoren besetzt sind. Es erscheint mir jedoch sehr zweifelhaft, ob man bei der Anlage der Ruppelschen Versuche (Injektion des antikörperhaltigen Serums 24 Stunden vor dem eigentlichen Versuch) annehmen darf, daß sämtliche Rezeptoren des Antigens mit Ambozeptoren besetzt sind. Dazu kommt, daß wir bei intrakutaner Injektion des mit Ambozeptoren besetzten Tuberkulins Reaktionen stets erhalten haben, so daß wir also bei dieser Prüfungsart eine Entgiftung nicht feststellen konnten. Alle diese Tatsachen zwingen dazu, eine weitere experimentelle Prüfung dieser Dinge anzustreben. Wir teilen eine Reihe von Versuchen mit, deren Wertung von dem Gesichtspunkte aus zu geschehen hat, daß in ihnen versucht wird, Material zur Prüfung der Frage beizubringen, ob Friedberger oder Ruppel in ihren Befunden das Richtige treffen. Die Versuchsanordnung war eine etwas veränderte, indem Serum und Antigen gleichzeitig injiziert wurden, damit das Antigen die Antikörper vorfand und diese nicht, wie aus anderen Versuchen von uns hervorgeht, an anderen Stellen des Körpers durch Bindung festgehalten werden können.

Für die Frage der Gleichsinnigkeit der Wirkung von Tb. und Tuberkulin ist der Befund von Friedberger wichtig, daß 2 g toter, gut emulsiertes Tb. auf 100 g Tier (entsprechend 2 mg Tb.-Eiweiß) ein nicht vorbehandeltes Meerschweinchen töten. Das vorbehandelte Tier wird durch $\frac{1}{10}$ der gleichen Dosis, also 0,2 mg der Tb.-Eiweißsubstanz getötet. 2 cg Tb.-Leiber entspricht etwa 0,2 g Tuberkulin und weder mit dieser Dosis Tuberkulin noch Tb.-Leiber haben wir Meerschweinchen sicher töten können. Es ist daher hier wohl die Frage aufzuwerfen, ob bei der von Friedberger verwandten Technik (Abtötung bei 60°) wirklich eine Abtötung der Tb. erreicht wird.

Friedberger hat nun unter Benutzung der Temperatur und des Gewichts als Indikator Versuche mit der passiven Uebertragung der Ueberempfindlichkeit angestellt.

Wir haben die Versuche in der Weise angestellt, daß wir

das antikörperhaltige Serum zusammen mit dem Antigen dem Versuchstier peritoneal einverleibten, damit die supponierten Ambozeptoren-Antikörper besser zur Verfügung stehen sollten.

Wir verwendeten bei den Versuchen folgende Antigene:

- 1) Zerriebene Tb. Höchst 0,2 cem 1:100 = 0,002.
- 2) Killed Tubercle bacilli von Allen und Hanbury (wie sie Wright für Opsoninversuche benutzte) 0,2 (1:100).
- 3) Alt-Tuberkulin Ruete-Enoch staatl. geprüft 1 cem.

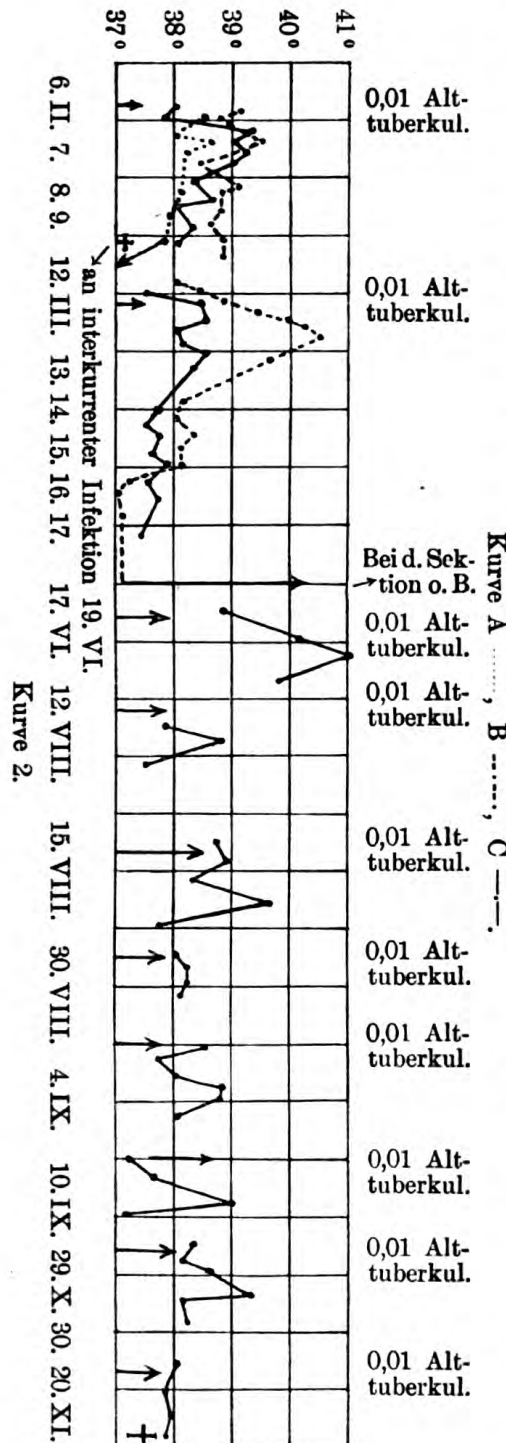
Wir verwendeten folgende Sera:

- 1) Serum Lang, herstammend von einem Fall von Kutaninjektion mit stark positiver kutaner Dauerreaktion und schwach positiver Konjunktivalreaktion, Tb. im Sputum positiv.
- 2) Serum Buhl, herstammend von progredienten, dauernd fieberhaften Tbc. II./III. Stadiums mit kutaner konj. neg. Reaktion. Tb. im Sputum positiv, gewissermaßen als Paradigmen der zwei verschiedensten Immunitätsformen bei offenen aktiven Tbc.

Meerschweinchen	1 cem Serum	+	Gewicht ¹⁾	Gew.-Verl. ²⁾	Gewicht nach	Temp.	Differenz zusammen	
							+	-
62	Lang	0,002 zerr. Tb. Höchst	400 g	90 g	13 Tagen — 40 g	39,0	1,0	.
64	„	0,002 killed Tb.	420 „	100 „	13 „ — 60 „	37,4 38,8	1,8	0,6
66	„	1 cem Tuberkulin	440 „	120 „	11 „ ± 0 „ + Pneumonie	37,5 39,2	1,2	0,5
61	Buhl	0,002 zerr. Tb. Höchst	360 „	100 „	13 Tagen — 60 „	37,0 38,8	0,8	0,1
63	„	0,002 killed Tb. Bacilli	410 „	90 „	13 „ — 30 „	38,0 + 1,0 39,4	1,4	.
65	„	1 cem Tuberkulin	270 „	70 „	13 „ — 10 „	langsame Erhöhung + 37,5 + 38,5	0,5	0,5

Wenn man also mit Friedberger die Temperaturbeeinflussungen als Maß passiver Anaphylaxie anerkennt, wozu wir noch den Einfluß auf die Gewichtskurve hinzunehmen, so hat man keine Berechtigung, zwischen Tb. und Tuberkulin

- 1) Zu Anfang des Versuches.
- 2) Maximaler Gewichtsverlust.



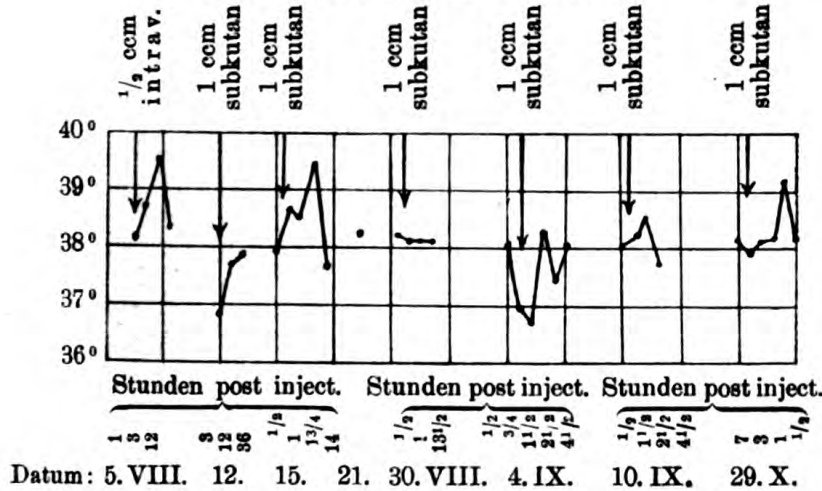
prinzipielle Unterschiede anzunehmen und Tuberkulin, wie es Friedberger tut, nur als Umsetzungsprodukt zwischen Tb. und einer künstlichen Nährbouillon anzusehen. Unter Benutzung von Immenserum zur Feststellung der passiven Anaphylaxieübertragungsergebnisse zwischen den drei von uns verwendeten Antigenen keine prinzipiellen Unterschiede. Es ergibt sich dieses sehr deutlich aus drei von uns nach den Versuchen gezeichneten Kurven.

Kurve A zeigt, wie unter gleichen Versuchsbedingungen die Temperatureinwirkung von Tuberkulin eine verschiedene sein kann. Es waren 3 Meerschweinchen mit einer exstirpierten Tonsille vorbehandelt worden. Der Infekt war so milde, daß er beim Meerschweinchen mit einer lokalen Nekrose (Tb. +) verheilte.

Kurve B zeigt, daß beim Daniederliegen des Immunitätszustandes

Wochen vor dem Exitus eine jede Temperaturreaktion ausbleiben kann.

Wiederholte Tuberkulininjektion (subkutan) beim gesunden Meerschweinchen (Meerschw. 20).



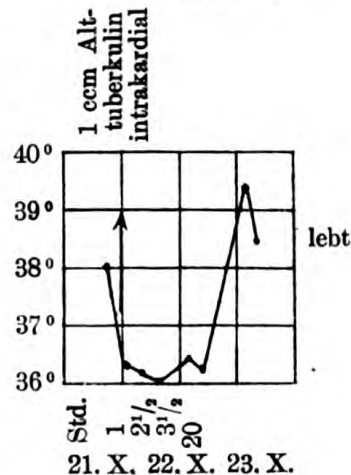
Kurve 2a.

Kurve C zeigt, daß Alt-tuberkulin ebenso wie tote Tb. Temperaturen auslöst, aber in bezug auf Anstieg und Abfall ohne die Möglichkeit, dafür Regeln aufzustellen.

Der Applikationsart des Tuberkulins kommt nach unseren Versuchen nicht die entscheidende Wichtigkeit zu. Speziell unsere Versuche über die intrazerebrale Tetanustoxininjektion und der prinzipiellen Differenz zwischen dieser und jedem anderen Injektionsmodus finden hier keine Analogie, wahrscheinlich weil das Gehirn nicht der Angriffspunkt der Tuberkulinwirkung ist.

Wir geben eine Reihe unserer Protokolle über die intrazerebralen Tuberkulininjektionen bei

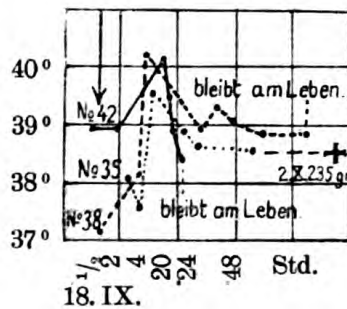
Tuberkulin intrakardial beim gesunden Meerschweinchen.



Kurve 3.

gesunden Tieren, aus denen hervorgeht, daß die Injektionen sowohl reaktionslos ertragen werden können, als auch etwa sich zeigende Reaktionen in ganz gleicher Weise auf die Injektion von physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon auftreten können. Sie sind also Folgen der bei der Injektion gesetzten Gehirnverwundungen und nicht etwa einer spezifischen Tuberkulinwirkung.

Verlauf intrazerebraler Tuberkulinjektionen bei 3 gesunden Meerschweinchen.



No. 35: Gewicht 400 g vor dem Versuch.
0,1 cem Alttuberkulin 1:10.

No. 42: Gewicht 400 g vor dem Versuch.
0,1 cem Alttuberkulin 1:75.

No. 38: Gewicht 380 g vor dem Versuch.
0,15 cem Alttuberkulin 1:100.

↓ = Moment der intracerebralen Injektion.

Kurve 4.

Meerschweinchen 12 A, 610 g.

21. VIII. Intrazerebrale Bohrung unter Aethernarkose.

Nach $\frac{3}{4}$ Std. Temp. 37,7

1 $\frac{1}{2}$ " " 37,7

2 $\frac{1}{2}$ " " 37,8

6 " " 38,4

22. VIII. 20 " " 38,2

22. VIII. 0,15 physiologische Kochsalzlösung intrazerebral.

Nach 10 Min. Temp. 38,4

20 " " 38,1 } Tier ohne Erscheinungen

8 Std. " " 39,2 } Tier gesund.

20 " " 37,8

18. IX. Intrazerebrale Injektion von 0,15 Bouillon (dabei bricht Kanüle ab und bleibt in der rechten Hemisphäre stecken).

Nach 2 Std. Temp. 38,5

4 " " 39,3

6 " " 39,5

20 " " 38,9

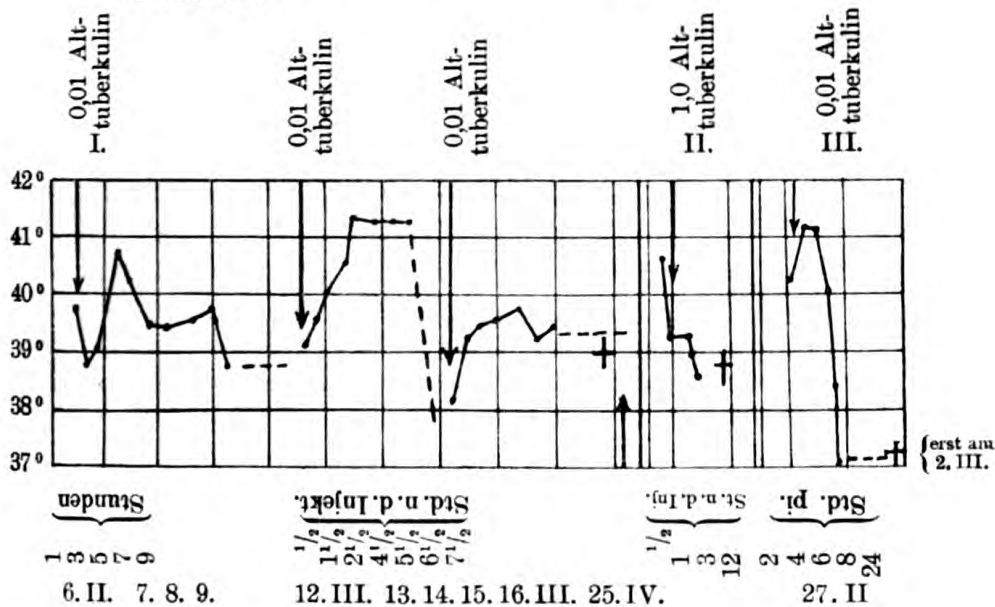
2 Tg. " 38,8

3 " " 39,0

† 1. X. Gehirn gerötet, sonst kein Befund, Milz steril, Magen aufgetrieben, Darmkatarrh.

Wirkung großer und kleiner Tuberkulindosen auf das tuberkulöse Meerschweinchen.

- I. Meerschw. 5. Infektion mit Tuberkulosesputum am 28. I. Wiederholte Injektion von 0,01 cem Alttuberkulin im Verlaufe einer Miliartuberkulose.
- II. Meerschw. 17. Bei sonst gleicher Versuchsanordnung. 1,0 cem Alttuberkulin subkutan. Temperatursturz und akuter Tod.
- III. Meerschw. 6. Bei sonst gleicher Versuchsanordnung. 0,01 cem Alttuberkulin subkutan. Temperatursteigerung, dann Abfall ohne direkten Tod.



Meerschweinchen 14 A, 435 g.

- 21. VIII. Intrazerebrale Oeffnung unter Aethernarkose und Injektion von 0,02 Alttuberkulin in 0,2 cem Flüssigkeit.

Nach 10 Min.	Temp.	34,6
1 1/2 Std.	"	37,7
2 1/2 "	"	37,0
6 "	"	34,9

† nach 7 Std., vorher kurze Zuckungen in allen Extremitäten (seit 5 Std.).

Sektion. Etwas sanguinolente Flüssigkeit in der Bauchhöhle aus Erythrozyten und wenigen Leukozyten bestehend. Dünndarm gerötet. Herz kontrahiert; sonst ohne Befund. Gehirn zeigt nicht sehr bedeutende piale Blutung. Rückenmarkshäute hyperämisch. Gehirn ohne jede makr. Veränderung, in dem Zentrum der rechten Hemisphäre nur punktförmige Stichstelle.

Meerschweinchen 13 A, 560 g.

21. VIII. Intrazerebrale Bohrung unter Aethernarkose und nach Aufwachen Injektion von 0,01 Alttuberkulin in 0,1 ccm Flüssigkeit.

Nach $\frac{1}{2}$ Std.	Temp.	41,2
$1\frac{1}{2}$ "	" "	40,1
$2\frac{1}{2}$ "	" "	38,9
6 "	" "	38,1

† nach ca. 12 Std. Nach ca. 6 Std. waren kurze klonische Zuckungen der Extremitäten aufgetreten.

Sektion. Dünndarm gerötet, Lunge gerötet, Herz links kontrahiert, sonst makr. kein Befund.

Meerschweinchen 35, 400 g.

18. IX. 0,01 Alttuberkulin in 0,1 Flüssigkeit intrazerebral.

Nach $\frac{1}{2}$ Std.	Temp.	37,5
2 "	" "	39,7
4 "	" "	39,5
20 "	" "	38,9
2 Tg.	" "	38,6
3 "	" "	38,5

2. X. 235 g, auf beiden Augen erblindet.

†, Wunde nicht ganz zugeheilt.

Sektion. Hirn blutüberfüllt; Niere trübe, blutüberfüllt, ebenso Nebenniere; eine Lunge pneumonisch.

Meerschweinchen 42, 410 g.

Vor der Injektion Temp. 38,9.

24. X. Erhält 0,1 $1\frac{1}{2}$ -proz. Tuberkulin alt intrazerebral.

Nach 1 Std.	Temp.	38,9
3 "	" "	40,0
6 "	" "	38,8
7 "	" "	38,5

14. I. 08. Lebt.

Meerschweinchen 43, 305 g (weißer Russe).

Vor der Injektion Temp. 38,4.

24. X. 0,1 $1\frac{1}{2}$ -proz. Tuberkulin alt zerebral.

Nach 1 Std.	Temp.	38,6
3 "	" "	38,8
6 "	" "	38,7
7 "	" "	38,8

14. I. 08. Gesund.

Meerschweinchen 38, 330 g.

Temp. 38,4.

20. IX. 1 ccm Paratyphus (4 Tage alt) Chamberlandfiltrat 2 Std. bei 58°, steht einen Tag länger als das bei Meerschweinchen 7 und 28 intrazerebral injizierte Filtrat, peritoneal. Filtrat kulturell steril.

	Nach 2	Std. Temp.	38,8	
	4	" "	38,6	
	7 ¹ / ₂	" "	38,4	
19. X.	Gesund.			
21. X.	¹ / ₂ , 0,15 einer 1-proz. Tuberkulinatlösung intrazerebral.			
	Nach ¹ / ₂	Std. Temp.	40,3	
	3	" "	40,0	
	4	" "	39,7	
	7	" "	38,8	
22. X.	9	" "	39,3	340 g
	11	" "	39,0	
23. X.			38,6	360 g
24. X.			38,6	
14. I. 08.	Gesund.			

Aehnlich liegen die Dinge, wenn man das Tuberkulin subdural injiziert.

	Meerschweinchen 2 B, 330 g.			
	Temp. 38,0.			
13. III.	0,01 Tuberkulin alt subkutan.			
	Nach 10 Min. Temp. 37,5.			
24. VIII.	0,02 Tuberkulin alt lumbal.			
	Nach ¹ / ₃	Std. Temp.	38,0	
	3	" "	40,3	
	6	" "	39,0	
	18	" "	38,3	
19. X.	Gesund.			
	Meerschweinchen 11 A, 500 g.			
	Temp. 38,5.			
24. VIII.	Erhält 0,02 in den Lumbalsack.			
	Nach ¹ / ₄	Std. Temp.	37,3	
	1	" "	39,0	
	3	" "	39,9	
	6	" "	39,6	
	18	" "	38,8	
	Magert ab, am 20. IX. 470 g.			
8. X.	†, blind.			
	Meerschweinchen 41, 400 g.			
	Temp. vor der Injektion 38,8.			
24. X.	Erhält 3 ccm ¹ / ₂ -proz. Tuberkulin subdural.			
	Nach 1	Std. Temp.	36,9	
	3	" "	38,0	
	6	" "	38,1	
	7	" "	38,5	

Wir haben dann, um die so sehr notwendige Kontrolle zu ermöglichen, Meerschweinchen mit verschiedenartigsten Substanzen subkutan, peritoneal, intravenös injiziert und re-

injiziert (Hammelserum, Hammelerythrozyten, Gelatine, Peptonwasser, Organverreibungen). Ueber die Temperaturverhältnisse gibt die folgende Zusammenstellung eine Uebersicht. Nach alledem glauben wir, daß z. B. Marie und Tifféaneau (Soc. de Biol., 1908, No. 11), die sich mit dem Gegenstand beschäftigt haben, für die intrazerebrale Tuberkulininjektion irrtümlich eine spezifische Reaktion und eine Sensibilisierung angenommen haben.

Versuche

mit subkutaner und intravenöser Injektion der verschiedenen Substanzen.

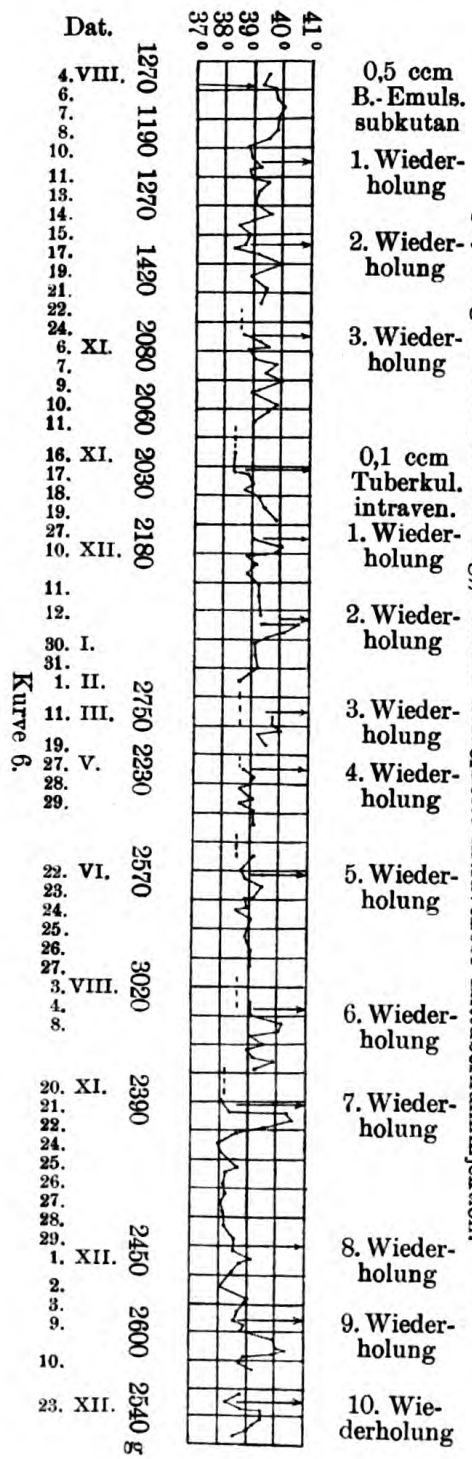
0,1 Hammelserum subk. bei subkut. Reinjektion	Temperatursturz bis 35,2
0,01 „ „ intrav. bei periton. „ „	„ „ bis 36,5
0,01 „ „ intrakardial	Temperatursturz bis 34,5
0,1 dgl.	39,0, Reinjektion Sturz bis 36,6, dann 39,2
0,001 Hammelserum intravenös	39,1
0,0001 „ „	39,6
0,0001 „ „	38,9
Durch Wasser hämol. Blut 2 ccm 5-proz. Aufschw. intrav. Reinjektion	39,0
dann Zusatz von Kochsalz	
dgl. durch Immunserum hämolysiert, intravenöse Reinjektion	39,5
5-proz. Hammelbluterythrozyten 2 ccm „ „	39,5
0,1 5-proz. Gel. intravenös	39,1, Reinjektion 35,0
0,2-proz. Peptonwasser 1 ccm intravenöse Reinjektion	39,4
dgl. „ „	40,0
dgl. 1 ccm 3mal verd. intravenöse Reinjektion per	39,8
dgl. „ „ „	39,0
Nur Meerschweinchensperma 1 $\frac{1}{2}$ ccm subkutane Reinjektion	39,0
Elektrargol dgl. intrakard. 39,0, Reinjektion 40,8	
intravenös und Reinjektion intrakardial	
$\frac{1}{2}$ ccm Meerschweinchenleber intravenös	39,2, Reinjektion 39,5
1 ccm Meerschweinchenmilz und -herz intrav.	36,3, dann 39,5, Reinj. 39,7
$\frac{1}{3}$ Meerschweinchenniere intravenös	39,0, Reinjektion per 40,4.

Die Versuche zeigen, daß Temperaturerhöhungen und -abfall bei Erst- oder Reinjektion die Folge so zahlreicher Eingriffe sind, welche die Einverleibung heterogener Substanzen begleiten, daß die Erhöhung und der Abfall sich so regellos folgen, daß weitgehende Schlußfolgerungen mir nicht zulässig erscheinen. So geistvoll die Friedbergerschen Versuche aufgebaut sind, erscheint es zweifelhaft, ob auf diese Indikatormethode Schlüsse über aktive und passive Anaphylaxie und deren Gesetze aufgebaut werden dürfen.

Das Hauptinteresse muß sich in erster Linie immer von neuem der Frage zuwenden, ob dem Tuberkulin beim gesunden Tier antigene Eigenschaften zukommen und ob Tuberkulin beim nicht tuberkulösen Tier Giftwirkung zu entfalten vermag. Dabei müssen wir alle die Befunde ausschalten, die Autoren erhalten haben, welche Riesenmengen von Tuberkulin injiziert und hierbei Krankheitserscheinungen beobachtet haben, die man in gleicher Weise mit 10mal eingeengter Bouillon ebenfalls erhalten würde. Hierher gehören z. B. die Angaben von Landmann über die Dosis letalis des Tuberkulins. Marie und Tifféaneau haben bei Mäusen Exitus bei 1 g des mit Alkohol präzipitierten Tuberkulins gesehen, doch widerspricht dieser Befund unseren Versuchen und den genau detaillierten Angaben von Ruppel, da wir niemals tödliche Tuberkulinwirkungen bei nicht tuberkulösen Tieren erzielen konnten¹⁾. Hamburger, Schick und Novotny konnten bei gesunden Meerschweinchen trotz langer Vorbehandlung mit Alttuberkulin nie eine Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulin und Tuberkelbazillen nachweisen, ebensowenig durch Vorbehandlung mit abgetöteten Tuberkelbazillen, und sie schließen aus ihren Versuchen, daß nur der tuberkulöse Organismus gegen Tuberkulose immunisiert werden kann, nicht der gesunde.

Diese Anschauung ist fast zu einem Axiom geworden. Da es die Tuberkuloseforschung geradezu vor eine unüberschreitbare Schranke stellte, haben wir in ziemlich breit angelegten und über Monate sich hinziehenden ziemlich mühsamen Versuchen die Frage nochmals bearbeitet. Wir sind zu abweichenden Resultaten gekommen, denen vielleicht eine gewisse Beachtung nicht versagt werden kann. Wir fanden, daß die Tuberkulinderivate im nicht tuberkulösen Organismus nur unter Schwierigkeiten dazu zu bringen sind, antigene Wirkungen zu entfalten, daß man aber es durch eine gewisse Beharrlichkeit in der Fortführung der Behandlung dazu bringen kann, daß die antigenen Eigenschaften deutlich in Erscheinung treten.

1) Wenn man durch Präzipitation der wirksamen Substanz mit Alkohol Glycerin- und Karbolwirkungen ausgeschlossen hatte.



Kaninchen 5 D. Wiederholte subkutane Injektion zerriebener Tuberkelbazillen Höchst (Bazillenemulsion 0,1 g auf 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung), danach wiederholte intravenöse Altuberkulininjektion.

Die Versuchsanordnung war die folgende, daß Kaninchen in 8—14-tägigen Intervallen Tuberkulin- oder Bazillenemulsion oder abgetötete Tuberkelbazillen erhielten und nun die Tiere, um die Reaktionsfähigkeit zu beobachten, gewissermaßen in klinische Beobachtung genommen wurden.

Die Einzelheiten der Vorbehandlung und der durch diese bedingten Umstimmungen ergeben sich aus den dem Wunsche des Verlags folgend nur zum Teil beigefügten Kurven 1—12. Auf die kürzeste Form gebracht, lassen sich die Befunde, wie folgt, zusammenfassen.

Kaninchen¹⁾ erhielten wiederholt in 8—14-tägigen Abständen intravenös 0,1 g Tuberkulin: deutliche Empfindlichkeit und Tuberkulinreaktion traten erst nach 8 Injektionen (Kaninchen 1 D) ein, dabei erlangte das Tier

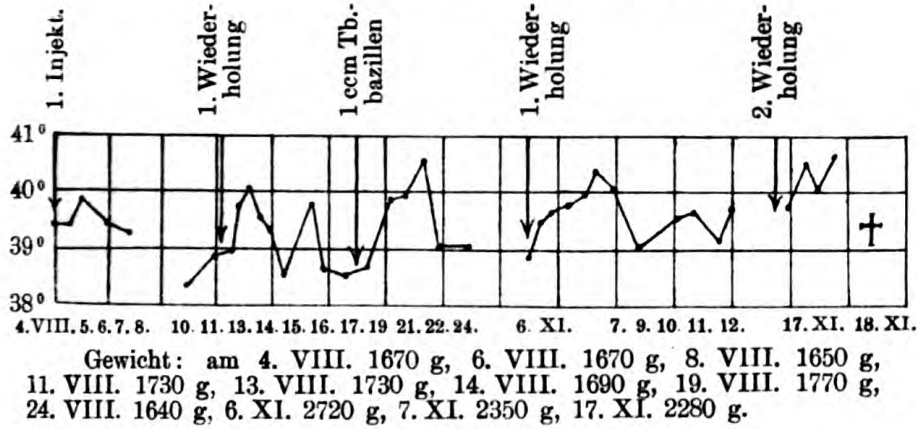
1) Die Versuche sind schon 1910 in einer Hauptsitzung der Königsberger Naturforscher-Versammlung vorgetragen worden.

Generated on 2019-10-13 13:52 GMT / http://dx.doi.org/10.2307/20221103 / http://www.jstor.org/stable/20221103 / http://www.thrifttrust.org/access_use#us-google

die Kraft, Millionen injizierter toter Tuberkelbazillen bis auf ganz vereinzelte Exemplare schon innerhalb 18 Tagen völlig aufzulösen (lytische Immunität). (Kaninchen 2 D.)

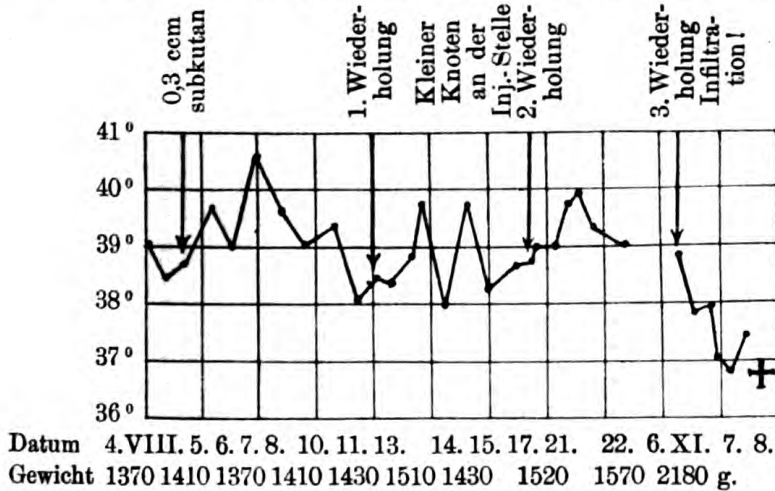
Kaninchen 8 D.

0,5 ccm zerriebene Tuberkelbazillen Höchst intravenös.



Kurve 7.

Kaninchen 11 D. Wiederholte Injektion intakter abgetöteter Tuberkelbazillen (Emulsion 0,1 g auf 10 ccm physiologische Kochsalzlösung).



Kurve 8.

Injektion zerriebener Tuberkelbazillen (Neutuberkulin Höchst 0,5 g einer Lösung 0,1 auf 10) gibt folgende Resultate: gute Resorbierbarkeit der injizierten Massen, nur geringe Infiltrationen an den subkutanen Injektionsstellen. Nach der 5. Injektion getötet fand sich

(Kaninchen 3 D): Um die Gefäße in Lunge, Leber und Milz starke Lymphozytenanhäufungen und Neigung zur Bindegewebsbildung.

Wird nach dieser Vorbehandlung (Kaninchen 3 D eventuell 4 D) mit zerriebenen Tuberkelbazillen, 0,1 Tuberkulin intravenös eingespritzt, bekommt man typische fieberhafte Tuberkulinreaktionen bei jeder Injektion (Kaninchen 5 D und 6 D).

Die gleichen Reaktionen treten auf, wenn man nach dieser Vorbehandlung (2mal oder öfter) abgetötete (nicht aufgeschlossene) Tuberkulinbazillenemulsion intravenös injiziert (Kaninchen 4 D, 8 D und 11 D).

Die gleichen Reaktionen treten auf, wenn man wiederholt nicht aufgeschlossene abgetötete Tuberkelbazillen 0,3 ccm einer Emulsion 0,1 auf 10 injiziert. Analog wie bei Reinfektionsversuchen an der ersten subkutanen Injektionsstelle, an den Reinjektionsstellen nicht (Kaninchen 9 D, 10 D und 12 D). Die nachträgliche Injektion aufgeschlossener Tuberkelbazillen (Bazillenemulsion) ruft keine Aenderung in den Reaktionen hervor (Kaninchen 12 D).

Es ergaben sich aus diesen Versuchen folgende Schlüsse:

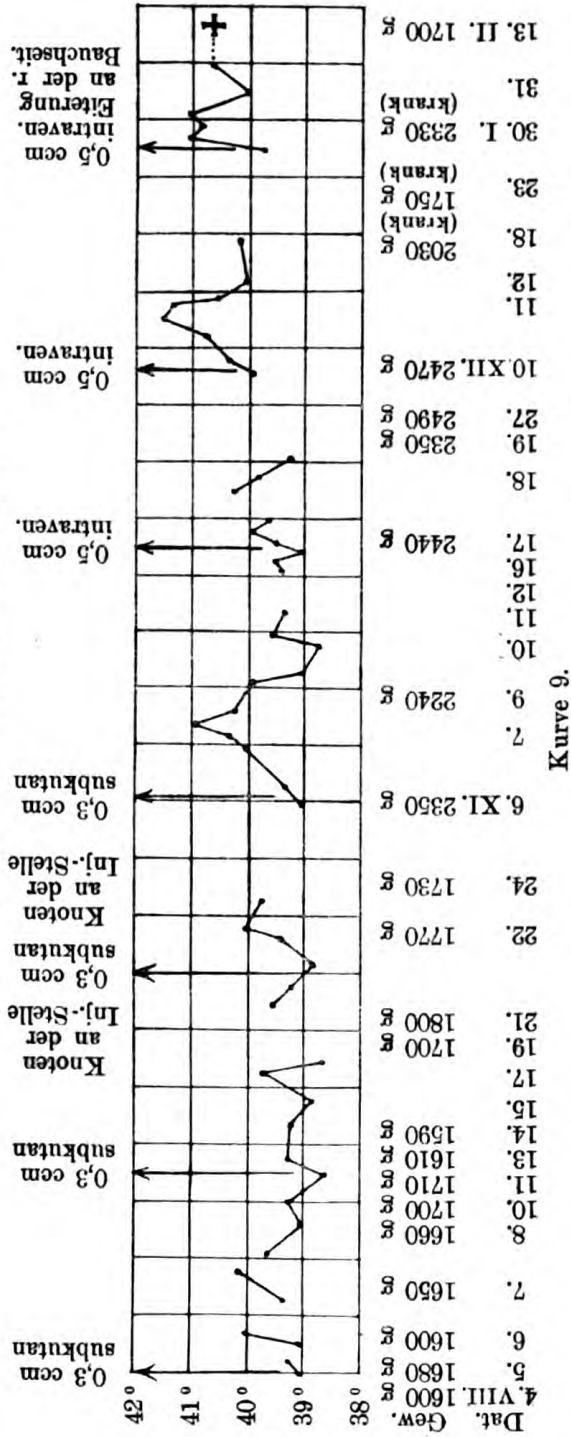
1) Es ist möglich, durch geeignete Vorbehandlung gesunder Tiere, in unseren Versuchen bei Kaninchen, typische Tuberkulinempfindlichkeit (Tuberkulinreaktionen usw.) durch ein Tuberkulin, allerdings nicht durch Alt-Tuberkulin, hervorzubringen. Die Tuberkuline unterscheiden sich demnach nicht, wie viele Autoren behaupten, von den Giften der Tuberkelbazillen¹⁾.

2) Es gelingt, ohne lebende Tuberkelbazillen das typische pathologisch-anatomische Bild der Tuberkulose nebst der typischen Giftempfindlichkeit experimentell hervorzurufen. Es ist auch eine Immunisierung ohne lebende Tuberkelbazillen möglich, was bisher allgemein bestritten wird.

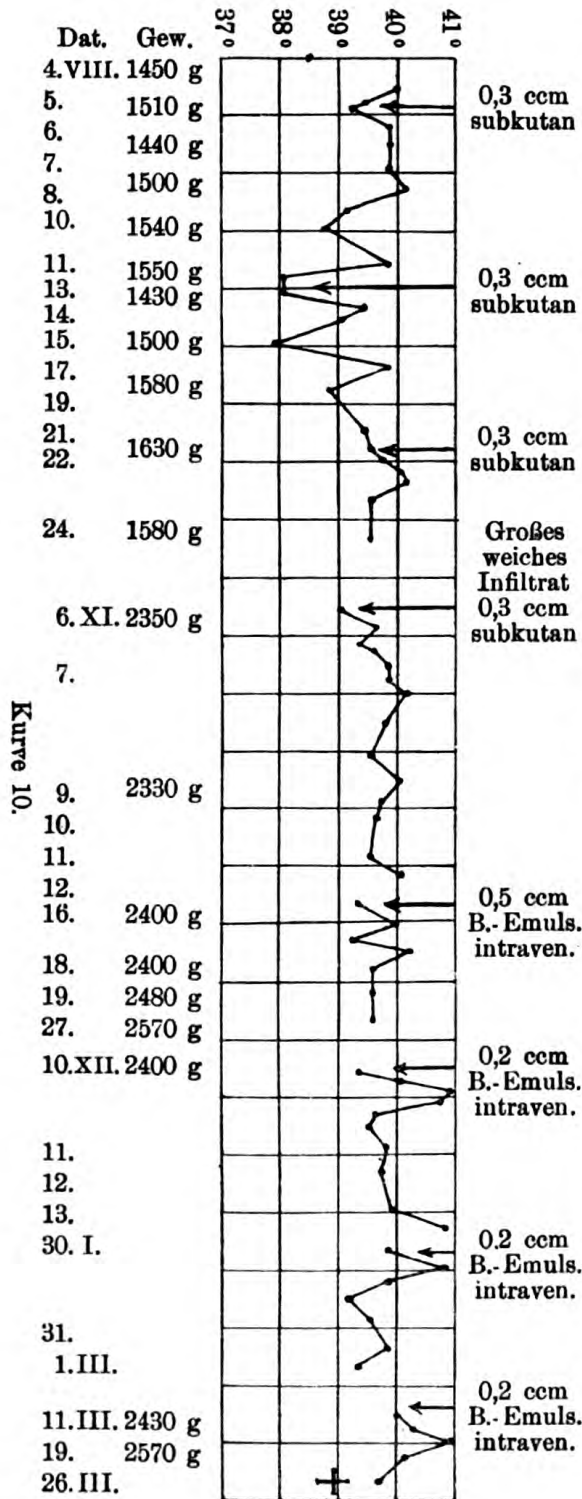
3) Wird man nach diesen Versuchen annehmen müssen, daß bei der tuberkulösen Infektion Stoffe in den Kreislauf ge-

1) Ich habe, wie vielleicht bekannt sein dürfte, mich mit P. v. Baumgarten in der 3. Auflage meines Tuberkulose-Werks: Die spezifische Diagnostik (Leipzig, Chr. H. Tauchnitz) in dem Abschnitt „Pathologisch-anatomische Untersuchungen über die lokalen Tuberkulinreaktionen“ über alle die zahlreichen Streitfragen zu verständigen gesucht, welche bisher die Pathologen und die Biologen trennten, so sehr trennten, daß eine Verständigung eigentlich aussichtslos erschien. Der oben formulierte Satz bildet die einzige erhebliche Differenz, die zwischen den Anschauungen P. v. Baumgartens und den meinen noch bestehen. Diejenigen, welche sich für diese prinzipiell wichtigen Fragen interessieren, seien auf das oben genannte Werk verwiesen.

Kaninchen 9 D. Wiederholte Injektion intakter abgetöteter Tuberkelbazillen (Emulsion 0,1 g auf 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung; erst subkutan, dann intravenös).



Kurve 9.



Kaninchen 12 D. Wiederholte subkutane Injektion intakter abgetöteter Tuberkelbazillen (Emulsion 0,1 g auf 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung), danach intravenöse Injektion zerriebener Tuberkelbazillen (Bazillenenmulsion Höchst).

Kurve 10.

langen, welche an Aufschließbarkeit den zerriebenen Tuberkelbazillen näher stehen als dem Alttuberkulin. Der Schluß ist darum berechtigt, weil es wohl mit zerriebenen Tuberkelbazillen, nicht aber mit Alttuberkulin gelingt, eine typische Tuberkulinempfindlichkeit zu erzeugen.

4) Durch diese Versuche erhält die von mir vertretene Anschauung, daß Tuberkulin körperfremde Eiweißsubstanz (Endotoxin) sei, welche dem von mir proklamierten Grundgesetz der Immunität folgt (Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, 1904), daß die wiederholte Injektion einer jeden körperfremden Eiweißsubstanz zur Ueberempfindlichkeit führt, eine weitere Bestätigung. Und damit wird meine lytische Theorie der Tuberkulinwirkung weiter gestützt, so daß die Klinik wohl berechtigt ist, sie für ihre diagnostischen und therapeutischen Ueberlegungen heranzuziehen.

Die große Mehrzahl der Autoren, ja man kann sagen, sämtliche Forscher, die auf diesem Gebiet gearbeitet haben, sind sich darin einig, daß eine Tuberkuloseimmunität oder, wie es nach meiner Auffassung richtiger bezeichnet wird, eine Erhöhung der Resistenz nur durch lebende (in der Praxis meist artfremde, Bovovakzination) oder abgeschwächte Tuberkelbazillen zu erzielen ist. Wie die oben mitgeteilten Versuche ergaben, ist dies nicht zutreffend, ebensowenig wie es richtig ist, daß man die Tuberkelbazillen entfetten usw. muß (cf. z. B. A r o n s o n, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 35), um sie in Reaktionskontakt mit dem Körper und so zur Auslösung der Antikörperproduktion zu bringen. Es gelingt, die „Immunisierung gegen Tuberkulose“, d. h. die Antikörperproduktion mit totem, chemisch nicht verändertem Tuberkelbazillenmaterial herbeizuführen.

Wenn Ruppel in seinen Untersuchungen gefunden hat, daß man den höchsten Grad von Immunität erzielt, wenn man artfremde Tuberkelbazillen injiziert und die hierbei entstehende Tuberkulinempfindlichkeit durch wiederholte Tuberkulininjektionen wieder aufschiebt, sie dann durch eine erneute Injektion

lebender artfremder Tuberkelbazillen wiederherstellt, so wird die praktische Bedeutung dieser Befunde durch unsere Versuche nicht tangiert. Bei ihnen handelt es sich nur um die Frage, ob Tuberkulin beim gesunden, nicht Tuberkulose infizierten Tier antigene Eigenschaften hat, und wir glauben, daß diese wichtige prinzipielle Frage durch unsere Versuche im positiven Sinne entschieden worden ist.

Inzwischen ist eine Arbeit von Seligmann und Klopstock (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, S. 467) erschienen, welche sich mit den antigenen Eigenschaften des Tuberkulins befaßt. Nach ihnen gelingt es, tuberkulosefreie Meerschweinchen mit Alttuberkulin zu sensibilisieren, so daß sie bei intravenöser Injektion charakteristischen analytischen Schock mit Temperatursturz, Aufflammen alter kutaner Impfstellen nach subkutaner Tuberkulininjektion und gelegentliches Auftreten ödematöser Infiltrationen (Arthussches Phänomen) beobachteten.

Mit den Angaben der Literatur, die allerdings vielfach einer Kritik nicht standhalten, befinden sie sich mehrfach im Widerspruch.

Daß mit Tuberkulineiweiß eine Sensibilisierung möglich ist, wird nach ihnen von keiner Seite bestritten. So einfach liegen die Dinge doch nicht, denn wenn diese Anschauung zuträfe, wäre die Frage der antigenen Natur der Tuberkuline gelöst; man brauchte nicht über die anaphylaktische Natur der Tuberkulinreaktion zu diskutieren, da es nicht nötig ist, zur Prüfung der antigenen Natur des Tuberkulins ausgerechnet ein stundenlang durch Kochen denaturiertes Präparat wie das Alttuberkulin auszusuchen.

Zusammenfassung.

1) Die lytische Theorie der Tuberkulinwirkung betrachtet diese als Sonderfall der Albuminolyse und macht die von R. Pfeiffer für Cholera- und Typhusbazillen entdeckte Bakteriolyse für die Resorption des Eiweißes überhaupt im Tierkörper anwendbar und macht dieses Phänomen zur Grundlage für alle bei den Abwehr-, Immunitäts- und Krankheitserscheinungen bei der Infektion und Eiweißresorption sich abspielende Vorgänge.

2) Zwischen der Friedbergerschen Auffassung, nach welcher das Ueberempfindlichkeitsgift unter Komplementverbrauch abgespalten wird, und der meinen besteht kein prinzipieller Unterschied, da mir Lyse, Verdauung und Abbau nur Synonyma für den gleichen Vorgang sind. Der Unterschied beginnt erst bei der Friedbergerschen Auffassung von der Einheitlichkeit der Anaphylaxiegifte, welche gerade durch die Eigenschaften des Tuberkulins meiner Ansicht nach erschüttert wird.

3) Die von mir aufgestellte Theorie der Einheitlichkeit sämtlicher Tuberkuline und die daraus folgernde unitaristische Auffassung der Tuberkulinwirkung ist durch alle weiteren Versuche bestätigt worden, und die dagegen erhobenen Einwände haben nicht aufrecht erhalten werden können. Besonders wertvoll zum Nachweis der einheitlichen Natur der verschiedenen Tuberkulinpräparate hat sich die Titerstellung mit Hilfe intrakutaner Stichreaktionen erwiesen, wie ich sie seit 1908 anwende.

4) Zwischen Antitoxinen und Antikörpern vom Charakter der Ambozeptoren bestehen prinzipielle Differenzen, weil bei den Antitoxinen die abgestoßenen Rezeptoren als neutralisierende, die Ambozeptoren als aufschließende Stoffe wirken. Die Ursprungskörper der Antitoxine und der Ambozeptoren aber, das sind die noch an der Zelle sitzenden Rezeptoren, üben gegenüber Toxinen und Endotoxinen die gleiche Wirkung aus, da sie eine Bindung der Gifte herbeiführen. Während so die humoralen Phänomene im Gegensatz zueinander stehen, gleichen sich die zellulären.

5) Versuche, festzustellen, ob sich im immunisierten Tier oder im tuberkulösen Menschen der verschiedenen Stadien mit und ohne Tuberkulinbehandlung, im Serum oder in roten Blutkörperchen, im Ochsen Serum und Ochsenerythrozyten, Stoffe finden, welche Tuberkulin neutralisieren, haben ein vollkommen negatives Ergebnis gehabt.

6) Aus den Friedbergerschen Versuchen geht hervor, daß bei Behandlung getrockneter Tuberkelbazillen mit aktivem Meerschweinchenserum ein Gift zu gewinnen ist, das auf tuberkulöse Meerschweinchen anders wirkt als auf gesunde.

Dies spricht dafür, daß er bei seinen Anaphylaxieversuchen doch eine tuberkulinähnliche Substanz abgespalten habe, und daß das Anaphylatoxin doch keine einheitliche Substanz ist. Die Differenz in den Ergebnissen von Friedberger und Ruppel, von denen der erstere durch Ambozeptorenzufuhr die Tiere sensibilisiert, während sie nach Ruppel unempfindlich werden, bedarf im Interesse der weiteren Forschung dringend der Aufklärung. Wir müssen dazu bemerken, daß wir bei der Benutzung der intrakutanen Injektion als Indikator niemals eine Abschwächung des Giftwertes des Tuberkulins beobachtet haben.

7) Friedberger hat unter Benutzung der Temperatur und des Gewichts als Indikator Versuche über die passive Uebertragung der Ueberempfindlichkeit angestellt. Unsere Versuche mit verschiedensten Substanzen ergeben, daß Temperaturerhöhungen und Temperaturabfall bei Erst- und Reinjektion beim Meerschweinchen die Folge so zahlreicher Eingriffe sind, und die Einverleibung heterogener Substanzen begleiten, daß Schlußfolgerungen über passive Uebertragung der Ueberempfindlichkeit uns nicht berechtigt erscheinen.

8) Es ist bekannt, daß eine Reihe von Forschern, und zwar neuerdings in zunehmender Zahl, auf dem Standpunkt stehen, daß die „Tuberkulinreaktion keine anaphylaktische“ ist. Ihr Hauptbeweis besteht darin, daß Tuberkulin kein Antigen ist, daß man also beim gesunden Tier durch Behandlung mit Tuberkulinen keine Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulin erzeugt. In unseren Versuchen ist es uns durch geeignete Vorbehandlung von Kaninchen gelungen, durch Tuberkulinpräparate (allerdings nicht durch Alttuberkulin) typische Tuberkulinempfindlichkeit zu erzeugen. Neben dieser typischen Giftempfindlichkeit konnte ohne lebende Tuberkelbazillen auch das typische pathologisch-anatomische Bild der miliaren Tuberkulose experimentell erzeugt werden. Der Einordnung der Tuberkulinreaktionen unter die anaphylaktischen, was sich im didaktischen und erkenntnistheoretischen Interesse als so dringend notwendig erweist, stehen also keinerlei prinzipielle Bedenken mehr entgegen.

Literatur.

- Foth, Zeitschr. f. Tiermedizin, Bd. 12, Heft 5 u. 6.
Kraus und Volk, Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 11.
Much, Ergebn. der Hygiene usw. von Weichardt, Bd. 2, 1917.
Hamburger, Schick und Novotny, Brauers Beitr., Bd. 12.
Mantoux, Presse médicale, 1910, No. 2 u. 46.
— Compt. rend. de la Soc. de Biol., 1908, 14. Sept.
Amrein, Schweizer Korrespondenzbl., 1915, No. 2.
Prudden, New York med. Journal, 1891.
Ellermann und Erlandsen, Brauers Beitr., Bd. 16, p. 1.
Marie et Tifféaneau, Soc. de Biol., 1908, No. 4.
E. Friedberger, Dtsch. med. Wochenschr., 1917, No. 2.
— Fortschr. der deutschen Klinik, 2. Einbd., p. 694.
— Centralbl. f. Bakt., Abt. Ref., Bd. 50, 1912, p. 44.
— Verhandl. des Kongr. f. innere Med., 1913.
Deycke und Much, Med. Klinik, 1908, No. 40.
Löwenstein, Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 15, Heft 4/5.
Schröder, Brauers Beitr., Bd. 14, Heft 4.
Wolff-Eisner, Frühdiagnose und Tuberkuloseimmunität, Würzburg 1909.
— Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte, Königsberg 1910
(Hauptsitzung).
Paul H. Römer, Spezifische Ueberempfindlichkeit und tuberkulose Im-
munität. Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose, Bd. 11, 1908, H. 2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

Weitere Beiträge zur experimentellen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens.Von **E. Friedberger** und **F. Schiff**.

Mit 7 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. April 1922.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ zur Fleckfieberätiologie haben wir neue Tierversuche über Beziehungen zwischen X 19-Bazillen und dem Fleckfiebertivirus mitgeteilt.

Die Versuche über experimentelle Fleckfieberinfektion sind in dieser Richtung und auch von anderen Gesichtspunkten aus seitdem im großen Umfang, soweit es die Tierknappheit und die hohen Preise für Meerschweinchen und Kaninchen zuließen, in verschiedenen Richtungen fortgesetzt worden. Es sei das Wichtigste daraus kurz angeführt, da uns der Tiermangel und andere äußere Gründe zwingen, unsere Versuche zurzeit zu unterbrechen.

I. Allgemeines über das Meerschweinchenfleckfiebertivirus.

Es handelt sich bei uns um über 500 Versuche an Meerschweinchen, in denen wir das von Weil und Felix überlassene Virus anstandslos weiter züchten konnten²⁾. Das Virus hat dabei keinerlei Veränderung seines Charakters erfahren. Es ist, abgesehen von Temperatursteigerungen, niemals zu ausgesprochenen Krankheitssymptomen bei den Tieren gekommen. Es hat also keine erhebliche Virulenzsteigerung statt-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 13.

2) Wir entbluteten die Meerschweinchen in der Regel am 10. Tag. Die Haut über dem Schädel wird vollkommen abpräpariert, die Schädelkapsel unter aseptischen Kautelen mittels eines Trepanns geöffnet, dann mit einer Kornzange abgebrochen und das Gehirn steril herausgenommen. Die eine Hemisphäre wird in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung in sterilem Mörser unter möglicher Ausschaltung von Luftinfektion aufs feinste emulgiert, indem die Kochsalzlösung allmählich zugesetzt wird. Injektionsdosis 1 ccm intraperitoneal.

gefunden; aber auch eine Abnahme der Virulenz, die im Versagen einzelner Infektionen zum Ausdruck hätte kommen müssen, war nicht zu bemerken. Es gelang uns, in den späteren Reihen häufiger, als in unseren früheren Versuchen, wenn auch nicht in allen Fällen ein ausgesprochen typisches Fieber zu erzielen, was vielleicht im Sinne einer geringen Virulenzsteigerung und Anpassung an unsere Meerschweinchen zu deuten wäre.

Wir haben ferner etwa 150 Versuche an Kaninchen angestellt, von denen über 80 zur eindeutigen Sicherung des positiven Impferfolges mit dem Gehirn der Meerschweinchen geimpft wurden, weil das nach unseren Erfahrungen und in völliger Uebereinstimmung mit Weil und Felix im Gegensatz zu Ruß und Kirschner¹⁾ das sicherste Kriterium für eine erfolgte Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens ist.

Tatsächlich haben wir in keinem Fall bei einmaliger Virusverimpfung (Gehirnemulsion) in die Ohrvene von Kaninchen ein Ausbleiben der Agglutininbildung gesehen, wenn die Ueberimpfung zur optimalen Zeit (etwa am 10. Tag) der Meerschweincheninfektion *lege artis* ausgeführt worden war.

Wir haben stets mit einem feinflockenden (O-)Stamm von X 19 geprüft. In jedem Fall wurde vorher das normale Kaninchenserum ausgewertet. Niemals hatte es Titer von über 1:10, während durch die einmalige Vorbehandlung in jedem Fall eine deutliche Steigerung des Agglutinationsindex zu erzielen war. In gar nicht seltenen Fällen wurden Titerhöhen bis zu 100, ja selbst einige Male bis zu 1000 bei makroskopischer Betrachtung erreicht.

Es ist also eine vollkommene Bestätigung der Angaben von Weil und Felix, was wir gegenüber Einwendungen gelegentlich der Diskussion zu unserem Vortrage²⁾ noch einmal ausdrücklich hervorheben möchten.

Ueber die völlige Identität dieser feinflockenden (Weil-) Agglutinine mit den durch den O-Bazillus erzeugten feinflockenden Agglutininen und denen von Fleckfieberpatienten

1) Ruß und Kirschner, Zeitschr. f. Hyg., 1921, Bd. 92, S. 38.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 49, S. 1442.

sei auf die aus unserem Institut hervorgegangene genaueren Analysen von Büchner und Zorn ¹⁾, Friedberger, Zorn und Meißner ²⁾ verwiesen.

Die Gehirne wurden weiterhin, anfangs in dankenswerter Weise, durch den Direktor der Greifswalder psychiatrischen Klinik, Herrn Professor Schröder, später bei dem Anwachsen des Materials in unserem Institut auf das Vorkommen von Knötchen untersucht.

Es ergab sich, daß bis zu den letzten Passagen hin die Knötchen stets vorhanden waren und gleichfalls im Sinne von Otto als ein wertvolles Kriterium für die gelungene Infektion zu betrachten sind. Auch hier ist die Zeit der Verarbeitung des Gehirns wesentlich. In der ersten Zeit der Infektion fehlen sie auch bei typischem Verlauf, vom 12. Tage an sind sie so gut wie regelmäßig reichlich vorhanden.

II. Uebertragung des Virus auf andere Tierarten.

Wir haben wirksames Passagengehirn des Meerschweinchens auf Tauben, Hühner und Mäuse übertragen und mittels der Temperaturmessung, der Immunisierung des Kaninchens, sowie histologisch das Angehen der Infektion geprüft.

Es ergab sich in den Versuchen mit 8 Hühnern und 2 Tauben kein Anhalt für eine Uebertragung des Virus auf diese Tierarten. Die Hühner behielten normale Körpertemperatur. Sie hatten fast alle im Serum Normalagglutinine für Weil-Felix, die recht beträchtliche Höhen bis 1:50 (2mal unter 8 Tieren) erreichten. Nur bei einem von den 8 Tieren war der Titer 1:5 negativ. Eine Steigerung durch die Behandlung mit Meerschweinchenvirusgehirn ist aber in keinem Fall bei über 3 Wochen langer Beobachtung und Blutentnahme in mehrtägigen Intervallen zu verzeichnen gewesen.

Die Tauben hatten keinen Normaltiter. Ihre Körpertemperatur blieb konstant; bei der einen trat nach 8 Tagen eine deutliche Agglutininbildung auf; bei der anderen war nur

1) Büchner und Zorn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, S. 115, 1922.

2) Friedberger, Zorn und Meißner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 34, S. 259, 1922.

vorübergehend einmal eine geringe Titersteigerung zu beobachten, die aber dann wieder vollkommen verschwand.

Es würde also weiterhin zu prüfen sein, ob nicht auf Tauben doch eine positive Uebertragung, gemessen an der Agglutininbildung, möglich wäre.

Untersuchungen an Mäusen wurden in 6 Fällen vorgenommen. Die Tiere wurden mit Meerschweinchenvirus geimpft. Ein Normaltiter für X 19 bestand nicht. Bis zum 11. Tag nach der Infektion waren auch keinerlei Symptome vorhanden. Die Gehirne wurden Ende der zweiten Woche (vom 11. Tag an) zur histologischen Untersuchung eingelegt. Ferner wurden die Gehirne zweier Mäuse am 11. Tag auf Meerschweinchen überimpft. Deren Gehirn wurde am 10. Tag nach der Infektion auf Kaninchen weiter übertragen. Es trat keine Agglutininbildung ein. (Beobachtung der Kaninchen fortlaufend 3 Wochen hindurch.)

Also auch für die Möglichkeit einer Infektion der Maus mit Fleckfiebertivirus ergaben unsere Versuche keinen Anhalt.

III. Versuche über verschiedene Infektionsmodi.

Impfung von Virus in die Cornea beim Meerschweinchen und Kaninchen.

Bei einer Reihe von Infektionskrankheiten mit filtrierbaren Virusarten (Pocken, Lyssa, Encephalitis lethargica, Herpes febrilis usw.) gelingt die Infektion empfänglicher Tiere auch von der Cornea aus. Wir haben deshalb auch mit dem Fleckfiebertivirus entsprechende Impfungen vorgenommen.

4 Kaninchen, No. 118—121, erhielten nach Skarifikation in die Cornea des einen Auges reichlich Fleckfiebertivirus eingegeben. Es trat innerhalb von 6 Wochen keinerlei Veränderung an der Cornea auf. Nun wäre es immerhin möglich gewesen, daß das Virus, ohne lokale Veränderungen zu setzen, in den Körper eingedrungen wäre. Es war aber auch keine Agglutininbildung nachzuweisen.

Nach den Untersuchungen von Weil tritt eine Titersteigerung nur nach der erstmaligen Injektion mit Meerschweinchenvirus beim Kaninchen auf. Waren unsere Tiere tatsächlich in keiner Weise infiziert, so müßte eine zweite

Einspritzung des Virus jetzt eine deutliche Titersteigerung bedingen. Die corneal infizierten Kaninchen wurden dementsprechend 40 Tage nach der cornealen Impfung intravenös mit Virus gespritzt. Sie zeigten 10 Tage später Titer von 10, 50, 250 und 1000.

Aus diesen Versuchen dürfen wir wohl schließen, daß beim Kaninchen, obwohl es für Fleckfiebertvirus nach den vorliegenden Untersuchungen empfänglich ist, eine Infektion von der Cornea aus nicht möglich ist. Vielleicht gelingt es aber beim Meerschweinchen, dem Tiere der Wahl für Fleckfieberversuche?

Es wurden 12 Meerschweinchen corneal geimpft, ohne daß in den Hornhäuten bei längerer Beobachtung irgendwelche Veränderungen zu konstatieren waren. Aus äußeren Gründen konnte nur bei zwei Tieren die Temperatur verfolgt und das Gehirn nach 4 Wochen auf Kaninchen weitergeimpft werden. Eine typische Temperatursteigerung trat nicht ein. 4 Wochen nach der cornealen Impfung (da wir bei diesem Infektionsmodus vielleicht eine längere Inkubation erwarten durften), wurden die Meerschweinchen entblutet und ihre Gehirne auf je zwei Kaninchen überimpft. Bei keinem der vier Tiere trat eine Agglutininbildung ein.

Also auch beim corneal geimpften Meerschweinchen läßt sich ebenso wenig wie beim Kaninchen ein Haften der Infektion nachweisen, im Gegensatz zur Möglichkeit der Infektion von der Cornea aus bei den vorerwähnten Erregern. Die Versuche lassen, wenn sie sich weiterhin bestätigen sollten, doch gewisse Schlüsse auf die Natur des Fleckfiebererregers zu.

Impfung des Virus in die Planta pedis beim Meerschweinchen.

Waldmann¹⁾ ist es in schönen Versuchen gelungen, zum erstenmal das Virus der Maul- und Klauenseuche regelmäßig auf das bisher als refraktär betrachtete Meerschweinchen dadurch zu übertragen, daß er die Impfung abweichend von dem bisherigen Vorgehen in die Planta pedis der Hinterläufe vorgenommen hat. Man sieht daraus wieder, wie wesentlich für das Gelingen einer künstlichen Infektion, abgesehen von

1) Berl. tierärztl. Wochenschr., 1920, No. 44.

der „Virulenz“, der „Diaposition“ und anderen Momenten, doch unter Umständen auch der Ort ist, an dem das Virus appliziert wird. Man darf also allgemein aus negativen Versuchen noch keineswegs auf eine Unempfänglichkeit der betreffenden Tierspezies schließen.

Wir dachten nun auf ähnliche Weise, wie es Waldman bei der Maul- und Klauenseuche gelungen war, beim Meerschweinchen vielleicht ein typisches Krankheitsbild des Fleckfiebers, vor allen Dingen auf Haut und Schleimhäuten, zu erzielen. Wir impften Meerschweinchen mit Virusgehirnemulsion in die oberflächlich skarifizierte Planta pedis. Es erfolgte reaktionslose Heilung der Wunde ohne irgendwelche Symptome.

Inhalation von Virus beim Meerschweinchen.

In der älteren Literatur findet man häufig die Anschauung vertreten, daß die Ansteckung beim Fleckfieber durch Einatmung erfolge. Später hat unter dem Einfluß der Läuse-theorie diese Anschauung ihre Bedeutung verloren. Es schien uns aber im Rahmen unserer Infektionsversuche doch wichtig, auch diesen Infektionsmodus zu prüfen.

Drei Meerschweinchen wurden in einem Glaskasten der Inhalation von je 2 ccm fein verteilter Meerschweinchenvirus-emulsion ausgesetzt. Das erste Tier wurde nach 10 Tagen getötet, sein Gehirn auf ein Kaninchen weiter geimpft. Dieses Tier bildete keine Agglutinine.

Die beiden anderen wurden am 15. bzw. 20. Tage getötet und die Gehirne histologisch untersucht. Befund negativ.

Bei diesen Tieren wurde auch das Leukozytenbild fortlaufend geprüft (siehe weiter unten). Auch auf diese Weise ergaben sich keine Anzeichen von gelungener Infektion. Ebenso gaben die Temperaturmessungen ein negatives Resultat.

Wir wollen aus diesen negativen Versuchen keine Schlüsse ziehen und nicht behaupten, daß unter Umständen nicht auch auf einem oder dem anderen angegebenen Weg eine Infektion mit Virus möglich wäre. Jedenfalls zeigen diese Versuche aber angesichts des regelmäßigen Angehens des Virus bei intraperitonealer Infektion, daß einstweilen doch diese Methode in der experimentellen Fleckfieberforschung unbedingten Vorzug verdient. Allerdings könnte man noch einwenden,

daß die negativen Erfolge nicht an der Wahl des Infektionsortes, sondern an der geringen Dosis liegen, die zum Teil an den sonst gewählten Stellen applizierbar ist.

Indessen haben die Versuche von Landsteiner und Hausmann¹⁾, von Doerr und Schnabel²⁾, sowie neuerdings von Weil, Breinl und Gruschka³⁾ doch andererseits wieder gezeigt, wie gering die zur Infektion nötigen Mengen sein können. Wenn wir uns vergegenwärtigen, wie minimale Mengen bei den vorerwähnten anderen Virusarten zum positiven Erfolg genügten, so gelangen wir doch auch danach wieder zu der Anschauung, daß eben die Infektion mit Fleckfieber an den betreffenden Stellen kaum haftet.

IV. Ueber das Blutbild beim fleckfieberinfizierten Meerschweinchen.

Bisher haben wir folgende Kriterien zur Diagnose der Fleckfieberinfektion beim Meerschweinchen:

1) das Fieber, das nach den Untersuchungen aller Autoren nicht regelmäßig und, wie ja ohne weiteres verständlich, allein kein sicheres Kriterium ist;

2) haben wir die Immunität, die aber auch meist durch Temperaturmessung festgestellt wurde, wodurch sie wieder ein unsicheres Merkmal ist;

3) die Knötchenbildung im Gehirn vom Meerschweinchen, wie sie zuerst von Otto beschrieben worden ist. Sie scheint, sofern man nicht zu früh untersucht, regelmäßig vorhanden zu sein. Endlich haben wir

4) die Agglutinationsbildung beim Kaninchen (Weil und Felix) durch Virusgehirn, die ein sicheres Symptom darstellt.

Die sicheren Kriterien, das Auftreten der Knötchen und die Agglutininbildung durch Virusgehirn erfordern, daß man die Tiere tötet. Dadurch wird natürlich das Experimentieren mit Fleckfieber sehr erschwert, bzw. benötigt es ein sehr großes Tiermaterial, um so mehr, als die optimale Zeit für die Verimpfung auf Kaninchen zur Agglutininbildung (10 Tage) und

1) Landsteiner und Hausmann, Med. Klinik, 1918, No. 21, S. 515.

2) Doerr und Schnabel, Wiener klin. Wochenschr., 1919, No. 20.

3) Weil, Breinl und Gruschka, Wiener klin. Wochenschr., 1921, No. 38.

für die Knötchen (vom 12. Tag an) nicht zeitlich zusammenfallen.

Nun besteht bekanntlich beim Menschen ein gewisses typisches Blutbild beim Fleckfieber, das charakterisiert ist durch die Arnethsche Verschiebung der Leukozyten nach links, Hyp- oder Aneosinophilie während der ganzen Fieberperiode vom 2. oder 3. Fiebertag ab und Auftreten zahlreicher großer einkerniger Zellen (typische und „atypische“ große Mononukleäre, Türcksche Reizungsformen, große Lymphozyten).

Das reichliche, ja massenhafte Auftreten dieser Zellen am Ende der Fieberperiode und zu Anfang der Rekonvaleszenz ist typisch für Fleckfieber, sowie auch für einzelne andere exanthematische Krankheiten, insbesondere Pocken („Buntes Blutbild“ nach V. Schilling).

Auf Grund systematischer Untersuchungen zahlreicher Fleckfieberkranker haben Schilling¹⁾ sowie Schiff²⁾ darauf hingewiesen, daß den Veränderungen des weißen Blutbildes beim Fleckfieber eine erhebliche diagnostische Bedeutung zukommt. Für Fleckfieber pathognomonische Blutveränderungen gibt es allerdings nicht, auch ist es nicht möglich, die Diagnose einfach aus einem an einem beliebigen Krankheits-tag angefertigten Blutpräparat allein zu stellen.

Es ergeben sich aber, wenn die Veränderungen des Blutes fortlaufend untersucht werden, wichtige differential diagnostische Anhaltspunkte, die dann besonders wertvoll sind, wenn die Fieberkurve uncharakteristisch und das Exanthem noch nicht vorhanden oder nicht typisch ist.

Bis zum Ende der ersten Krankheitswoche ist das Wesentliche die schon erwähnte, von Tag zu Tag zunehmende Arnethsche Verschiebung nach links, d. h. das Auftreten unsegmentierter neutrophiler Leukozyten. In der 2. Woche fällt die Kurve der unsegmentierten Leukozyten außer bei letalem Verlauf allmählich wieder ab. Gleichzeitig werden die Neutrophilen überhaupt prozentual an Zahl geringer; die einkernigen Zellen überwiegen. Es bildet sich bis zum Ende der 2. Woche das schon erwähnte bunte Blutbild heraus.

1) V. Schilling, Münch. med. Wochenschr., Bd. 64, S. 724, 1917.

2) Schiff, Deutsche med. Wochenschr., 1917, S. 1193 u. 1229.

Die Zahl der großen Mononukleären kann hierbei nach Coca auf 11 Proz., nach den Beobachtungen von Schiff sogar auf 30 Proz. gesteigert sein [vgl. dagegen Elkeles¹⁾]. Gegenüber diesen Veränderungen des weißen Blutbildes treten die in der Regel auch vorhandenen Schwankungen in der Gesamtzahl der Leukozyten an diagnostischer Bedeutung zurück. Nach den Angaben in der Literatur und nach eigenen Beobachtungen kann beim Fleckfieberpatienten je nach Krankheitsstadium und im Einzelfall sowohl eine starke Leukopenie, die normale Zahl der Leukozyten oder eine Vermehrung der Leukozyten vorhanden sein.

Auf Grund des Blutbildes allein läßt sich beim Menschen die Diagnose Fleckfieber nicht stellen, sondern nur der Verdacht äußern. Jedenfalls sind aber die Veränderungen gegenüber der Norm so stark, daß eine während der Krankheit fortlaufend entnommene Serie von Blutpräparaten ohne weiteres erkennen läßt, daß eine schwere Infektion und Verdacht auf Fleckfieber vorliegt.

Es schien deshalb von vornherein nicht aussichtslos, die Veränderungen des weißen Blutbildes beim fleckfieberinfizierten Meerschweinchen fortlaufend mit Rücksicht darauf zu untersuchen, ob sie als diagnostisches Kriterium verwertet werden können. Das Problem liegt hier in gewisser Hinsicht einfacher als beim Menschen. Bei diesem handelt es sich darum, auf Grund des Blutbildes eine Fleckfieberinfektion von anderen Infektionen mit ähnlichem Fieverlauf (Typhus, Sepsis usw.) abzugrenzen. Bei der künstlichen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens dagegen, wo derartige differentialdiagnostische Momente kaum in Frage kommen, gewinnt das Blutbild eine weit höhere diagnostische Bedeutung. Wäre es charakteristisch, so wäre das methodologisch ein großer Fortschritt und eine wesentliche Erleichterung des Experiments, da das Blutbild schon frühzeitig beim lebenden Tiere ein Kriterium für den positiven Erfolg der Impfung liefern könnte. Es bliebe dann noch immer die Möglichkeit, nachher durch das anatomische Präparat und den Kaninchenversuch die Diagnose zu stützen.

1) Elkeles, Centralbl. f. Bakt., I (Orig.), Bd. 79, 1917, S. 275.

Wir haben nun beim fleckfieberinfizierten Meerschweinchen vor der Infektion und dann fortlaufend, zum Teil täglich, zum Teil in 1—2tägigen Intervallen, Blut entnommen, Ausstriche auf Objektträger angefertigt und nach Fixierung in Methylalkohol mit Giemsalösung gefärbt.

Bei den Untersuchungen von bisher 20 Tieren hat sich ergeben, daß am 10. Tage nach der Infektion regelmäßig die Zahl der Monozyten gegenüber der Zeit vor der Infektion ganz erheblich gestiegen ist. Bei unseren unbehandelten gesunden Meerschweinchen schwankten die Monozytenwerte rund zwischen 5 und 10 Proz. Am 10. Tage nach der Infektion sahen wir dagegen Monozytenzahlen zwischen 20 und 44 Proz. Der Anstieg der Monozyten erfolgte fast sprunghaft, z. B. am 8. Tage 6 Proz. (noch normal), am 10. Tage 26 Proz., am 11. Tage 35 Proz., oder: am 8. Tage 12 Proz., am 10. Tage 44 Proz., oder: am 8. Tage 9 Proz., am 9. Tage 25 Proz., am 10. Tage 27 Proz.

Wir lassen im nachstehenden einige Beispiele protokollarisch folgen:

Differentialzählung der Leukozyten bei mit Fleckfiebertivirus infizierten Meerschweinchen.

Die Zahlen bedeuten Prozente. Ausgezählt wurden in der Regel je 100 Leukozyten.

Meerschweinchen No. 488	Tage nach der Infektion													
	0	3	8	10	11	14	15	16	17	18	19	21	22	24
Basophile	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	1	1	—	2	2	—	1	2	—	2	1	1	1	—
Neutrophile	62	47	65	39	28	55	54	45	41	55	54	59	67	66
Lymphozyten	27	39	14	9	16	15	12	23	32	20	24	22	18	28
Große Mononukleäre ¹⁾	10	13	12	50	50	30	32	30	27	23	21	23	14	6

Meerschweinchen No. 491	Tage nach der Infektion							
	0	4	5	6	7	8	9	10
Basophile	—	—	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	1	1	2	1	—	2	—	2
Neutrophile	62	47	51	44	65	74	58	50
Lymphozyten	28	42	40	43	26	15	16	20
Große Mononukleäre	9	10	7	12	9	9	26	29

1) Einschließlich „atypische“ große Mononukleäre und Reizungsformen.

Meerschweinchen No. 492	Tage nach der Infektion											
	0	4	6	7	8	9	10	11	12	14	16	17
Basophile	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	1	1	1	2	—	—	1	—	1	—	—	—
Neutrophile	52	44	45	44	53	40	24	24	40	29	60	64
Lymphozyten	36	41	46	44	37	34	52	36	31	22	12	19
Große Mononukleäre	11	14	8	10	10	26	24	40	28	49	28	17

Meerschweinchen No. 494	Tage nach der Infektion									
	0	0	3	4	5	6	7	8	9	10
Basophile	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—
Eosinophile	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—
Neutrophile	82	57	61	55	49	47	77	66	67	60
Lymphozyten	11	31	24	34	47	39	16	25	17	17
Große Mononukleäre	7	12	13	10	2	19	7	9	16	23 entblutet

Meerschweinchen No. 503	Tage nach der Infektion							
	0	2	3	5	6	7	8	10
Basophile	—	—	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	2	7	4	3	5	—	—	2
Neutrophile	44	46	51	62	45	66	33	45
Lymphozyten	42	35	34	25	39	22	41	27
Große Mononukleäre	12	11	11	11	12	12	27	26

Meerschweinchen No. 504	Tage nach der Infektion					
	0	5	6	8	10	11
Basophile	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	3	1	6	2	1	1
Neutrophile	67	69	67	61	46	63
Lymphozyten	22	22	15	23	13	14
Große Mononukleäre	8	9	12	14	40	22

Meerschweinchen No. 489	Tage nach der Infektion													
	0	3	8	10	11	14	15	16	17	19	20	21	22	23
Basophile	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	—	—	—	—	—	—	—	1	2	2	—	—	—	—
Neutrophile	72	68	68	49	48	36	53	43	51	54	—	70	—	—
Lymphozyten	19	17	18	23	20	27	28	21	34	23	—	21	—	—
Große Mononukleäre	9	15	14	28	32	47	19	35	13	21	—	9	—	—

Aus den Tabellen sieht man ohne weiteres das regelmäßige Ansteigen der Monozytenwerte um den 10. Tag. Das Verhalten der Neutrophilen und der Lymphozyten läßt dagegen eine Gesetzmäßigkeit nicht erkennen.

Bei der Vergleichung der Werte ist zu berücksichtigen, daß jeweils nur 100 Leukozyten ausgezählt wurden. Bei Durchmusterung einer größeren Anzahl hätten sich mitunter vielleicht etwas geringere Schwankungen ergeben.

Die Prozentzahl der Eosinophilen wird durch die Infektion anscheinend nicht beeinflusst. In der relativen Häufigkeit der Eosinophilen sind zwischen den einzelnen Tieren Unterschiede vorhanden, die während der Infektion bestehen bleiben. Nachweisbar blieben die Eosinophilen stets, auch dann, wenn sie unter den 100 ausgezählten Zellen noch nicht zu verzeichnen waren.

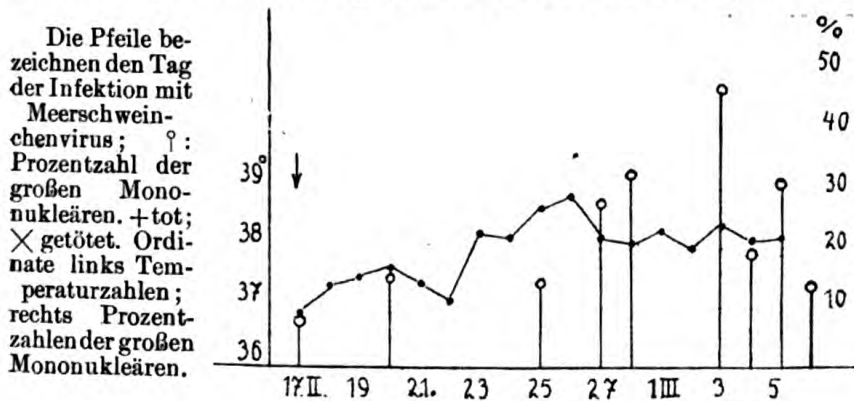
Im folgenden geben wir noch eine Uebersichtstabelle über die Prozentzahl der großen Mononukleären an den einzelnen Krankheitstagen.

Aufgeführt sind die Mittelwerte, die höchsten und niedrigsten Werte und die Zahl der Tiere, die für die einzelnen Krankheitstage jeweils zur Verfügung stand.

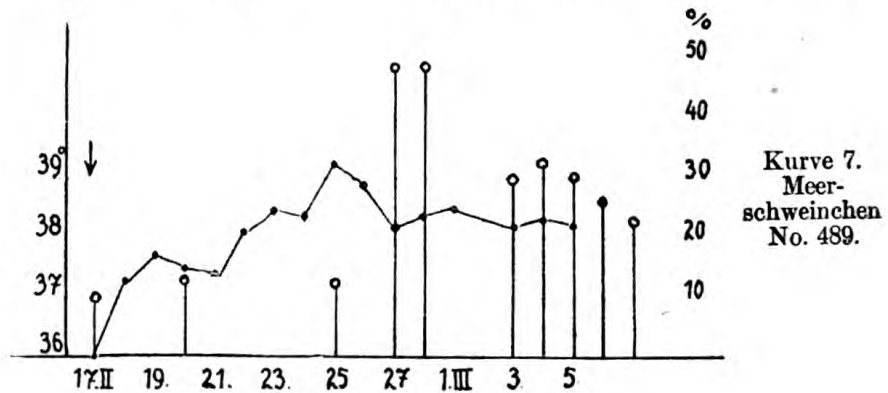
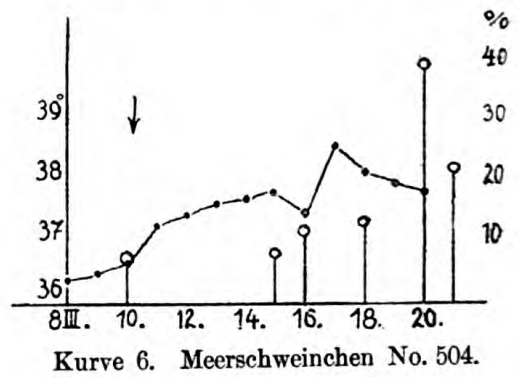
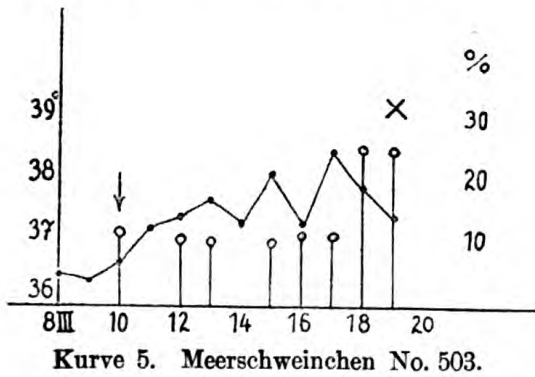
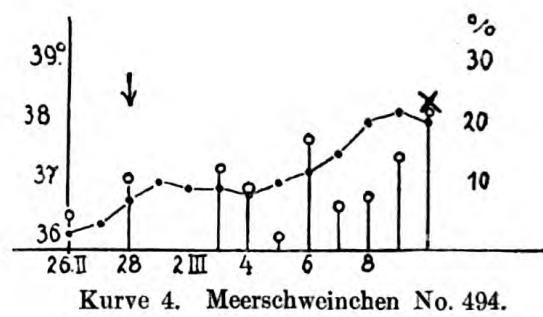
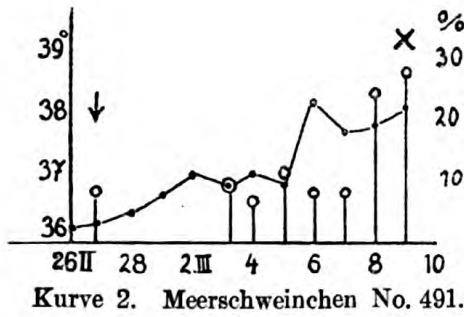
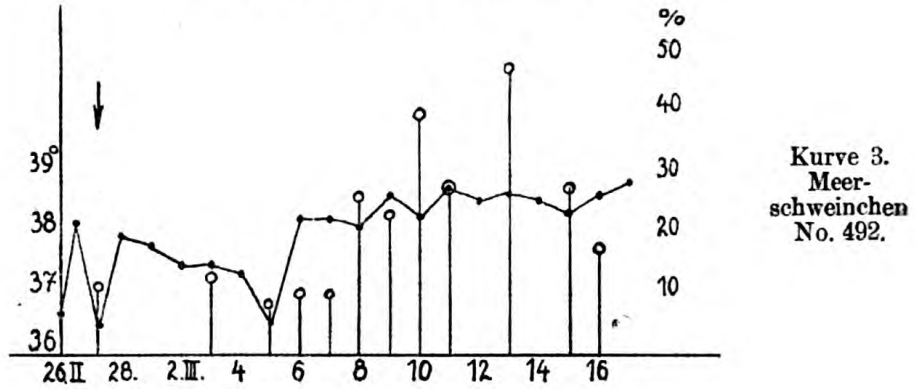
Prozentzahl der großen Mononukleären zu verschiedenen Tagen nach der Infektion.

	Tage nach der Infektion																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Mittelwert	10	—	10	11	7	12	10	13	23	34	36	—	—	40	—	31	19
Höchster Wert	12	—	13	14	11	14	14	27	33	50	50	—	—	49	—	35	27
Niedrigster Wert	7	—	7	10	2	8	7	6	16	26	22	—	—	30	—	28	13
Zahl der untersuchten Tiere	9	—	7	3	4	5	6	9	3	9	5	—	—	3	—	3	3

Die Beziehungen zum Fieberverlauf sind aus den folgenden Kurven ersichtlich. Hier ist neben der Temperaturkurve jedesmal die Prozentzahl der großen Mononukleären eingezeichnet.



Kurve 1. Meerschweinchen No. 488.



Was nun die Gesamtzahl der Leukozyten anlangt, so ist sie um den 10. Tag und später oft stark vermehrt. Eine Bestimmung der absoluten Werte wurde nicht vorgenommen. Die Vermehrung ist oft so enorm, daß sie auch ohne Auszählung in der Zählkammer auf den ersten Blick offenkundig ist.

Den Tabellen der Virustiere lassen wir einige gleichzeitig ausgeführte Kontrolluntersuchungen an normalen Meerschweinchen folgen.

Tag der Untersuchung	Normale Meerschweinchen					
	Meerschweinchen No. 505		Meerschweinchen No. 506		Meerschweinchen No. 507	
	10. III.	20. III.	10. III.	20. III.	10. III.	20. III.
Basophile	—	—	—	—	—	—
Eosinophile	3	1	—	1	1	2
Polynukleäre	53	54	41	56	59	56
Lymphozyten	33	40	41	28	27	32
Große Mononukleäre	10	5	18	16	11	10

Bei diesen sowie bei anderen Kontrolltieren, für die die Zahlen hier nicht besonders aufgeführt sind, war von einer Steigerung der Monozytenwerte nichts zu finden. Besonders erwähnt werden müssen hier die hohen Normalwerte bei dem Meerschweinchen 506. Sie liegen an der Grenze des Pathologischen.

Bei einer kleinen Anzahl von ausnahmsweise von außerhalb bezogenen Tieren konnten wir eine Infektion durch Bazillen der Paratyphusgruppe feststellen. Bei diesen traten gelegentlich spontan Monozytenwerte bis zu 25% auf. Solche Tiere sind für Fleckfieberversuche natürlich zu verwerfen und jedenfalls müssen sie für die Feststellung des reinen Fleckfieberblutbildes ausscheiden. Immerhin war auch bei solchen Tieren die typische Steigerung der Monozytenwerte am 10. Tage vorhanden.

Die Vermehrung der großen Mononukleären gegenüber der Ausgangszahl war, wie schon erwähnt, bei den mit Virus infizierten normalen Meerschweinchen ausnahmslos zu beobachten. Dagegen bleibt das Leukozytenbild völlig unbeeinflusst, wenn früher mit Virus erfolgreich infizierte Tiere nach

Abklingen der Infektion erneut auf die gewöhnliche Weise mit Virus infiziert werden.

Versuch.

Meerschweinchen No. 484, erstmalig infiziert am 7. II., reinjiziert am 10. III. Das zur Reinjektion benutzte Virus wurde gleichzeitig mit positivem Erfolg auf die Meerschweinchen No. 501 und 502 übertragen.

Meerschweinchen No. 484	27. II.	13. III.	15. III.	20. III.
Eosinophile	1	1	1	2
Neutrophile	52	51	53	54
Lymphozyten	35	45	40	39
Große Mononukleäre	12	3	6	5

Es besteht hier also eine Analogie zum Verhalten der Temperatur. Die durch die erste Infektion gesetzte Immunität bewirkt das Fehlen auch der Blutverschiebung bei Reinjektion.

Bemerkenswert ist, daß beim Meerschweinchen gegenüber dem Verhalten des Menschen gewisse Unterschiede bestehen. Nur bei diesem wird eine Hyp- oder Aneosinophilie und eine deutliche Verschiebung des Arnetschen Blutbildes nach links beobachtet. Das Fehlen der letzteren beim Meerschweinchen ist unerwartet, reagiert doch der Mensch schon auf ganz leichte Infektionen und auf geringgradiges Fieber in dem angegebenen Sinn. Wir müssen annehmen, daß entweder das Meerschweinchen grundsätzlich hier anders als der Mensch reagiert oder daß doch bei dieser Tierpezies, die an sich ja vielleicht leichtere und niemals zum Tode führende Infektion im Organismus nicht jene Umstimmung bedingt, die beim Menschen das abweichende Blutbild zur Folge hat.

V. Die agglutinogene Wirkung des Menschenfleckfiebersvirus (Gehirn) beim Kaninchen.

Die bisher vorhandenen Meerschweinchen-Fleckfiebersvira sind alle dadurch zustande gekommen, daß das Blut von Fleckfieberkranken auf Meerschweinchen übertragen und daß dann das Gehirn der Meerschweinchen von Tier zu Tier durch Passagen weiter gezüchtet worden ist. Mit solchen Meer-

schweinchen-Virusgehirn und anderen Organen haben dann Weil und Felix die agglutinogene Wirkung beim Kaninchen festgestellt.

Merkwürdigerweise liegen bisher, soweit wir die Literatur übersehen können, noch keinerlei Versuche über die agglutinogene Wirkung des menschlichen Fleckfiebergehirns beim Meerschweinchen vor.

Ein Todesfall an Fleckfieber in der hiesigen Medizinischen Klinik bot uns die willkommene Gelegenheit, einen solchen Versuch auszuführen.

Eine aus Polen 14 Tage zuvor zugereiste Schnitterin, 28 Jahre alt, erkrankte am 28. III. mit Kopf-, Rücken- und Magenschmerzen, am 30. III. Aufnahme in die Klinik, am 5. IV. Agglutination: Typhus (Untersuchungsamt unseres Instituts) 1:1000; Paratyphus B 1:250; Weil-Felix 1:100 (9. Krankheitstag). 11. IV. (15. Krankheitstag) Widal 1:500; Weil-Felix 1:5000, 13. IV. Exitus; Sektion 2 Stunden nach dem Tod.

Die Sektion ergab keinerlei Anhaltspunkte für Typhus, sondern bestätigte die schon klinisch gestellte Diagnose auf Fleckfieber.

Es wurde frisch entnommenes Gehirn¹⁾ aus der Vierhügelgegend (Thalamus opticus), etwa von der Größe eines halben Meerschweinchengehirns, in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert und damit 2 Kaninchen behandelt. Das Normalserum dieser Tiere enthielt keine Agglutinine für Weil-Felix. Nach 10 Tagen traten bei dem einen der Tiere Agglutinine gegen Weil-Felix auf (positive Reaktion mit OX 19 1:25). Nebenbei sei vermerkt, daß nach Verimpfung von Gehirn und Blut der Patientin auf Meerschweinchen gleichfalls in je einem von 2 Fällen typische Fieberreaktion zu verzeichnen war.

Aus der gelungenen Agglutininbildung auch mit dem Gehirn des Menschen ergibt es sich, daß hier wohl das gleiche Antigen etwa in der gleichen Wirksamkeit vorhanden ist wie beim Meerschweinchen.

Der Agglutinationstiter war allerdings kein sehr hoher. Doch stammte das Gehirn bereits vom 17. Krankheitstag. Es

1) Für die Ueberlassung des Materials sind wir dem Direktor des Pathologischen Instituts, Herrn Prof. W. Groß, zu Danke verpflichtet.

ist aber auf Grund unseres Versuches wohl anzunehmen, daß zum mindesten am 17. Krankheitstag das Fleckfiebertivirus in seiner antigenen Form gegen X 19 im Gehirn noch vorhanden ist.

Der Versuch zeigt, soweit wir das heute mit unseren Methoden sagen können, die Identität des mit Meerschweinchenvirus und Menschenfleckfiebertivirus erzeugten Agglutinins beim Kaninchen.

VI. Negative Züchtungsversuche von X 19 bei Fleckfieber.

Die Züchtung des Virus in der Form des X 19-Bazillus¹⁾ ist uns bei dieser Leiche trotz der fast unmittelbar nach dem Tod erfolgten Entnahme des Materials auf einer Zahl von Nährböden unter den verschiedensten Bedingungen weder aus dem Gehirn, noch aus dem Blute, noch aus anderen Organen gelungen.

Im Anschluß daran möchten wir auch noch bemerken, daß wir, nachdem die früheren Züchtungsversuche der X-Bazillen zu so unregelmäßigen Ergebnissen geführt hatten, bei einer Reihe von Fleckfieberpatienten des Durchgangslagers Swinemünde mit dankenswerter Unterstützung durch den Lagerarzt Herrn Dr. Feige Stuhl und Urin der Patienten zu verschiedensten Zeiten auf Vorkommen von X-Bazillen untersucht haben.

In 31 Einsendungen von Stuhl und ebenso viel von Urin, die allerdings bis zur Verarbeitung 18—24 Stunden unterwegs waren, gelang es uns in keinem einzigen Falle, auf verschie-

Anmerkung bei der Korrektur: Neuerdings haben Otto und Chou (Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 88, S. 467), da „ja die X 19-Bazillen von einigen Autoren immer noch als die Erreger des Fleckfiebers angesprochen werden“, Untersuchungen über die Resistenz des Meerschweinchenfleckfiebertivirus im Vergleich zum X 19-Bazillus angestellt. Sie glauben, die obige Anschauung „einiger Autoren“ durch den Nachweis widerlegt zu haben, daß das Fleckfiebertivirus im Meerschweingeirn bedeutend weniger widerstandsfähig ist als der in normaler Meerschweingeirnemulsion suspendierte X 19-Bazillus.

Wenn wir von den quantitativen Verhältnissen zunächst ganz absehen, so ist es ja natürlich auch an sich nicht weiter verwunderlich, daß die Virusform im Meerschweingeirn eine andere Resistenz zeigt als der X 19-Bazillus, ebenso wie z. B. die Milzbrandspore bezüglich ihrer Resistenz sich ganz anders verhält wie der vegetative Bazillus.

denen Nährböden und unter verschiedensten Bedingungen X-Bazillen zu züchten. Es handelt sich dabei meist um Patienten, die auf der Höhe des Fleckfiebers standen (8. bis 10. Tag) bzw. sich in der Rekonvaleszenz befanden. Leider stand uns entsprechendes Material von ganz frischen Fällen nicht zur Verfügung.

Züchtungsversuche haben wir nun auch fortlaufend an unseren infizierten Meerschweinchen angestellt und auch hier alle Organe, ferner Galle, frischen Stuhl und Urin ausgestrichen. Alle Platten von den Organen blieben steril, häufig auch Galle und Urin, niemals gelang uns hier und im Stuhl die Züchtung von X-Bazillen.

Natürlich beweisen solche negativen Züchtungsversuche nicht viel. Es ist immerhin möglich, daß unter gewissen bisher noch unerkannten Bedingungen regelmäßig der X 19-Bazillus auch aus dem Tiere gezüchtet werden könnte, so wie es in einer Anzahl von Fällen beim Menschen gelungen ist.

Unsere negativen Ergebnisse gaben uns aber Anlaß zu versuchen, ob die Form des Virus, wie sie auf unseren Nährböden nicht züchtbar, sich im Gehirn finden muß, in diesem Substrat eine Vermehrung erfahren könnte. Wäre es der Fall, so müßte das in einer starken antigenen Wirkung des Meerschweinchenvirus bei der Weiterimpfung auf das Kaninchen zutage treten.

Wir haben zu diesem Zweck sterilen Virusgehirnbrei oder Gehirnstückchen in inaktives Kaninchenserum, Kaninchenblut bzw. Kaninchenplasma eingebracht unter jeweiligem Zusatz von etwas Bouillon. Die Röhrchen wurden bei 37° 8 Tage bebrütet, blieben dann noch 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen und, soweit das Material steril war, wurden mit der oben stehenden Flüssigkeit und ebenso nach starkem Aufschütteln mit der ganzen Emulsion Kaninchen geimpft. Bei keinem der Tiere traten Agglutinine für X 19 auf. Es kann also von einer Anreicherung des Virus, wie sie K u c z y n s k i in seinen Plasmakulturen von Meerschweinchen beschrieben hat, in unseren Versuchen nicht die Rede sein, im Gegenteil wir müssen annehmen, daß innerhalb der Bebrütungsperiode das Virus abgestorben sein muß.

VII. Weitere Versuche über serologische Beziehungen zwischen Fleckfiebertivirus und X 19.

Im Anschluß an die früher von uns¹⁾ untersuchten Beziehungen zwischen X 19- und Fleckfieberimmunität beim Meerschweinchen haben wir jetzt diese Versuche vor allen Dingen nach der Richtung fortgesetzt, ob eine Immunisierung mit X 19 eine Immunität gegen Fleckfieber bedingt. Derartige Versuche sind in der Beurteilung natürlich viel schwieriger als unsere früheren in umgekehrter Versuchsanordnung, weil ja die Kriterien für die gelungene Virusinfektion des Meerschweinchens viel weniger eindeutig sind als die für die X 19-Infektion. Wegen der Notwendigkeit der Prüfung im Agglutinationsversuch am Kaninchen als dem sichersten Kriterium ziehen sich derartige Versuche sehr lange hin. Bei der derzeitigen Schwierigkeit der Beschaffung geeigneter gleich schwerer Tiere in den notwendigen Mengen sind wir, trotzdem wir die Versuche seit einem Jahre unausgesetzt fortgeführt haben, noch zu keinem Abschluß gelangt.

Allerdings sind einige Versuchsreihen in unserem Sinne so zu deuten, als ob ein gewisser Schutz durch X 19-Behandlung gegenüber dem Fleckfiebertivirus erzielt wird. Aber die Resultate sind nicht vollkommen glatt, wie ja auch nicht einmal bei der aktiven Immunisierung des Meerschweinchens mit Typhusbazillen gegen Typhus regelmäßig ein glatter Schutz erzielt wird [Weber²⁾].

Wir suchten zunächst festzustellen, ob bei mit lebenden X 19-Bazillen immunisierten Meerschweinchen das Fleckfiebervirus nicht angeht. Da wir nun aber als sicherstes Kriterium für die Fleckfieberinfektion das Auftreten von Agglutininen beim Kaninchen betrachten müssen, so war es notwendig in jedem Falle auszuschließen, daß das Gehirn der mit OX 19-Bazillen vorgespitzten und dann mit Virus infizierten Tiere die eventuelle agglutininbildende Fähigkeit lediglich der Vorbehandlung mit OX 19 verdankt.

Es wurden deshalb Vorversuche in folgender Weise angestellt: Meerschweinchen wurden zunächst mit abgetöteten

1) Friedberger und Schiff, Berl. klin. Wochenschr. 1921, No. 13, S. 293.

2) R. Weber, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 82, 1916, S. 351.

OX 19-Bazillen, nach 8 Tagen mit lebenden OX 19-Bazillen (1 Oese) subkutan am Bauch behandelt.

Die erstmalige Spritzung mit toten Bazillen geschah deshalb, um durch die so gebildeten Bakteriolyse eher die nachgespritzten lebenden Bazillen zur Auflösung zu bringen.

Tatsächlich ergab es sich, daß die Gehirne solcher Meerschweinchen in der bei uns üblichen Technik, 14 Tage nach der Vorbehandlung mit dem lebenden OX 19 intravenös beim Kaninchen gespritzt, keine Agglutininbildung hervorriefen (Versuche mit 5 Meerschweinchen; die Gehirne auf 5 Kaninchen).

Nachdem dieser Vorversuch befriedigend ausgefallen war, wurden von neuem Meerschweinchen in der gleichen Weise vorbehandelt und bei einem Teil dieser Tiere 10 Tage nach der Injektion mit lebenden OX 19-Bazillen eine Infektion von Virus gesetzt, das, wie gleichzeitige Kontrollversuche ergaben, hochwirksam war. 10 Tage nach der Virusinfektion wurden diese Meerschweinchen und außerdem nur mit Virus und nicht mit Bazillen vorbehandelte entsprechende Kontrollen entblutet und die Gehirne auf Kaninchen übergeimpft.

Agglutinationstiter für OX 19 bei 6 Kaninchen, die mit den Gehirnen von mit X 19 immunisierten und dann mit Virus infizierten Meerschweinchen vorbehandelt waren.

Behandlung der Kaninchen am 17. XII.

Agglutinationstiter für OX 19.

Kaninchen		17. XII.		29. XII.		31. XII.		3. I. 22	
		Ablesung nach		Ablesung nach		Ablesung nach		Ablesung nach	
No.	Gewicht	2 Std.	über Nacht	2 Std.	über Nacht	2 Std.	über Nacht	2 Std.	über Nacht
113	2100	$\frac{1}{5} \pm$	$\frac{1}{5} \pm$	—	—	—	$\frac{1}{10}(+)$	—	$\frac{1}{5}(\pm)$
114	2000	$\frac{1}{5}(+)$	$\frac{1}{10} \pm$	—	$\frac{1}{5} \pm$	$\frac{1}{5} \pm$	$\frac{1}{10} \pm$	$\frac{1}{25} +$	$\frac{1}{50} +$
115	1850	$\frac{1}{5}(+)$	$\frac{1}{10} \pm$	$\frac{1}{5} +$	$\frac{1}{10}(+)$	—	$\frac{1}{5}(+)$	$\frac{1}{25} +$	$\frac{1}{50} +$
116	2000	—	$\frac{1}{5} \pm$	$\frac{1}{25} +$	$\frac{1}{50} +$	—	—	—	—
G 13	1200	—	—	$\frac{1}{100} \pm$	$\frac{1}{200} \pm$	—	—	—	—
G 14	1200	—	—	—	—	—	—	—	—
Tage nach der Infektion		0		12		14		17	

Kontrollkaninchen, behandelt mit demselben Virus, das aber auf ein nicht mit X 19 vorbehandeltes Meerschweinchen übertragen war.

111	$\frac{1}{10} \pm$	$\frac{1}{10} \pm$	$\frac{1}{100} +$	$\frac{1}{200}(+)$
112	—	—	$\frac{1}{25} +$	$\frac{1}{100} \pm$

+ Agglutination mit bloßem Auge deutlich, (+) Agglutination mit der Lupe noch stark, \pm mit der Lupe schwach, aber deutlich sichtbar.

Wie die vorstehende Tabelle ergibt, ist die Agglutininbildung am 12. Tag, wo sie sonst ausgesprochen ist, nur bei zwei Tieren positiv gewesen; bei vier war eine deutliche Steigerung gegen die geringen hier vorhandenen Normalwerte nicht zu verzeichnen. Auch noch am 14. Tage haben sich die Verhältnisse nicht verschoben. Erst am 17. Tage tritt bei zweien von diesen vier Tieren noch eine geringe Agglutininbildung auf. Tatsächlich ist also am 12. Tage, zu einer Zeit, wo sonst Höchstititer der Agglutinine zu verzeichnen ist, bei vier von sechs Kaninchen die Agglutininbildung unterdrückt, und trat bei zweien von ihnen erheblich verzögert auf. Diese Verzögerung dürfen wir wohl als eine Folge abgeschwächter Infektion ansehen. Nach Weils Untersuchungen steht ja die Inkubation in einem direkten Abhängigkeitsverhältnis zur Infektionsdosis, so daß die Infektion mit einer geringen Keimmenge, insbesondere mit den Grenzdosen, die Inkubation verlängert. Wir müssen natürlich auch eine entsprechend geringere Antigenwirkung mit den Gehirnen solcher Tiere annehmen, bei denen die Infektion verzögert verläuft.

Dem Ergebnis der Agglutininbildungsversuche entspricht hier vollkommen die Fieberkurve der Antigen liefernden Meerschweinchen. Allerdings mußten die Tiere ja am 10. Tage getötet werden und deshalb sind die Kurven nicht genügend lange verfolgt.

Es ergibt sich aber, daß bei den beiden Meerschweinchen, deren Gehirn schon nach 12 Tagen stark agglutininbildende Qualitäten aufwies, auch ein hohes Fieber bestand und daß die gar nicht agglutininbildenden Kaninchen 113 und G 14 Gehirne von Meerschweinchen erhalten hatten, die auch keinerlei Fieberreaktion zeigten. Es bedarf natürlich weiterer größerer Versuchsreihen, um die schützende Wirkung des X 19 zu sichern¹⁾.

1) Das Ergebnis dieses Versuchs findet eine Stütze in einem älteren Versuch von Werner und Leoneanu (Münch. med. Wochenschr., 1918, S. 587), die gleichfalls in einem Falle durch Vorbehandlung von Meerschweinchen mit X 19 einen Schutz gegenüber Fieberreaktion durch Virus beobachtet hatten.

In der früheren Arbeit haben wir zum Beweis der passiven Immunität gezeigt, daß das Serum mit Fleckfiebertivirus vorbehandelter Kaninchen genau wie das der mit X 19 vorbehandelten Meerschweinchen gegen die intraperitoneale X 19-Infektion schützt.

Es galt nun umgekehrt zu ermitteln, ob ein X 19-Immunsrum imstande ist, virulizid zu wirken wie ein Virusserum bakterizid. Solche Versuche konnten natürlich nicht nach Art des Pfeifferschen Versuchs ausgeführt werden, da ja die Meerschweinchenvirusform des Erregers nicht sichtbar ist. Es mußte vielmehr nach Art der rabiziden und ähnlicher Versuche Virus und Immunsrum gemischt eine Zeitlang bei 37° gehalten werden und dann diese Mischungen beim Kaninchen auf ihre antigene Fähigkeit untersucht werden.

Da ja, wie wir annehmen müssen, nur das lebende Virus beim Kaninchen Agglutinine erzeugt, so war diese Versuchsanordnung an sich hier brauchbar. Wir haben in zahlreichen Versuchen Meerschweinchenvirus mit OX 19-Immunsrum, Kaninchenvirusserum (Normalkaninchen Serum zur Kontrolle), mit Fleckfieberpatientenserum (Normalmenschenserum als Kontrolle) in Kontakt gelassen und dann die Mischungen beim Meerschweinchen im Infektionsversuch und beim Kaninchen auf Agglutininbildung untersucht.

In den Versuchen, in denen Virusemulsion mit OX 19-Immunsrum, mit Kaninchenvirusserum und Fleckfieberpatientenserum in Kontakt gewesen war, wäre eine Abtötung des Virus, ein negatives Ergebnis der Weiterimpfung beim Meerschweinchen und ein Ausbleiben der Agglutinine beim Kaninchen zu erwarten gewesen.

Es stellten sich aber diesen Versuchen zunächst unüberwindliche technische Schwierigkeiten entgegen, weshalb wir auf eine Wiedergabe im einzelnen verzichten wollen. Damit nämlich das Serum wirklich ausgiebig auf das Virus einwirken kann, ist es notwendig, daß dieses in vollkommen homogener feiner Emulsion vorhanden ist, wie das ja auch z. B. schon bei den rabiziden Versuchen [Kraus¹⁾], Friedberger und

1) Kraus, Zeitschr. f. Hyg., 1902.

v. Eisler¹⁾] sich als notwendig herausgestellt hat. Wir haben deshalb unser Virus vor der Hinzufügung des Serums durch dichte Papierfilter filtriert.

Dabei verliert aber das Virus häufig seine Infektiosität, so daß nicht nur in den Versuchen, in denen Virusemulsion mit den verschiedenen Immunseris in Kontakt war, die nachherige Weiterimpfung der Gehirne auf Kaninchen keine Agglutininbildung ergab, sondern leider auch in den Kontrollen. Nimmt man hingegen wieder statt der Filtratemulsion eine nicht filtrierte Virusemulsion, so sind unter Umständen so grobe Partikel darin enthalten, daß das Serum auf das Virus nicht in allen Teilen einwirken kann, und dann wird es nicht genügend abgetötet.

Am ehesten war hier noch bei geeigneter Emulsion ein Erfolg mit einem hochwertigen Patientenserum zu erwarten. Um dessen virulizide Wirkung festzustellen und zugleich den Zusammenhang mit dem OX 19-Bazillus haben wir hochagglutinierendes Fleckfieberpatientenserum in drei Teile geteilt: Teil A wurde unausgefällt gelassen, Teil B mit OX 19-Bazillen ausgefällt, Teil C mit einem nichtspezifischen, und zwar gleichfalls einem gramnegativen Bazillus, *Bacterium coli*, in Kontakt gelassen.

Es wurden zu diesem Zwecke je 6 ccm eines hochwirksamen Fleckfieberpatientenserums in der Verdünnung 1:100 mit dem Sediment der Abschwemmung einer Agarplatte OX 19 resp. *Coli* zweimal hintereinander je 1 Stunde ausgefällt, weitere 6 ccm unausgefällt gelassen. Die Abgüsse wurden nun mit je 1,5 ccm einer virulenten Virusemulsion, die nicht durch Filtration, sondern durch Sedimentation gewonnen war, versetzt und 1 Stunde bei 37° in Kontakt gelassen. Im Kontrollversuch wurde eine entsprechende Emulsion mit Kochsalzlösung statt Serumverdünnung angesetzt.

Waren unsere Voraussetzungen richtig, so mußte das unausgefällte Patientenserum und das mit Colibazillen ausgefällte das Virus abtöten, nicht aber das mit OX 19 ausgefällte.

1) Friedberger und v. Eisler, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 44, 1907, Heft 7.

Eine Reihe von Meerschweinchen erhielten je 1 ccm der Virusserumgemische, und zwar Meerschweinchen a das Gemisch von Virus und nativem Patientenserum, Meerschweinchen b das Gemisch von Virus und Patientenserum, das mit X 19-Bazillen ausgefällt war, und Meerschweinchen c das Gemisch von Virus und mit Coli ausgefälltem Patientenserum.

Das Gehirn des Meerschweinchens a und c wirkte nicht agglutinogen beim Kaninchen. Wir können also annehmen, daß das Virus abgetötet war. Dagegen rief das Gehirn des Meerschweinchens b beim Kaninchen starke Agglutininbildung bis 250 hervor. Hier war also sicher beim Meerschweinchen die Infektion angegangen und das Virus unter dem Einfluß des mit OX 19 ausgefällten Patientenserums nicht abgetötet. Daß das Meerschweinchengehirn aber nicht etwa noch X 19 enthielt, dafür sprechen die Kontrollversuche von S. 287.

Zusammenfassung.

1) Eine nennenswerte Aenderung der Virulenz des Meerschweinchenfleckfiebertivirus ist bei uns in über 500 Tierversuchen im Verlauf von 1 $\frac{1}{2}$ Jahren nicht erfolgt.

2) Die agglutininbildende Fähigkeit des Meerschweinchenfleckfiebertivirus für X 19 (Weil und Felix) konnte im Gegensatz zu Ruß und Kirschner in 150 Kaninchenversuchen erneut bestätigt werden.

3) Eine Uebertragung des Fleckfiebertivirus vom Meerschweinchengehirn auf Hühner und Mäuse ist uns nicht gelungen, auf Tauben nicht sicher.

4) Impfung von Virus in die Cornea von Meerschweinchen und Kaninchen war erfolglos, ebenso Impfung in die Planta pedis beim Meerschweinchen.

5) Das Blutbild beim fleckfieberinfizierten Meerschweinchen ergibt am 10. Tag nach der Infektion regelmäßig ein beträchtliches Ansteigen der Monozyten. Das Verhalten der Neutrophilen und Lymphozyten läßt dagegen eine Gesetzmäßigkeit nicht erkennen. Eine Arnethsche Verschiebung nach links besteht nicht. Die Prozentzahl der Eosinophilen wird durch die Infektion nicht beeinflußt. Die Gesamtzahl der Leukozyten ist um den 10. Tag oder später oft stark vermehrt.

6) Das Leukozytenbild bleibt unbeeinflusst, wenn früher mit Virus erfolgreich infizierte Tiere nach Abklingen der Infektion erneut mit Virus geimpft werden.

7) Die Veränderungen des weißen Blutbildes beim fleckfieberinfizierten Meerschweinchen kann neben den anderen Symptomen als diagnostisches Kriterium verwendet werden.

8) Auch das Gehirn eines an Fleckfieber verstorbenen Menschen ergab beim Kaninchen eingespritzt Agglutinine gegen X 19.

9) Züchtungsversuche mit Stuhl und Urin fleckfieberkranker Menschen auf der Höhe der Infektion und ebenso Züchtungsversuche beim Meerschweinchen aus Exkreten, Sekreten und Organen ergaben durchgehend kein Wachstum von X 19-Bazillen.

10) Mit Bazillen vorbehandelte Meerschweinchen zeigen einen gewissen Schutz gegen die Fleckfiebertvirusinfektion. Doch sind die Versuche nicht zahlreich genug, um ein endgültiges Urteil zu fällen.

11) Mit OX 19 ausgefälltes Fleckfieberpatientenserum wirkte in einer Versuchsreihe im Gegensatz zu dem nativen und mit Colibazillen ausgefällten Fleckfieberpatientenserum nicht mehr virulizid.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Weitere Untersuchungen über den Rezeptorenapparat in der Paratyphusgruppe.

Von **F. Schiff.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. April 1922.)

In einer vorangegangenen Arbeit habe ich den Rezeptorenapparat der Paratyphusgruppe mit Rücksicht auf die Unterscheidbarkeit zwischen Fleischvergiftern und echten Paratyphus B-Bazillen untersucht. Eine Trennung dieser beiden Formen war insbesondere in einer Reihe von Arbeiten der

Kieler Schule (B. Fischer, R. Müller, Bitter, Wagner u. a.) seit Jahren aus epidemiologischen und bakteriologischen Gründen gefordert worden. Auch auf gewisse serologische Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurde von manchen Seiten hingewiesen (Trautmann, Selter, Bitter, Manteufel und Beger), eine sichere Differenzierung auf Grund des serologischen Verhaltens war aber bisher nicht möglich gewesen, vor allem deshalb, weil sich bei Heranziehung einer größeren Anzahl von Immunseris immer von neuem Widersprüche ergaben (Trommsdorff und Reichmann, Uhlenhuth und Hübner, Manteufel und Beger). Ich konnte nun zeigen, daß die Anwendung der von Weil und Felix ausgebauten Methodik der Rezeptorenanalyse („thermostabile und thermolabile Rezeptoren“, „stabilotrope“ und „labilotrope“ Agglutinine, „feinflockige“ und „grob-flockige“ Agglutination) zu durchaus eindeutigen Ergebnissen führt und ohne weiteres eine Einteilung der beim Menschen gefundenen sogenannten Paratyphus B-Stämme in zwei Gruppen ergibt. Die Vertreter der einen Gruppe entstammten sämtlich den Krankheitsfällen mit typhusartigem Verlauf, die der zweiten waren bei typischen „Fleischvergiftungen“ gezüchtet worden. Man gelangt also auf Grund rein serologischer Kriterien zu genau derselben Einteilung, wie sie die Kieler Schule im wesentlichen nach dem bakteriologischen Verhalten (Wachstumsform, Tierpathogenität u. a.) vorgenommen hatte.

Einer weiteren Klärung schienen mir noch die Verhältnisse bei den nicht ganz seltenen klinischen Uebergangsformen und bei gemischten Epidemien zu bedürfen. Gegenüber Kuczynski, der auf die Häufigkeit solcher unklaren Fälle im Weltkriege hingewiesen hatte, habe ich betont, daß gerade im Kriege Mischinfektionen und Mischepidemien nicht zu den Seltenheiten gehörten. Genau wie wir ein Zusammentreffen von Paratyphus B mit echtem Abdominaltyphus oder mit Paratyphus A beobachtet haben, muß auch damit gerechnet werden, daß sich Infektionen durch echte Schottmüllersche Paratyphusbazillen und durch die Fleischvergifter des Breslautypus, sei es beim einzelnen Kranken, sei es im Rahmen von Epidemien, überdecken konnten. Daneben muß noch berücksichtigt werden — hierauf hat Wolf Gärtner mit Recht hingewiesen — daß auch bei den echten Paratyphusfällen mit typhusartigem Verlauf alsbald nach der Infektion als Ausdruck einer Intoxikation gastroenteritische Symptome bestehen können. Eine endgültige Klärung der Aetiologie der klinischen Uebergangsformen dürfte in absehbarer Zeit erfolgen können,

wenn künftig die in solchen Fällen gefundenen Stämme sorgfältig auf ihr bakteriologisches und serologisches Verhalten nach den in den letzten Jahren herausgearbeiteten Gesichtspunkten geprüft werden.

Die Brauchbarkeit der Methodik von Weil und Felix hat neuerdings noch eine weitere interessante Bestätigung erfahren. Ebenfalls auf serologischem Wege, aber mit scheinbar durchaus anderer Methodik sind Aoki¹⁾ und seine Mitarbeiter zu ganz entsprechenden Ergebnissen gelangt. Aoki prüfte, ohne den Agglutinationstypus zu beachten, zahlreiche Stämme der Paratyphusgruppe durch gekreuzte Agglutination mittels monovalenter Sera. Auch er gelangte zu der Annahme zweier verschiedener Gruppen. Zur ersten gehören hauptsächlich diejenigen Paratyphusbazillen, die bei typhösen Erkrankungen des Menschen gefunden werden, zur zweiten die Erreger von menschlichen Gastroenteritiden und Tiererkrankungen. Natürlich werden die Verhältnisse bei der Mitagglutination dadurch beeinflußt, daß die Mitagglutinine in der Regel elektiv auf bestimmte stabile oder labile Rezeptoren wirken. Die Ergebnisse derartiger Untersuchungen werden sich deshalb weit besser als bisher überblicken und oft bis in Einzelheiten voraussagen lassen, wenn der Rezeptorentypus von vornherein Berücksichtigung findet. Ähnliches gilt für eine Reihe von Untersuchungen amerikanischer Autoren²⁾, die auch immer mehr zu einer Abtrennung der echten Paratyphus B-Bakterien von den Fleischvergiftern des Aertryck-Breslautypus gelangen. —

Bei der großen allgemeinen Bedeutung der Anschauungen von Weil und Felix dürfen auch die einschlägigen Angaben aus früherer Zeit erneut Beachtung beanspruchen. Sie beziehen sich im wesentlichen auf Typhusbazillen.

Bereits Joos³⁾ hat nachgewiesen, daß „die lebenden Typhusbazillen zwei verschiedene agglutinierbare Substanzen enthalten, welche sich durch ihre Empfindlichkeit gegenüber der Wärme voneinander unterscheiden. Die erste, das α -Agglutinogen, wird bei 60—62° rasch zerstört. Sie er-

1) Aoki und Konno, Tohoku Journ. of exp. med., Vol. 2, 1921, p. 71 u. 75; Aoki, ebenda p. 131.

2) z. B. Krumwiede, Valentine und Kohn, Journ. Med. Res., Vol. 39, 1919, p. 449. — Ten Broeck, Journ. exp. Med., Vol. 28, 1918, p. 759.

3) Joos, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 33, 1903, S. 762.

zeugt durch ihre Verbindung mit der agglutinierenden Substanz des Serums die so charakteristischen groben Flocken und den umfangreichen Niederschlag bei der Agglutination der Mikroben. Sie ist der vorzüglichste Bestandteil der lebenden Bazillen. Die zweite Substanz, das β -Agglutinogen, findet sich ebenfalls in den normalen Typhusbazillen vor. Sie widersteht der Wärme mit Leichtigkeit, und selbst eine während mehrerer Stunden anhaltende Temperatur von 60–62° kann sie nicht beeinflussen. Ihre Verbindung mit der agglutinierenden Substanz des Serums bringt gleichfalls eine Agglutination hervor, aber der sich bildende Niederschlag zeigt sich in Form kleiner Klümpchen, welche langsam auf den Boden des Glases sinken, wo sie eine ziemlich kompakte, bisweilen eine etwas schleimige Masse bilden. Werden Typhusbazillen auf 60–62° erwärmt, so bleibt das α -Agglutinin erhalten, während das β -Agglutinogen zerstört wird.“

Joos hat also nicht nur erkannt, daß in den Typhusbazillen zwei verschieden hitzeempfindliche Agglutinogene enthalten sind, sondern er unterscheidet auch schon scharf die groben Flocken mit umfangreichem Niederschlag und die langsam sich senkenden kleinen Klümpchen, die am Boden eine kompakte Masse bilden.

Weiter verdanken wir Joos die wichtige Feststellung, daß „die beiden Agglutinine eines Immunserums unabhängig voneinander auf die beiden agglutinierbaren Substanzen der Typhusbazillen wirken“. „Das α -Agglutinin hat also zum α -Agglutinogen eine ganz besondere Affinität und ist unfähig, sich mit dem β -Agglutinogen zu verbinden. Je nachdem das eine oder andere Agglutinin überwiegt, werden wir demnach Sera mit höchst verschiedenen Eigenschaften erhalten.“ Das β -Agglutinin besitzt nach Joos entsprechend eine sehr ausgesprochene Affinität für das β -Agglutinogen. Praktisch wichtig ist auch, daß „der Agglutinationswert eines Serums nicht die Summe der agglutinierenden Werte der beiden Agglutinine darstellt, welche das Serum enthält, sondern in den meisten Fällen nur jene Agglutination, die durch das α -Agglutinin hervorgerufen wird“.

Ganz entsprechend haben Weil und Felix sowie Gruschka gefunden, daß in der Regel die grobflockenden Agglutinine noch in stärkeren Serumverdünnungen als die feinflockenden nachweisbar sind, und daß demgemäß der „Endtiter“ eines agglutinierenden Serums meist mit dem Titer der grobflockenden Agglutinine identisch ist (vgl. die schematische Darstellung der Verhältnisse bei Gärtnerbazillen in der Arbeit von Gruschka¹⁾).

Sonach findet sich bereits bei Joos die Lehre vom „Doppeltypus der Rezeptoren“ festgelegt. Sie wurde alsbald nach verschiedenen Richtungen weiter ausgebaut (Scheller, Kraus und Joachim, Porges, Eisenberg und Volk,

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920, S. 209.

Dreyer, Jex-Blake u. a.), fand aber lange auf die bakteriologische Systematik keine Anwendung. Erst die Entdeckung der Weil-Felixschen Proteusbazillen und die Aufindung der O- und H-Formen gab hierzu den Anlaß¹⁾.

Den Grund für die Nichtbeachtung der Angaben von Joos möchte ich darin erblicken, daß seine Beobachtungen in manchen Einzelheiten nicht zutreffen oder sich wenigstens nicht verallgemeinern lassen. Vor allem ist nach den jetzigen Erfahrungen die Erwärmung auf 60—62° unzureichend, um die Differenzierung der α - und β -Agglutinogene scharf durchzuführen. Die thermolabilen Rezeptoren (α -Agglutinogene von Joos) werden bei 60° unter Umständen zwar so weit geschädigt, daß die von Joos richtig beschriebene grobe Flockung nicht mehr zustande kommt; dagegen bleibt das Bindungsvermögen und das Immunisierungsvermögen der 60°-Bakterien auch bei mehrstündigem Erhitzen, wie es Joos versucht hat, noch erhalten. Die Annahme von Joos, daß auf 60—62° erhitzte Bakterien nur β -Agglutinine, aber „nicht die mindeste Spur von α -Agglutininen“ bilden, ist nicht richtig, wenn auch vielleicht gelegentlich mit derartigen Bakterien bei einzelnen Immuntieren rein feinflockende Immunsera gewonnen werden können. Joos hielt also die mit auf 60° erhitzten Bakterien hergestellten Sera für reine β -Antisera (feinflockende nach Weil und Felix, stabilotrope nach Schiff). Da diese β -Antisera aber nach seiner Angabe unter Umständen auch mit dem thermolabilen α -Agglutinogen reagierten, so muß angenommen werden, daß er noch keine reinen stabilotropen Sera in der Hand hatte. Gerade diese aber (das „reine O-Serum“ von Weil) sind unentbehrlich für die systematische Differenzierung.

Ueber das spontane Vorkommen grob und fein agglutinierender Rassen bei einer Bakterienart (Typhus) hat zuerst Friedberger²⁾ (1904) berichtet. Er sah bei einem frisch aus dem Körper gezüchteten Typhusstamm Agglutination „nur in kleinen eben noch deutlich sichtbaren Klümpchen“, während

1) Weil und Felix, Wiener klin. Wochenschr., 1917, No. 48; 1918, No. 23. — Sachs, Deutsche med. Wochenschr., 1918, S. 459.

2) Friedberger, Salkowski-Festschrift, Berlin, Hirschwald, 1904.

ein Vergleichsstamm „die typische grobe Flockenbildung“ aufwies. Friedberger hat schon damals in Bindungsversuchen den Nachweis geführt, daß in dem verwendeten Immuneserum „mindestens 2 verschiedene Agglutinine enthalten sind“, von denen der typisch geflockte Stamm beide zu absorbieren vermochte, während der in kleinen Flocken agglutinierende Stamm „allein das für ihn passende Agglutinin zum Teil entzieht, aber für den Rest der Agglutinine offenbar keine Rezeptoren besitzt“.

Im folgenden soll über weitere Versuche berichtet werden, die sich unter Berücksichtigung des Agglutinationstypus mit dem Rezeptorenapparat in der Paratyphusgruppe beschäftigen. Untersucht wurden speziell zwei Fragen:

I. In welchem Verhältnis stehen die labilen Rezeptoren der Paratyphusgruppe zu den labilen Rezeptoren in der Suipestifergruppe?

II. Sind die Menschenstämme der Suipestifergruppe (Paratyphus β , Bazillus Ersindjan) von den Tierstämmen (Ferkeltyphus, Kunzendorf, Voldagsen) mit Hilfe der Rezeptorenanalyse zu unterscheiden?

Zu I. Weil und Felix haben festgestellt, daß manche der von Weil und Saxl als Paratyphus β^1) bezeichneten Stämme (menschopathogene Vertreter der Suipestifergruppe) mit den eigentlichen Paratyphus B-Stämmen thermolabile Rezeptoren gemeinsam haben. Weil und Felix konnten danach die sämtlichen von ihnen untersuchten Paratyphus β -Stämme nach ihrem Verhalten gegenüber agglutinierenden Paratyphus B-Seris in zwei Gruppen einteilen. Die eine Gruppe (β 2-Typus) wird in groben Flocken von Paratyphus B-Serum agglutiniert, und zwar oft bis zu denselben Verdünnungen wie Paratyphus B-Stämme. Die andere Gruppe

1) Andrewes und Sheffield Neave (Brit. Journ. of exp. path., Vol. 2, 1921, p. 157 [Ref. Kongreß-Zentralbl., Bd. 20, 1921, S. 15]) nehmen irrtümlich an, daß die Bezeichnung von Weil und Saxl Paratyphus C laute und daß damit eine Uebereinstimmung mit den früher von Uhlenhuth unter diesem Namen beschriebenen Stämmen ausgedrückt werden solle.

(β 5) wird gar nicht oder nur minimal beeinflußt. Dem β 2-Typus gehören die von Weil und Saxl in Albanien, dem β 5 die in Wolhynien gefundenen Stämme an. Neukirch hat in der Türkei beide Typen nebeneinander gesehen, ja er hat bei ein und demselben Kranken an verschiedenen Tagen gleichzeitig Stämme des β 2- und des β 5-Typus gefunden. Dieselbe Beobachtung machten Lewy und Schiff. Sie fanden auf ein und derselben Platte von Paratyphus B-Serum agglutinable und nichtagglutinable Stämme¹⁾.

Die Agglutination durch Paratyphus B-Serum beruht nach Weil und Felix, wie schon erwähnt, auf einer Gemeinsamkeit der thermolabilen Rezeptoren. Ich habe nun in der vorhergehenden Mitteilung gezeigt, daß es verschiedene thermolabile Paratyphus B-Rezeptoren gibt. Die einen finden sich in gleicher Weise bei den Erregern der klinisch unter dem Bilde eines echten Typhus verlaufenden Fälle wie bei denen der Gastroenteritisfälle. Diese „gemeinsamen“ Rezeptoren seien als a-Rezeptoren bezeichnet. Daneben gibt es thermolabile Rezeptoren, die für die echten Paratyphus B-Bazillen („b“-Rezeptoren) und andere, die für die „Paratyphusbazillen“ der Gastroenteritisfälle (Typus Breslau, „c“-Rezeptoren) charakteristisch sind. Es war nun festzustellen, welche dieser drei Rezeptorentypen sich bei den Paratyphus β -Bazillen vorfinden. Da bei den Untersuchungen von Weil und Felix echte Paratyphus B-Bazillen bzw. mit solchen hergestellte Immunsere verwendet worden waren, so kommen als gemeinsame thermolabile Rezeptoren in erster Linie die a- oder b-Rezeptoren in Betracht. Daneben könnten sich vielleicht auch c-Rezeptoren bei den Paratyphus β Bazillen finden. Es ergeben sich also für die zu prüfenden thermolabilen Rezeptoren die folgenden Möglichkeiten: a, ab, ac, abc, b, bc. Dabei ist es selbstverständlich denkbar, daß die Paratyphus β -Bazillen die a- oder b-Rezeptoren nicht zur Gänze enthalten, sondern nur zu einem Bruchteil.

1) Vgl. auch die eingehenden serologischen Untersuchungen von Manteufel, Zschucke und Beger, *Centrabl. f. Bakt., I. Abt., Orig.*, Bd. 86, 1921, S. 219.

Diese Fragen wurden in Ausfällungsversuchen geprüft. Es wurden Immunsera gegen Bazillen der Suipestifergruppe¹⁾ sowie solche gegen echte Paratyphus B-Bazillen und gegen Breslaubakterien jeweils mit den heterologen Bakterien ausgefällt; vor und nach der Ausfällung wurde der Agglutinin-gehalt für die homologen und heterologen Bakterien geprüft.

Versuch 1.

Ausfällung eines Suipestifer-Kaninchenserums mit echten Paratyphus B- und mit Breslaubazillen.

Da nur die labilotropen (grobflockenden) Agglutinine untersucht werden sollten, wurde das Immunsereum zwecks Entfernung etwa vorhandener stabilotroper Antikörper zunächst durch zweimaliges Ausfällen mit den 1 Stunde auf 100° erhitzten homologen Bakterien zu einem rein grobflockenden Serum gemacht. Die Ablesung und die Erkennung des Agglutinationstypus wird dadurch wesentlich erleichtert.

Das mit den erhitzten Bakterien vorbehandelte Serum agglutinierte die von Tier und Mensch stammenden Bakterien der Suipestifergruppe etwas schwächer als vorher, die Bakterien der Paratyphusgruppe dagegen in unveränderter Stärke.

Nunmehr zweimalige Ausfällung mit lebenden Paratyphus B- bzw. Breslaubazillen.

Zur Ausfällung benutzte Stämme:

- a) Erhitzte Bakterien: Kunzendorf und Ferkeltyphus,
- b) Paratyphus B 865 und 1420,
- c) Aertryck und Breslau III.

Technik: Der gut gewachsene Rasen einer Agarplatte (24 Stunden 37°) wird mit 5 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt; die Aufschwemmung wird zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und der Bodensatz mit 5 ccm der Serumverdünnung 1:500 gut durchgeschüttelt und 1 Stunde bei 37° im Brutschrank gehalten.

Immunsereum: Suipestifer 706 Gesundheitsamt. Für die liebenswürdige Ueberlassung des sehr hochwertigen Serums sind wir Herrn Reg.-Rat Manteufel zu Dank verpflichtet.

Stämme: Die Stämme Paratyphus B 865 und 1420 waren im Institut bei echten Paratyphusfällen gezüchtet worden, Stamm Aertryck ist ein alter Laboratoriumsstamm des Instituts, Breslau III ein bei einer Gastroenteritis gefundener Stamm von Herrn Prof. Bitter (vgl. diese Zeitschr.,

1) Zu dieser gehören nach ihrem serologischen Verhalten die Paratyphus β-Stämme. Die Bezeichnung Bazillus Ersindjan Neukirch ist mit Paratyphus β Weil und Saxl synonym und gleichberechtigt. Als Ersindjanstämme im engeren Sinn werden im folgenden die von mir in Kleinasien gezüchteten Stämme im Gegensatz zu den europäischen von Weil bezeichnet. Eine Abtrennung der kleinasiatischen von den letzteren ist damit nicht beabsichtigt.

Orig., Bd. 33, S. 522). β 2 und β 5 sind Para β -Stämme von Herrn Prof. Weil, E 1, E 14, E 18 von mir in Kleinasien gezüchtete Para β -Stämme. Kunzendorf, Ferkeltyphus und Voldagsen wurden uns vom Reichsgesundheitsamt überlassen.

Stämme	Serum					
	unbehandelt		ausgefällt mit			
			Paratyphus B		Breslau	
Agglutinations- Typus	Titer	Agglutinations- Typus	Titer	Agglutinations- Typus	Titer	
Paratyphus B 865	grob	5 000		$\frac{1}{500}$ —		—
Paratyphus B 1420	"	2 000		—		—
Aertryck	"	2 000		—		—
Breslau III	"	5 000		—		—
β 2	"	5 000		—		—
β 5	grob + fein	50 000	grob	20 000	grob	2000
E 1	dgl.	20 000	"	5 000	"	5000
E 14	"	50 000	"	5 000	"	5000
E 18	"	50 000	"	10 000	"	5000
Suipestifer Kunzendorf	"	10 000	"	5 000	"	5000
Ferkeltyphus	"	50 000	"	5 000	"	5000
Voldagsen	"	20 000	"	5 000	"	5000
Ferkeltyphus 100°	fein	$\frac{1}{500}$ + +		—		—

Ablesung mit Agglutinioskop nach 2 Stunden 37°.

Vorbehandlung mit echten Paratyphus B-Bazillen hat also die labiltropen Agglutinine für die echten Paratyphus B-Bazillen sowie auch für die Breslaubakterien aus dem Serum entfernt. Ganz ebenso hat Vorbehandlung mit Breslaubakterien gewirkt. Dagegen sind noch reichlich grobflockende Agglutinine für die Stämme der Suipestifergruppe im Serum übrig geblieben, nur einer der β -Stämme wird von dem ausgefällten Serum nicht mehr agglutiniert. Es ist dies der Stamm β 2, also der Vertreter derjenigen Gruppe der Ersindjanstämme, die mit Paratyphus B besonders viele Rezeptoren gemeinsam hat. Dieser Stamm enthält demnach, soweit das wenigstens aus diesem Agglutinationsversuch nachweisbar ist, an thermolabilen Rezeptoren nur solche, die auch bei Paratyphus B vorkommen¹⁾. Die anderen untersuchten Suipestiferstämme enthalten dagegen daneben noch thermolabile Rezeptoren, die den eigentlichen Paratyphus B-, sowie den Breslaubazillen fehlen.

1) Mit dem Stamm hergestellte Immunsere lieferten dagegen auch noch spezifische grobflockende Suipestiferagglutinine (Weil und Felix, diese Zeitschr., 1920, S. 27).

Daß der Stamm β 2 trotzdem nicht etwa als ein echter Paratyphus B-Bazillus aufzufassen ist, ergibt sich aus den Untersuchungen von Weil und Felix über die thermostabilen Rezeptoren der β -Stämme. In bezug auf diese besteht nach Weil und Felix zwischen β 2 und den anderen β -Stämmen ein wesentlicher Unterschied nicht.

Der Versuch gibt eine Antwort auf die Frage, ob in dem geprüften Serum die labilotropen Paratyphus B-Agglutinine dem a-, b- oder c-Typus (s. o.) angehören: da sowohl Para B- wie Breslaubazillen die Agglutinine für Paratyphus B und für Breslau völlig entfernt haben, so kann es sich nur um die den beiden Formen gemeinsamen a-Agglutinine handeln. Ob daneben in stärkeren Serumkonzentrationen noch b oder c auftritt, muß offen gelassen werden.

Das Verhalten des Serums gestattet den Schluß, daß die als Antigen benutzten Suipestiferbakterien thermolabile Rezeptoren vom Typus der a-Rezeptoren der Paratyphus B und Breslaubakterien besitzen.

In einem zweiten Versuch wurde ein Paratyphus β -Immuns serum geprüft. Das Serum war durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit dem in Kleinasien gezüchteten Ersindjan- (Paratyphus β -)stamm E 14 gewonnen worden. Es agglutinierte 6 verschiedene Ersindjanstämme nach 2 Stunden bis zur Verdünnung 1:2000, Paratyphus B- und Breslaustämme nur bis 1:50, und zwar diese letzteren in rein groben Flocken. Ausfällung mit echten Paratyphus B-Bazillen entfernte die Agglutinine für Paratyphus B und Breslau.

Einzelheiten zeigt der folgende Ausfällungsversuch:

Versuch 2.

Ausfällung eines monovalenten Ersindjanserums mit echten Paratyphus B-Bazillen.

Prüfung der Agglutinine für Ersindjan, Paratyphus B und Breslau. Technik wie oben.

Kaninchenimmuns serum T 10; Stamm der Vorbehandlung E 14.

Serumverdünnung 1:25. Stamm der Ausfällung Paratyphus B 1420.

Bakterien	Serum	
	unbehandelt	ausgefällt mit Paratyphus B
Ersindjan 14	2000 grob + fein	2000 grob + fein
Ersindjan 18	2000 dgl.	2000 dgl.
Paratyphus B 1420	50 grob	—
Breslau III	50 „	—

Ablesung nach 2 Stunden 37 °.

Auch dies Ersindjanimmunserum enthält also die a-Agglutinine, die auf Paratyphus B und Breslaubakterien in gleicher Weise wirken. Für das Vorhandensein von b- und c-Agglutininen ergibt sich wiederum kein Anhaltspunkt.

Umgekehrt wurden nun auch die mit den Paratyphus β -Stämmen reagierenden grobflockenden Agglutinine der Paratyphus B- und Breslau-Immunsere untersucht. Der folgende Versuch gibt die Ausfällung eines echten Paratyphus B-Immunsere mit einem Breslaustamm wieder.

Versuch 3.

Ausfällung eines echten Paratyphus B-Immunsere mit einem Breslaustamm.

Das Immunkaninchenserum P 20 (hergestellt mit dem echten Paratyphus B-Stamm 865) wird in der Verdünnung 1:25 ausgefällt mit dem Stamm Breslau III.

Prüfung des Agglutinationstiter gegen Paratyphus B, Breslau und die Paratyphus β -Stämme E 14 und E 18 vor und nach der Ausfällung des Serums. Ablesung nach 2 Stunden 37°.

Stämme	Serum	
	unbehandelt	ausgefällt mit Breslau
Paratyphus B 1420	2000 grob + fein	2000 grob
Breslau III	500 dgl.	—
E 14	200	—
E 18	200	—

Die Ausfällung mit Breslau hat die groben Paratyphus B-Agglutinine intakt gelassen. Das Serum enthält also zweifellos für Paratyphus B streng spezifische grobe Agglutinine (b-Agglutinine). Die Agglutinine für die beiden E-Stämme sind dagegen aus dem Serum herausgezogen; sie gehören also wiederum zu denjenigen, die Paratyphus B und Breslau gemeinsam haben (a-Agglutinine).

Weiter wurden nun Breslauimmunsere untersucht. Da über das Verhalten der Paratyphus β -Bazillen gegen derartige Sera Angaben noch nicht vorliegen, so wurde zunächst festgestellt, wie weit von ihnen Paratyphus β -Bazillen überhaupt agglutiniert werden. Es zeigte sich hierbei genau dasselbe Verhalten wie gegen echte Paratyphus B-Immunsere. Der Stamm β 2 von Weil wurde in groben Flocken agglutiniert, nicht oder nur spurweise β 5. Von 8 kleinasiatischen Ersindjanstämmen wurden nur dieselben zwei Stämme (E 14 und E 18) beeinflusst, auf die auch die echten Paratyphus-

immunsera einwirkten. Hieraus ergibt sich, daß in den Breslaueris dieselben Agglutinine wie in den Paratyphus b-Seris, also die a-Agglutinine, wirksam sein müssen. Entsprechend zeigten Ausfällungsversuche, daß Vorbehandlung der Breslauerisera mit echten Paratyphus B-Bazillen die Agglutinine für die Paratyphus β -Stämme herausnahm. Auf die Wiedergabe dieser Versuche kann verzichtet werden, da sie in Technik und Ergebnis dem Versuch 3 völlig entsprechen.

Mit Rücksicht auf die Beziehungen, wie sie zwischen Paratyphus B- und Breslaubazillen sichergestellt sind (labile Rezeptoren: a und b, bzw. a und c) muß nun noch ein weiterer Schritt in der Analyse möglich sein. Es muß sich nämlich, was bei den bisherigen Versuchsanordnungen noch nicht gelang, ermitteln lassen, ob die a-Rezeptoren der β -Bazillen mit den a-Rezeptoren von Paratyphus B in Breslau im ganzen Umfang identisch sind oder ob sie nur einen größeren oder geringeren Anteil des gesamten a-Rezeptors darstellen.

Ist das erstere der Fall, so muß Ausfällung eines Breslauerisums (Typus a c) mit Stämmen vom β 2-Typus die a-Agglutinine aus dem Serum völlig entfernen, d. h. dem Serum die labilotropen Agglutinine auch für echte Paratyphus B-Bazillen (thermolabile Rezeptoren a b) nehmen.

Die in dieser Richtung angestellten Versuche fielen nicht ganz eindeutig aus. Wird ein Breslauimmunserum mit β 2-Bazillen ausgefällt, so verbleiben für Paratyphus B-Bazillen, abgesehen von den eventuell noch vorhandenen a-Agglutininen, jedenfalls noch feinflockende Agglutinine. Um ein klares Resultat zu erhalten, ist es erforderlich, auch diese noch zu entfernen, was durch Behandlung des Serums mit auf 100° erhitzten Paratyphus B- oder Breslaubakterien ermöglicht wird. Bei den bisher angestellten Versuchen entfernten nun die Bazillen des β 2-Typus die grobflockenden Paratyphus B-Agglutinine jedenfalls zum größten Teil. Es verblieb aber ein Rest von Paratyphus B-Agglutininen, bei denen sich der Agglutinationstypus nicht mit Sicherheit bestimmen ließ. Es gelang zwar die Entfernung der feinflockenden Agglutinine und auch die der grobflockenden für den zur Ausfällung verwendeten Stamm, es blieben im Serum aber noch grobflockende Agglutinine für andere Stämme der Suipestifergruppe zurück. Ein Beispiel bringt der folgende Versuch.

Versuch 4.

Ausfällung eines Breslauimmunserums mit erhitzten Breslaubazillen und lebenden Ersindjanbazillen.

Prüfung auf labilotrope Agglutinine für Breslau, Paratyphus B, Ersindjan- und Tierstämme der Suipestifergruppe.

Immunkaninchenserum T 13, hergestellt durch Immunisierung mit Stamm Breslau III.

Je zweimalige Ausfällung des 50fach verdünnten Immunserums mit Breslau III (60' auf 100° erhitzt) und Ersindjanstamm E 18 lebend.

Stämme	Serum			
	unbehandelt		ausgefällt mit Breslau 100° + E 18 lebend	
	Agglutinations-Typus	Titer	Agglutinations-Typus	Titer
Paratyphus B 1420	grob + fein	1000	grob	100
Breslau III	dgl.	1000	„	500
Ersindjan E 18	grob	1000	—	—
Kunzendorf	„	1000	grob	100
Ferkeltyphus	„	1000	„	100
„Suipestifer“	„	1000	„	100

Ablesung nach 2 Stunden 37°.

Wie der Versuch zeigt, gelang trotz gänzlicher Entfernung der Agglutinine für E 18 die Ausfällung der Paratyphus B-Agglutinine nicht vollkommen, aber auch labilotrope Agglutinine für einige Stämme der Suipestifergruppe sind noch vorhanden. Dies spricht dafür, daß bei den einzelnen Stämmen der Gruppe der Anteil an a-Rezeptoren verschieden stark ist. Einen Anhaltspunkt für die Existenz einer besonderen Gruppe von a-Rezeptoren, die ausschließlich nur bei Paratyphus B und Breslau vorkäme, liefert der Versuch nicht. Immerhin wären hier noch weitere Versuche unter Variierung der Stämme und Immunsera erwünscht.

Zusammenfassend ergibt sich folgendes: Wenn wir die labilen Rezeptoren bzw. die zugehörigen Agglutinine der echten Paratyphusbazillen mit a und b, die der Breslaubakterien mit a und c bezeichnen, so entsprechen die Rezeptoren der Suipestifergruppe, und zwar sowohl der Tier- wie der Menschenstämme, niemals den Rezeptoren b und c, sondern, soweit sie mit denen der Paratyphusbazillen übereinstimmen, stets dem a-Rezeptor. Daneben finden sich in der Suipestifergruppe noch andere von den Paratyphusrezeptoren unterschiedene thermolabile Rezeptoren, deren Gesamtheit mit d bezeichnet sei.

Wenn wir noch die thermostabilen Rezeptoren mit großen Buchstaben eintragen, so ergibt sich das folgende Schema:

Echter Paratyphus A a b
 Breslau-Gruppe A^e a c
 Suipestifer-Gruppe B a d¹⁾

Aus dem Schema erhellt, daß wir in den Suipestiferbazillen, soweit sie a-Rezeptoren enthalten, also insbesondere in der β 2-Gruppe, ein bequemes Testobjekt auf den Gehalt der Paratyphus B- und Breslausera an a-Agglutininen haben. Während die Bestimmung des Agglutinationstypus bei der Agglutination der a-haltigen Paratyphus- und Breslaubazillen durch die Anwesenheit der A-Agglutinine erschwert wird, haben wir bei der Reaktion zwischen Paratyphus B- oder Breslauseris mit Bakterien vom Typus B a d lediglich den Effekt der a-Agglutinine vor uns.

II. Sind die Menschenstämme der Suipestifer-Gruppe (Paratyphus β , Bazillus Ersindjan) von den Tierstämmen (Ferkeltyphus, Kunzendorf, Voldagsen) in ihrem Rezeptorenapparat verschieden?

Ueber diese Frage liegen bereits Untersuchungen von Weil und Felix vor. Diesen Autoren gelang es nicht, Unterschiede nachzuweisen. Ihre Versuche sind aber deshalb nicht als abschließend zu betrachten, weil sie sich nur auf Stichproben beschränkten und weil in ihren Ausfällungsversuchen nur ein Paratyphus β und ein Paratyphus B-Serum, nicht aber auch Immusera, die mit den Tierstämmen hergestellt waren herangezogen wurden. Wir hielten aus diesem Grunde eine weitere Prüfung dieser Frage für erwünscht, ferner auch deshalb, weil es uns im Gegensatz zu manchen Angaben in der Literatur mit Regelmäßigkeit gelang, innerhalb der Suipestifergruppe eine Differenzierung auf Grund des biochemischen Verhaltens vorzunehmen. Die Angaben von Pfeiler²⁾, daß die Menschenstämme (Paratyphus β , Ersindjan) von den eigentlichen Suipestiferstämmen und diese vom Suipestifer Kunzendorf zu unterscheiden sind, können wir,

1) Nur gelegentlich besteht zwischen Paratyphus B- und Paratyphus β -Bazillen eine geringfügige Gemeinschaft thermostabiler Rezeptoren.

2) in Friedberger-Pfeiffer, Lehrbuch der Bakt., 1918; Pfeiler und Engelhardt, diese Zeitschr., Bd. 28, 1919, S. 339.

wenigstens für die von uns geprüften Stämme, durchaus bestätigen. Ein schwankendes Verhalten¹⁾ haben wir dabei nicht feststellen können. Die Ergebnisse waren im Jahre 1921/22 nicht anders als im Jahre 1919 und teilweise 1917/18.

Ergänzend sei hinzugefügt, daß auch mit Hilfe des von Lange²⁾ angegebenen polytropen Nährbodens die Unterscheidung der Paratyphus β -Stämme von den Tierstämmen der Suipestifergruppe leicht gelang. Die letzteren bildeten bis zum 5. Tage kein Gas, während bei den europäischen und kleinasiatischen Paratyphus β -Stämmen meist schon nach wenigen, spätestens aber nach 24 Stunden starke Gasbildung auftrat. Farbveränderungen waren bei den Tierstämmen der Suipestifergruppe („Suipestifer“, Kunzendorf, Ferkeltyphus, Glässer) nach 24 Stunden überhaupt nicht, später nur bei einzelnen Stämmen in geringem Grade zu bemerken, dagegen bei den β -Stämmen schon nach 24 Stunden im Sinne der auch durch Paratyphus B, Breslau und Gärtner hervorgerufenen Veränderungen vorhanden (Gelbfärbung des inneren Schenkels, ins Violette spielende, dann schmutzig bläuliche, schließlich in blau umschlagende Verfärbung des aeroben Schenkels).

Auch Manteufel, Zschucke und Beger (a. a. O. S. 224) haben in einem Teil ihrer Versuche den Doppeltypus der Rezeptoren berücksichtigt. „Eine praktisch brauchbare Unterscheidung zwischen den Voldagsen-, Glässer- und Ferkeltyphusbazillen untereinander und eine Abtrennung von den Pestiferbazillen“ ist ihnen „weder serologisch noch kulturell gelungen“.

Ebensowenig haben unsere eigenen Versuche über das serologische Verhalten des Paratyphus β (Ersindjan) und der eigentlichen Suipestiferstämme zu einem praktisch verwertbaren Resultat geführt. In der Mehrzahl der unter Berücksichtigung des Agglutinationstypus ausgeführten Ausfällungsversuche war ein besonderes Verhalten der Menschen- oder der Schweinestämme nicht zu beobachten. Im Gegenteil kann in Uebereinstimmung mit Weil und Felix festgestellt werden, daß in der Hauptmasse der thermostabilen und der thermolabilen Rezeptoren Gleichheit besteht.

Im folgenden sei als Beispiel ein Versuch wiedergegeben, in dem insbesondere auf Verschiedenheiten in den thermolabilen Rezeptoren gefahndet wurde (Versuch 5).

1) Vgl. Uhlenhuth, Centralbl. f. Bakt., Bd. 64, 1912; Händel und Gildemeister, diese Zeitschr., Bd. 11, 1914, S. 304.

2) Lange, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, 1912, Beih. S. 60.

Versuch 5.

Ausfällung eines Suipestifenserums mit erhitzten Suipestifer- und lebenden Paratyphus β -Bazillen.

Es wurden durch Vorbehandlung mit 2 erhitzten Stämmen der Suipestifergruppe zunächst die stabilotropen Agglutinine entfernt. Dann wurde das Serum mit 2 verschiedenen lebenden β -Stämmen ausgefällt. Die Prüfung an 6 β -Stämmen und drei Vertretern der Suipestifergruppe zeigt, daß im Verhalten der groben Agglutinine grundsätzliche Unterschiede nicht auftreten.

Ausfällung des Suipestifenserums 706 Ges.-Amt mit

- 1) Kunzendorf und Ferkeltyphus 100° 60 Minuten,
- 2) den Para β -Stämmen β 5 und E 18 lebend.

Serumverdünnung $\frac{1}{500}$.

Stämme	Serum	
	unbehandelt	nach Ausfällung
β -Stämme E 1	20 000	500 g
E 7	10 000	500 „
E 14	50 000	1000 „
E 18	50 000	1000 „
β 2	5 000	—
β 5	50 000	1000 g
Suipestifer Kunzendorf	20 000	1000 „
Ferkeltyphus	50 000	1000 „
Voldagsen	20 000	1000 „
Paratyphus B 865	5 000	—
„ 1420	2 000	—
Breslau IV	10 000	—
Aertryck	2 000	—

Ablesung nach 2 Stunden 37°.

Die Ausfällung mit den homologen erhitzten Bakterien hat das Serum von den stabilotropen Agglutininen befreit, die β -Stämme haben das Serum für sich selbst zwar nicht völlig, aber doch recht weitgehend erschöpft, annähernd gleich stark ist die Erschöpfung für die Stämme Kunzendorf, Ferkeltyphus und Voldagsen. Ein durchgreifender Unterschied innerhalb der Stämme der Suipestifergruppe besteht hier also nicht.

Die letzten Zeilen der Tabelle bilden eine Ergänzung zu Versuch 1. Sie zeigen, daß die Vorbehandlung mit β -Stämmen die labilotropen Agglutinine für Paratyphus B und Breslau in gleicher Weise entfernt hat.

Aehnliche Versuche wurden mit Voldagsen-, Ferkeltyphus- und B-Immunsenis angestellt. In der Regel ergaben auch sie keine durchgreifenden Unterschiede.

Einzelne Versuche mit bestimmten Seris weisen aber doch auf das Bestehen einer gewissen Differenzierung hin. Zwei derartige Versuche seien hier mitgeteilt.

Versuch 6.

Ausfällung eines Suipestifer Kunzendorfmunserums mit Paratyphus β -Bazillen.

Prüfung des Agglutinationstiters für verschiedene Stämme der Suipestifergruppe und für einen Paratyphus B- und Breslaustamm.

Kaninchenimmunserum T 30, erzeugt mit St. Suipestifer Kunzendorf. Stamm der Ausfällung: Ersindjan E 18.

Von der Serumverdünnung $\frac{1}{60}$ werden 10,0 ccm zweimal mit der Ernte von je zwei Agarplatten E 18 ausgefällt.

Stämme	Serum					
	unbehandelt			ausgefällt mit E 18		
	Agglutinations- Typus	Titer nach Std.		Agglutinations- Typus	Titer nach Std.	
	2	20	2	20	20	
Paratyphus β : β 2	g + f?	200	200	.	—	—
β 5	g + f	1000	5000	.	—	—
E 1	dgl.	500	2000	.	—	—
E 18	„	500	2000	.	—	—
Suipestifer Kunzendorf	„	2000	2000	g?	100	500
Voldagsen	„	1000	1000	g	200	200
Glässer	„	2000	5000	„	200	200
Ferkeltyphus	„	2000	5000	„	200	200
Paratyphus B	g	100	200	.	—	—
Aertryck	„	200	200	.	—	—

Wie die Tabelle zeigt, bestehen hier bereits beim un- behandelten Serum gewisse Unterschiede in der Agglutination der Paratyphus β 2- und der tierischen Suipestiferstämmen. Nach 2 Stunden werden die β -Stämme nur schwach agglutiniert, bei längerem Stehen hat sich der Unterschied verwischt. Dies Verhalten spricht für Unterschiede in den thermolabilen Rezeptoren; denn die grobflockige Agglutination ist in der Regel nach 2 Stunden abgeschlossen, während die feinflockenden Agglutinine viel langsamer wirken. Der Ausfällungsversuch bestätigt diese Vermutung: das Serum ist für die Paratyphus β -Stämme unwirksam geworden, während grobflockende Agglutinine, wenn auch in geringerem Grade, für die vom Schweine herührenden Stämme der Suipestifergruppe noch erhalten sind.

Der Versuch ergibt also, daß die geprüften Suipestiferstämmen thermolabile Rezeptoren haben, die den β -Stämmen fehlen. Hiermit stimmt überein, daß in hier nicht ausführlich wiedergegebenen Ausfällungsversuchen mit Kunzendorf, Ferkeltyphus und Voldagsen stets das Serum T 30 für sämtliche Bakterienstämme des Versuchs 6 völlig erschöpft wurde.

In dem folgenden Versuch wurde ein Paratyphus β -Immunserum mit einem Paratyphus β -Stamm (E 18), ferner mit Kunzendorf und mit Ferkeltyphus ausgefällt.

Versuch 7.

Ausfällung des Kaninchenimmunserums 117, gewonnen durch Vorbehandlung mit dem Paratyphus β -Stamm E 18.

Vom 50fach verdünnten Serum werden je 10,0 ccm zweimal ausgefällt mit der Ernte von je zwei Agarplatten der Stämme E 18, Kunzendorf, Ferkeltyphus.

Stämme	Serum							
	unbehandelt		ausgefällt mit					
			E 18		Kunzendorf		Ferkeltyphus	
	Agglutinat.-Titer	Typus	Agglutinat.-Titer	Typus	Agglutinat.-Titer	Typus	Agglutinat.-Titer	Typus
E 1	2000	g + f	—	.	200	g	200	g
E 18	2000	dgl.	—	.	200	„	200	„
β 5	5000	„	—	.	200	„	200	„
Kunzendorf	2000	„	—	.	—	—	—	.
Ferkeltyphus	5000	„	—	.	—	—	—	.
Voldagsen	2000	„	—	.	—	—	—	.
Paratyphus B1420	200	g	—	.	—	—	—	.
Aertryck	100	„	—	.	—	—	—	.

Dieser Versuch bildet in seinem Ergebnis ein Gegenstück zum Versuch 6. Behandlung mit den homologen Bakterien hat das Serum völlig unwirksam gemacht; Kunzendorf und Ferkeltyphus haben dagegen für die Paratyphus β -Bazillen, und zwar nur für diese, noch labilotrope Agglutinine im Serum gelassen. Es muß also angenommen werden, daß die hier untersuchten β -Stämme gewisse thermolabile Rezeptoren besitzen, die den anderen im Versuch geprüften Stämmen fehlen.

Es gibt also neben den identischen auch differente thermolabile Paratyphus β - und Suipestiferrezeptoren.

In weiteren Versuchen muß festgestellt werden, ob sie bei allen Stämmen der betreffenden Gruppe regelmäßig auftreten. Das Entscheidende für den Nachweis ist die Auswahl geeigneter Sera. Negative Resultate beweisen das Fehlen der gesuchten Rezeptoren durchaus nicht, da diese infolge der „Unvollständigkeit“ der betreffenden Sera ¹⁾ verborgen bleiben können.

1) Vgl. Manteufel und Beger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 67, 1921, S. 161, und Schiff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1922, S. 511.

Immerhin ergibt sich aus den bisherigen Versuchen, daß die jeweils streng spezifischen Rezeptoren nur einen kleinen Anteil im gesamten Rezeptorenapparat bilden und eine praktisch diagnostische Bedeutung infolgedessen nicht beanspruchen können. In theoretischer Hinsicht ist ihre Existenz aber von erheblichem Interesse.

Die vorstehenden Ausführungen bezogen sich im wesentlichen auf die thermolabilen Rezeptoren. Anhaltspunkte dafür, daß innerhalb des thermostabilen Rezeptorenanteils Differenzen zwischen Paratyphus β - und den tierischen Suipestiferstämmen bestehen, haben sich nicht ergeben. Auch hier ist es aber nicht ausgeschlossen, daß eine feinere Analyse, für die die Methodik durch die schönen Untersuchungen von Weil und Gruschka vorgezeichnet ist, noch geringe regelmäßig bestehende Differenzen aufdeckt.

Zusammenfassung.

1) Ein Teil der serologisch zur Suipestifergruppe gehörenden Bakterien wird durch Paratyphus B- bzw. Breslau-Immuneserum grobflockig agglutiniert. Die hierbei wirkenden Agglutinine entsprechen Rezeptoren, welche sich sowohl in den echten Paratyphus B-Bazillen wie in den Bakterien der Breslaugruppe nachweisen ließen (a-Rezeptoren). Die in früheren Versuchen nachgewiesenen, für echte Paratyphus B-Bazillen einerseits, für Breslaubazillen andererseits streng spezifischen labilotropen (b und c) Agglutinine reagieren mit den Bazillen der Suipestifergruppe nicht.

2) Innerhalb der Suipestifergruppe lassen sich durchgreifende serologische Unterschiede zwischen den beim Menschen vorkommenden Paratyphus β - (= Ersindjan-)Bazillen und den beim Schweine gezüchteten Stämmen nicht nachweisen. In der Hauptsache stimmen vielmehr die thermostabilen und die thermolabilen Rezeptoren der Menschen- und Tierstämme überein. Mit geeigneten Seris gelang es aber neben dem Gros der gemeinsamen Rezeptoren auch in geringer Anzahl thermolabile Rezeptoren nachweisen, die einerseits für die Paratyphus β -Stämme des Menschen, andererseits für die Suipestiferstämme des Schweines streng spezifisch waren.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie E. v. Behring,
Marburg (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

**Untersuchungen zur Frage der wechselseitigen Vakzine-
und Maul- und Klauenseucheimmunität bei Rindern und
Meerschweinchen ¹⁾.**

Von **P. Uhlenhuth** und **W. Bieber**.

Mit 1 Tafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Mai 1922.)

Wir wissen, daß die Spezifität in der Immunitätslehre kein absoluter Begriff ist, da sie an quantitative Bedingungen geknüpft ist. Wir sehen das an dem Uebergreifen spezifisch agglutinierender Sera auf verwandte Bakterien, wie z. B. in der Paratyphusgruppe. Bekannt ist die Verwandtschaftsreaktion bei präzipitierenden Seris, die uns mit Hilfe der üblichen Methodik nicht gestattet, Menschen- und Affenblut, Pferde- und Eselblut mit Sicherheit zu unterscheiden. Man könnte sich daher sehr gut vorstellen, daß auch ein Uebergreifen einer aktiven und passiven Schutzwirkung bei verschiedenen Infektionskrankheiten stattfinden kann, die bezüglich ihrer Erreger eine gewisse Verwandtschaft zeigen. Der eine von uns (Uhlenhuth) hat sich seit Jahren bereits mit diesem Problem beschäftigt und zahlreiche Versuche in dieser Richtung angestellt und hat mit besonderer Berücksichtigung der Schlafkrankheit und Syphilis auch die Frage studiert, ob man durch Infektion mit für eine Tierart unschädlichen Protozoen (Trypanosomen, Spirochäten) Immunität gegen pathogene würde erzeugen können. Rabinowitsch-Kempner ist mit *Trypanosoma Lewisii* eine Immunisierung gegen Dourine gelungen, aber dieser positive Erfolg war eine seltene Ausnahme. Hochgradig gegen *Trypanosoma Lewisii* immunisierte Tiere fielen nach den

1) S. auch *Klin. Wochenschr.*, 1922, No. 15.

Untersuchungen von Uhlenhuth, Hübener und Woithe der Nachimpfung mit Dourine zum Opfer¹⁾. Daß man mit Rekurrensspirochäten bei Ratten wenigstens die Resistenz gegen Dourine erhöhen kann, haben diese Autoren ebenso wie Trautmann gezeigt. Mit Hühnerspirochäten vorbehandelte Ratten zeigten in unseren Versuchen gegen Rekurrens keine Immunität. Die Vorbehandlung gesunder Kaninchen mit großen Mengen spirochätenhaltigen Hühnerblutes schützte das Kaninchen nicht gegen Infektion mit Syphilis; ebensowenig vermochte das Serum von Hühnern, die die Hühnerspirillose überstanden haben, schon bestehende syphilitische Produkte beim Kaninchen zu beeinflussen²⁾. Erwähnt seien in diesem Zusammenhange auch Versuche von Hidaka (diese Zeitschr., Bd. 17, S. 443), der zeigte, daß Affen, die mit Syphilis infiziert sind, noch empfänglich sind für Infektion mit der Spirochäte des afrikanischen Rückfallfiebers. Ebenso lassen sich gegen Rekurrens immunisierte Affen mit Syphilis infizieren. Von besonderem Interesse erschien uns das Studium der Frage, ob zwei Krankheiten, wie Vakzine und Maul- und Klauenseuche, deren Erreger wir noch nicht kennen, die aber eine so ausgesprochene Immunität hinterlassen, sich gegenseitig immunisatorisch beeinflussen. Bei der zweifellos bestehenden Verwandtschaft der betreffenden filtrierbaren dermatropen Vira erschien das sehr wohl möglich.

Die Preußische Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche (Löffler, Frosch und Uhlenhuth) hatte bereits im Jahre 1897 die Frage der wechselseitigen Vakzine- und Maul- und Klauenseucheimmunität bei Rindern in negativem Sinne beantwortet. Trotzdem waren immer wieder Mitteilungen in der Literatur aufgetaucht (Seibert, Ory u. a.), welche einen Schutz nach überstandener Vakzineinfektion gegenüber der Maul- und Klauenseuche behaupteten. Aus dem Bericht der Kommission (Deutsche med. Wochenschrift, 1898) geht hervor, daß damals die Vakzineinfektion in der Weise erfolgte, daß nur eine einmalige kutane Impfung

1) Uhlenhuth, Hübener und Woithe, Arb. aus dem Reichs-Gesundheitsamt, Bd. 27, Heft 2.

2) Uhlenhuth und Mulzer, Arb. aus dem Reichs-Gesundheitsamt, Bd. 44, Heft 3.

vorgenommen wurde. Es war immerhin möglich, daß bei dieser einfachen Vakzination ein ausreichender Schutz gegenüber Maul- und Klauenseuche nicht erzielt war, daß aber bei hochimmunisierten Tieren vielleicht ein Uebergreifen der Vakzineimmunität auch auf die Maul- und Klauenseuche vorhanden sein könnte. Da eine solche Möglichkeit nicht nur eine wissenschaftliche, sondern auch eine praktische Bedeutung haben konnte, zogen wir das Studium dieser Frage in den Kreis unserer Untersuchungen. Als Versuchstiere wurden von uns Rinder und Meerschweinchen gewählt, da es immerhin nicht ausgeschlossen war, daß die verschiedenen Tierarten sich verschieden verhielten. Bei der Auswahl der Versuchstiere, besonders der Rinder, wurde mit peinlichster Sorgfalt darauf geachtet, daß nur solche junge Tiere genommen wurden, die nachweislich nie die Maul- und Klauenseuche gehabt hatten, auch von durchseuchten Tieren nicht abstammten. Sie wurden von uns persönlich direkt von den Gehöften gekauft, auf denen die Seuche nachweislich nie geherrscht hatte. Wir können somit mit aller Sicherheit behaupten, daß es sich um völlig einwandfreie Tiere handelte. Wir lassen nun die Protokolle unserer Versuche folgen :

Färsen No. 38.

- 15. VIII. 21 angekauft.
- 16. VIII. 21. 3 ccm Grothsche (München) Lymph IV. (5:15).
- 25. VIII. 21. 5 ccm Grothsche Lymph IV.
- 6. X. 21. 18 ccm Grothsche Lymph (10:8) IV.; gleichzeitig skarifiziert an linker Halsseite und gleiche Lymph eingegeben.
- 14. X. 21. An der skarifizierten Stelle Bläschen, Pusteln.
- 18. X. 21. 30 ccm Pissinsche (Berchtesgaden) Lymph (15:15) IV.
- 21. X. 21. Rechte Halsseite skarifiziert und Lymph eingegeben.
- 27. X. 21. An der Impfstelle keine Erscheinungen; Färsen immun.
- 9. XI. 21. Rechte Brustseite skarifiziert und Grothsche Lymph eingegeben.
- 20. XI. 21. Impfstelle vollständig reaktionslos. Das Tier hat im ganzen 31 ccm Vakzine IV. bekommen.
- 25. XI. 21. In den Seuchenstall zu Freiham (Bayern) eingestellt.

Färsen No. 39.

- 20. VIII. 21 angekauft.
- 23. VIII. 21. 3 ccm Lymph IV.

- 1 IX. 21. 4 ccm Berliner Lymphe iv.
 29. IX. 21. 6 ccm Kasseler Lymphe iv.; gleichzeitig skarifiziert und Lymphe eingerieben.
 6. X. 21. Skarifikationsstelle stark infiltriert, Krusten.
 11. X. 21. Borkenbildung auf der gesamten Skarifikationsfläche.
 13. X. 21. Borkenbildung und Infiltration halten sich auf der Höhe.
 15. X. 21. Deutliches Abklingen.
 20. X. 21. Keine Infiltrate mehr (Borken sitzen fest auf).
 21. X. 21. 10 ccm Hannoversche Lymphe und 2 ccm Grothsche Lymphe.
 27. X. 21. Skarifikation der rechten Halsseite mit Kasseler Lymphe.
 30. X. 21. Impfstelle reaktionslos, immun.
 9. XI. 21. Skarifikation der rechten Brustseite mit Grothscher Lymphe.
 18. XI. 21. Impfstellen völlig reaktionslos. Das Tier hat im ganzen 29 ccm Lymphe iv. bekommen.
 25. XI. 21. In den Seuchenstall zu Freiham (Bayern) zusammen mit Färsen No. 38 eingestellt.

Die Kontrolle und fortlaufende Beobachtung der Tiere erfolgte auf Anweisung des bayrischen Ministeriums in dankenswerter Weise durch Herrn Bezirkstierarzt Dr. Rasberger.

Es folgt der Bericht des Herrn Oberveterinärrats Dr. Rasberger über das Schicksal dieser Tiere im Seuchenstall Freiham:

Am Freitag, den 25. November, 11 Uhr vormittags, kamen in Freiham mit der Eisenbahn zwei Jungrinder, und zwar ein Jungrind, weiblich, weißgelb gefleckt (39) und ein ca. $\frac{1}{2}$ Jahr altes weibliches Holländer Jungrind, schwarz mit weißen Beinen (38) an. Wiewohl ich die Gutsverwaltung Freiham ausdrücklich gebeten hatte, mich von der Ankunft umgehend zu verständigen, erfuhr ich leider die Ankunft der Tiere erst am 26. November mittags, so daß die Temperaturen der Tiere alsbald nach der Ankunft der Tiere nicht festgestellt werden konnten.

Die beiden Jungrinder waren in den seit 24. November frisch verseuchten Kuhstall zwischen die am schwersten erkrankten Tiere eingestellt worden und zeigten bei meiner Ankunft am 26. November abends neben einem ausgezeichneten Appetit — die Tiere fraßen wie ausgehungert — eine Temperatur von 39° C (Gelbscheck) und 37,8° C (Holländer); vom 26. November abends ab wurde die Rektaltemperatur bei jedem Tiere morgens, mittags und abends gemessen durch den sehr brauchbaren Oberschweizer und durch mich, bzw. bei meiner anderweitigen Inanspruchnahme durch meinen Sohn, Tierarzt Gottfried Rasberger, kontrolliert. Die Tiere wurden am 26., 28., 29. November mit dem Speichel schwerkranker Tiere durch Einreiben auf die Maulschleimhaut infiziert, zeigten aber außer Temperaturerhöhung bis 40° C (Gelbscheck) und bis 41° C (Holländer)

auch keine Spur eines von außen erkennbaren Maul- und Klauenseuchesympptomes, ja vielmehr fraßen die Tiere auch bei den höchstbezeichneten Rektaltemperaturen mit unsagbarem Appetit alles, was man ihnen vorsetzte. Es wurde niemals Schüttelfrost beobachtet, kein Speicheln und nicht die Spur von Maulschleimhauterosionen oder Klauenhautgeschwüren.

Bemerken möchte ich noch, daß der Seuchencharakter unter 72 Kühen — Notimpfung wurde nicht vorgenommen, die Tiere waren auch im Vorjahre nicht verseucht gewesen — wenn er auch kein auffallend böserartiger war, aber sicher nicht harmlos genannt werden kann, ging doch eine Kuh plötzlich an der bekannten Herzmuskeldegeneration zugrunde. Folgende Rektaltemperaturen wurden vom 26. November bis 13. Dezember beobachtet:

	Gelbscheck No. 39	Holländer No. 38		Gelbscheck No. 39	Holländer No. 38
26. XI.	A. 39,0	37,8	5. XII.	Mo. 38,5	39,0
27. XI.	Mo. 39,9	38,0		Mi. 38,7	39,8
	Mi. 40,0	38,6		A. 38,9	38,8
	A. 39,0	38,8	6. XII.	38,7	38,8
28. XI.	39,5	38,5		38,8	38,6
	39,4	38,9		38,8	38,9
	38,7	39,1	7. XII.	38,7	39,0
29. XI.	39,0	38,9		38,8	38,9
	38,9	38,8		38,6	38,9
	39,4	40,3	8. XII.	38,7	38,9
30. XI.	38,8	39,7		38,6	38,7
	39,1	40,1		38,7	38,9
	39,0	41,0	9. XII.	38,8	39,0
1. XII.	39,4	39,8		38,7	38,9
	40,0	40,6		38,8	39,0
	39,5	40,7	10. XII.	38,6	38,8
2. XII.	38,0	40,0		39,1	39,0
	39,9	39,5		38,6	38,7
	39,8	39,4	11. XII.	38,6	38,9
3. XII.	39,6	38,6		38,8	38,9
	39,7	39,7		38,6	38,8
	39,3	39,0	12. XII.	38,8	38,6
4. XII.	38,6	38,7		38,6	38,7
	39,0	38,8		38,6	38,6
	38,8	38,5	13. XII.	38,9	38,7

Die Tiere sind also in einem schwer mit Maul- und Klauenseuche verseuchten Stalle auch nach 3maliger künstlicher Infektion gesund geblieben.

Die folgenden Versuche konnten wir selbst in der Umgebung Marburgs an Ort und Stelle kontrollieren.

Bulle No. 40 (Paralleltier zu Färse No. 38 und 39).

20. VIII. 21 angekauft.
 23. VIII. 21. 2 ccm Vakzine iv.
 1. IX. 21. 3 ccm Kasseler Vakzine iv.
 29. IX. 21. 6 ccm Kasseler Vakzine iv.; mit gleicher Lymphe Skarifikation am Halse.
 6. X. 21. Skarifikationsstelle stark infiltriert (Borken, Krusten).
 11. X. 21. Borkenbildung am stärksten ausgeprägt.
 15. X. 21. Abklingen der Erscheinungen.
 20. X. 21. Keine Infiltrate mehr. Durchfall. Diätfütterung.
 25. X. 21. Durchfall hält an.
 27. X. 21. 10 ccm Kälberruhrserum subkutan.
 29. X. 21. 12 ccm Vakzine iv.
 9. XI. 21. Skarifikation der rechten Brustseite mit Grothscher Lymphe.
 12. XI. 21. Impfstelle völlig reaktionslos; immun. Das Tier hat im ganzen 23 ccm Lymphe iv. bekommen.
 Am 24. XII. 21 wird das Tier in von Maul- und Klauenseuche befallenen Seuchenstall in der Nähe Marburgs zwischen schwerkranke Tiere eingestellt. Sogleich nach dem Eintreffen wird ihm Speichel von frisch erkrankten Tieren mit der Hand ins Maul gewischt.
 25. XII. 21. Dasselbe wiederholt.
 27. XII. 21. Kleine rote Pünktchen am Oberkiefer; Temperatur: morgens 41,4, mittags 41,3, abends 41,7.
 28. XII. 21. Speichelt. Blasen am Oberkiefer, am harten Gaumen unter der Zunge.
 29. XII. 21. Auch am Unterkiefer Blasen. Klauen o. B.
 2. I. 22. Tier frißt wieder; Geschwüre im Maule im Abheilen. Klauen sind ohne krankhaften Befund geblieben.

Es handelte sich um einen schweren Seuchengang. Von 21 Rindern sind 5 Tiere an Maul- und Klauenseuche eingegangen. 12 Tiere hatten auch Blasen an den Klauen. Der Besitzer des Hofes, der die Tiere selbst fütterte, bekam zwei halbpennigstückgroße Blasen an der Unterlippe. Abheilung nach 3 Tagen.

Einen bemerkenswerten Unterschied im Verlauf der Erkrankung zwischen dem immunisierten Rind No. 40 und den anderen Rindern konnten wir nicht feststellen.

Am 8. III. 22 wurden Rind No. 38 und 39 mit Lymphe Hannover, die durch das Kirsteinsche Eucupinotoxinverfahren von Nebenkeimen befreit war, am rechten Auge (Cornea

drei Impfstriche) skarifiziert. Die Impfung ging an, jedoch war der Verlauf milder als bei der Kontrolle¹⁾.

Von drei Rindern, die ungefähr in gleicher Weise mit Vakzine vorbehandelt waren und von der Haut aus sich als vakzineimmun erwiesen hatten, erkrankte also eins (No. 40) bei der Nachinfektion mit Maul- und Klauenseuche, zwei (No. 38 und 39) blieben gesund.

Das erkrankte Tier unterscheidet sich von den gesund gebliebenen nur dadurch, daß es längere Zeit nach der Vorbehandlung in den Seuchenstall kam — 4 Wochen später, und zwar in einen anderen Seuchenausbruch.

Das eine der in Freiham gesund gebliebenen Tiere, Färse No. 39, wurde nun am 31. III., also nach ca. 4 Monaten, wiederum in einen Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall zwischen frischkranke Tiere gestellt und mit Maul- und Klauenseuchespeichel infiziert. Nach 5 Tagen erkrankte es an Maul- und Klauenseuche mit Blasen am Ober- und Unterkiefer und Temperaturerhöhung. Das würde dafür sprechen, daß das Tier in Freiham vor einer Maul- und Klauenseucheerkrankung tatsächlich bewahrt geblieben ist.

Stier No. 66.

28. XII. 21. 10 ccm Vakzine iv. Das Tier ist nach der Impfung kurzatmig, erholt sich aber bald wieder.
4. I. 22. Pusteln am harten Gaumen, Oberkiefer, Unterkiefer, Oberlippe und am Naseneingang. Entzündung der Augenbindehaut. Die Pusteln werden auf Kaninchen und Meerschweinchen verimpft, und zwar in die skarifizierte Rückenhaut. Bei den Meerschweinchen haben sich am 6. I., bei den Kaninchen am 7. I. schöne Pockenpusteln entwickelt.
7. I. 22. Der Stier frißt schlecht. Ober- und Unterkiefer ist übersät von zahlreichen Pusteln und Erosionen.
13. I. 22. Unterfläche der Zunge bedeckt mit scharfumschriebenen pustulösen Stellen von Linsengröße; am Unterkiefer ähnlicher Befund. Keine Blasen.
17. I. 22. Noch zahlreiche geschwürige Gebilde.
23. I. 22. Die Erscheinungen gehen im allgemeinen zurück, am harten Gaumen einige frische Stellen.

1) Ueber die Augenversuche wird Prof. Grüter von der hiesigen Universitäts-Augenklinik berichten (s. die folgende Arbeit).

25. I. 22. Alle Erscheinungen sind im Abheilen.
 10. II. 22. Kommt in einen Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall in der Nähe Marburgs. Dem Stier wird sofort Futter, an dem massenhaft Speichel von maul- und klauenseuchekranken Tieren haftet, zum Fressen gegeben, nachdem es zwischen frisch erkrankte Tiere gestellt war.
 13. II. 22. Frißt schlecht, speichelt etwas, Temperatur steigt auf 40,3.
 14. II. 22. Blasen an der Zunge und am harten Gaumen werden festgestellt (Klauen o. B., Temperatur fällt).
 15. II. 22. Normale Temperatur, die Klauen sind frei geblieben.
 Es handelte sich um einen leichten Seuchengang, Tiere sind nicht eingegangen, 2 von 14 Rindern hatten auch Erscheinungen an den Klauen.

Rind No. 68.

28. XII. 21. 10 ccm Vakzine iv.; kurzatmig.
 4. I. 22. Ober- und Unterlippe und Unterkiefer mit Pusteln übersät. Material wird auf Kaninchen und Meerschweinchen gebracht (in die skarifizierte Rückenhaut eingerieben bzw. Meerschweinchen in die skarifizierten Metatarsen). Es entwickeln sich charakteristische Pockenpusteln.
 13. I. 22. Hat noch im Maul einige gelbeitrige Erosionen.
 17. I. 22. Frische Lymphe kutan auf die rasierte Rücken-
 haut verimpft.
 23. I. 22. Impfstellen sind nicht angegangen. Tier gegen Vakzine also immun.
 4. II. 22. Die Erosionen im Maul sind abgeheilt.
 Kommt in einen Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall in der Nähe Marburgs. Das Tier wird zwischen frisch erkrankte Rinder gestellt.
 9. II. 22. Frißt gut. Im Maul noch keine Erscheinungen von Maul- und Klauenseuche. Temperatur regelrecht.
 11. II. 22. Frißt schlecht, speichelt, Temperatur steigt bis auf 40,7. Im Maul Blasen.
 15. II. 22. Temperatur regelrecht. Blasen im Maul geschwürig zerfallen. Klauen sind frei geblieben.
 Leichter Seuchengang; bei dem Besitzer sind keine Tiere an Maul- und Klauenseuche eingegangen.

Färsen No. 55.

22. XII. 21. Frische Vakzine verimpft auf linke Bauchhaut (25 : 40) kutan. Gleichzeitig 5 ccm Vakzine iv.
 28. XII. 21. Auf der Hautimpffläche sind schöne Pockenpusteln zur Entwicklung gekommen.
 7. I. 22. Am Naseneingang unter der Zunge und im Oberkiefer mehrere pustulöse Gebilde.
 23. I. 22. Maul o. B. Pusteln auf der Bauchhaut abgeheilt.

30. I. 22. Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall. Das Rind wird zwischen frisch erkrankte Tiere gestellt und bekommt sogleich Futter, an dem reichlich Maul- und Klauenseuchespeichel haftet, zu fressen.
2. II. 22. Verminderte Freßlust; speichelt etwas. Temperaturerhöhung auf 40°. Im Unterkiefer, am harten Gaumen und an der Zunge je eine halbpennigstückgroße Blase.
6. II. 22. Normale Temperatur; die Erscheinungen im Maul haben sich nicht vermehrt. Klauen sind frei geblieben.
- Leichter Seuchengang; kein Todesfall an Maul- und Klauenseuche in dem Stall.

Stier No. 62.

24. XII. 21. 5 ccm Vakzine iv.
4. I. 22. Am harten Gaumen und im Oberkiefer papulo-pustulöses Exanthem.
16. I. 22. Maul o. B. 10 ccm Vakzine iv. — kurzatmig.
4. II. 22. Maul ohne Erscheinungen. Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall.
9. II. 22. Temperatur 40,5. Tier frißt schlecht. Am Oberkiefer eine Blase, an der Unterlippe mehrere hanfkorngroße Bläschen.
15. II. 22. Ober- und Unterkiefer, Unterlippe und Zunge frische Erosionen, Klauen o. B.
- Leichter Seuchengang.

Bulle No. 51.

20. XII. 21. 5 ccm Vakzine iv.
4. I. 22. Am harten Gaumen, Ober- und Unterkiefer, Ober- und Unterlippe papulo-pustulöses Exanthem.
13. I. 22. Die Erscheinungen im Maul sind fast ganz zurückgegangen; nur noch vereinzelte rote Flecken.
16. I. 22. 10 ccm Vakzine iv. — kurzatmig.
8. II. 22. Keine neuen Erscheinungen im Maul. 5 ccm Vakzine iv. — fällt nach der Impfung um, erholt sich schnell.
21. II. 22. Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall.
27. II. 22. Speichelt etwas, linkes Nasenloch Belag, Maul o. B. Temperaturerhöhung auf 40°.
1. III. 22. Auf der Zunge vorn eine oberflächliche Erosion, hinten zwei geplatzte Blasen. In der Nase Epithelschilferung. Temperatur regelrecht.
- Leichter Seuchengang. Von 12 Rindern erkrankten 7, die bereits im Herbst 1920 die Maul- und Klauenseuche überstanden hatten, nicht wieder an Maul- und Klauenseuche. 3 Kälber, die von durchseuchten Müttern abstammten, zeigten leichte Krankheitserscheinungen im Maul.

Bulle No. 52.

20. XII. 21. 5 ccm Vakzine iv.
 7. I. 22. Am Naseneingang, Oberlippe, harten Gaumen zahlreiche Erosionen (Vakzine). Augenbindehautentzündung rechts.
 16. I. 22. 10 ccm Vakzine iv.
 8. II. 22. 5 ccm Vakzine iv.
 18. II. 22. An der Oberlippe einzelne frische rote Flecken.
 25. II. 22. Linker Rücken (20×30) skarifiziert mit frischer Vakzine.
 28. II. 22. Auf der Impffläche zwei kleine verdächtige Stellen. Mit Eucupinlymphe rechte Cornea skarifiziert. Drei Impfstriche.
 4. III. 22. Mittelstarke bis schwere Reaktion an der Cornea.
 18. III. 22. 20 ccm Eucupinlymphe (Vakzine) iv.
 31. III. 22. Maul- und Klauenseuche-Seuchenstall.
 3. IV. 22. Temperatur 39,8°. Maul o. B.
 6. IV. 22. Auf der Zunge eine Blase, sonst o. B.
 Mittelschwerer Seuchengang.

Wie aus den Protokollen hervorgeht, beobachteten wir regelmäßig nach der intravenösen wie nach der kutanen Vorbehandlung mit Vakzine bestimmte Erscheinungen im Maul und seiner Umgebung: Pusteln, Papeln, rote Flecken, die, wie wir durch Verimpfung auf Kleintiere (Kaninchen und Meerschweinchen) feststellen konnten, das Vakzinevirus enthielten. Die Erscheinungen gingen allmählich zurück, ohne merkliche Narben zu hinterlassen. Schon jetzt möchten wir hervorheben, daß wir solche oder ähnliche Erscheinungen beim Meerschweinchen nach der Vakzinevorbehandlung nicht feststellen konnten.

In den Fällen, die wir selbst bis zum Schlusse verfolgen konnten, müssen wir eine wechselseitige Beeinflussung der Vakzine- und Maul- und Klauenseuche-Immunität verneinen, denn die Rinder sind trotz hochgradiger Immunität gegen Vakzine an Maul- und Klauenseuche erkrankt. Der positive Ausfall des Versuchs in F. bei München bleibt ungeklärt. Wenn hier eine gewisse Immunität vorhanden war, ist sie nur von kurzer Dauer gewesen (s. Tier 39). Praktisch kommt eine solche im Hinblick auf unsere anderen zahlreichen Versuche nicht in Betracht. Jedenfalls geht aus dieser Beobachtung hervor, wie vorsichtig man bei der Beurteilung von scheinbaren Immunitätserfolgen bei der Maul- und Klauenseuche sein muß.

Wir haben dann diese Frage weiter an Meerschweinchen geprüft. Nach der Verimpfung von Vakzine in die Haut der Metatarsen des Meerschweinchens (flache Einschnitte) sieht man lokal ähnliche Erscheinungen (siehe Tafel) wie nach der Infektion mit Maul- und Klauenseuchevirus (Waldmann, usw.). Die Blasen entstehen jedoch später, etwa 3—5 Tage nach der Impfung, während sie bei Maul- und Klauenseuche gewöhnlich schon nach 24 Stunden schön entwickelt sind. Die Vakzineblasen bleiben in ihrer Ausdehnung eng auf die Metatarsen beschränkt, während die Maul- und Klauenseuchebblasen vielfach bis auf die Zehen hinübergreifen. Aus den Vakzineblasen ist bei rechtzeitiger Abnahme (Kapillare) reichlich klare Lymphe zu gewinnen. Durch stete Weiterverimpfung dieses Blaseninhaltes haben wir einen Meerschweinchenstamm („Cavine“) erhalten, der bei diesen Tieren unverändert gut angeht und zu schöner Blasenbildung führt. Auch bei der Verimpfung auf Rinder ist die Cavine noch in der 28. Passage angegangen. Der negative Ausfall der Verimpfung der 16. und 20. Passage muß auf nicht mehr genau feststellbaren Versuchsfehlern beruhen (wahrscheinlich waren die betreffenden Rinder vakzineimmun).

Auch die kutane Verimpfung des Vakzinevirus in die Bauchrückenhaut des Meerschweinchens geht sehr gut an. Es erfolgt Pustelbildung, wie sie vom Kaninchen und Rind her bekannt ist. Das Meerschweinchen eignet sich also auch vorzüglich zu Vakzineversuchen.

Die Vorbehandlung der Meerschweinchen erfolgte nun durch kutane Impfung der Metatarsenhaut, der Bauchrückenhaut, ferner durch intraperitoneale und subkutane Injektionen einer nach dem Kirsteinschen Eucupinverfahren¹⁾ von Begleitbakterien befreiten Lymphe, die im Gegensatz zur nichtentkeimten Lymphe gut vertragen wird (keine Abszesse!), und von Kaninchenhirnemulsion (Marie), die das Pockenvirus enthält. Letztere wurde uns in dankenswerter Weise von Geheimrat Bonhoff übergeben.

Es folgen die Versuchsprotokolle:

1) Rohlymphe (1 : 4) mit gleichen Teilen 5 Proz. Yatren versetzt, war nach 4 Tagen unwirksam (früher nicht geprüft). Das Yatren eignet sich also nicht zur Keimfreimachung der Lymphe wie das Eucupin.

Versuch I.

Kutane Vorbehandlung mit Vakzine. Nachinfektion mit Maul- und Klauenseuche.

Meerschweinchen No. 1026.

- 1. Tag: Glyzerinvakzine in beide skarifizierte Metatarsen eingerieben.
- 4. Tag: Impfstellen geschwollen; Lymphe durch Kapillaren erhältlich.
- 14. Tag: Abgeheilt.
- 15. Tag: Maul- und Klauenseuchelymphe in den skarifizierte Metatarsus der linken Hinterpfote eingerieben.
- 16. Tag: Linker hinterer Metatarsus zeigt große Blasen.
- 17. Tag: Allgemeinerscheinungen (Blasen an rechter Hinterpfote und beiden Vorderpfoten).
- 18. Tag: Schwerkrank. Schwere Allgemeinerscheinungen.
- 20. Tag: †.

Meerschweinchen No. 1031.

- 1. Tag: Glyzerinvakzine in beide skarifizierte Metatarsen.
- 4. Tag: Kleine Blasen an den Impfstellen.
- 14. Tag: Maul- und Klauenseuchelymphe in linken hinteren Metatarsus.
- 16. Tag: An der Impfstelle große Blase.
- 17. Tag: Allgemeinerscheinungen. Blasen an allen Pfoten und Zunge.
- 18. Tag: Schwerkrank.
- 22. Tag: †.

Meerschweinchen No. 1672.

- 1. Tag: Cavine in linken hinteren Metatarsus.
- 4. Tag: Große Blase mit reichlich Lymphe an der Impfstelle.
- 28. Tag: Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Hinterpfoten.
- 29. Tag: Blasen an den Impfstellen.
- 30. Tag: Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1511.

- 25. I. 22. Glyzerinvakzine in Bauchrücken und Metatarsen.
- 30. I. 22. Bauchrücken Pusteln; Metatarsen Blasen.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. III. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 12. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1683.

- 3. II. 22. Pockenhirnemulsion in Bauchrücken und beide Metatarsen.
- 8. II. 22. Bauchrückenpusteln, Metatarsen bleiben.
- 9. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. III. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 12. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1500.

- 9. II. 22. Glycerinvakzine in beide Metatarsen, gleichzeitig Pockenhirnemulsion in Bauchrücken.
- 13. II. 22. Alle Impfstellen gut angegangen.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 11. III. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 13. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1666.

- 9. II. 22. Cavine in linke Bauchrückengegend.
- 14. II. 22. Pusteln.
- 20. II. 22. Cavine in linken Metatarsus.
- 25. II. 22. O. B. — 9. III.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. III. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 13. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1472.

- 6. I. 22. Cavine in Bauchrücken.
- 11. I. 22. Pusteln.
- 25. I. 22. Glycerinvakzine in beide Metatarsen.
- 30. I. 22. O. B. — 8. II.
- 8. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 11. II. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 13. II. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1462.

- 6. I. 22. Cavine in Bauchrückengegend.
- 11. I. 22. Pusteln.
- 25. I. 22. Glycerinvakzine in beide Metatarsen.
- 30. I. 22. O. B. — 8. II.
- 8. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. II. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 13. II. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1458.

- 6. I. 22. Cavine in Bauchrückengegend.
- 11. I. 22. Pusteln.
- 25. I. 22. Glycerinvakzine in beide Metatarsen.
- 30. I. 22. O. B. — 8. II.
- 8. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. II. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 13. II. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1618.

- 31. I. 22. Glycerinvakzine in Bauchrücken und beide Metatarsen.
- 6. II. 22. Bauchrückenpusteln, Metatarsenblasen.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. III. 22. Metatarsenblasen.
- 13. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1685.

- 3. II. 22. Glycerinvakzine linker Metatarsus.
- 8. II. 22. Links Metatarsusblasen.
- 11. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in rechten Metatarsus.
- 13. II. 22. Rechter Metatarsus, schöne Blase.
- 15. II. 22. Schwere Allgemeinerscheinungen.
- 17. II. 22. †.

Versuch II.

Fast gleichzeitige und gleichzeitige Impfung mit Vakzine und Maul- und Klauenseuche.

Meerschweinchen No. 1682.

- 9. II. 22. Glycerinvakzine linker Metatarsus.
- 11. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in rechten Metatarsus.
- 13. II. 22. Rechter und linker Metatarsus, Blasen.
- 14. II. 22. Allgemeinerscheinungen, schwerkrank.
- 20. II. 22. †.

Meerschweinchen No. 1624.

- 15. II. 22. 2 ccm Pockenhirnemulsion ip. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 16. II. 22. Blasen an den Maul- und Klauenseuche-Impfstellen.
- 18. II. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1645.

- 15. II. 22. 2 ccm Pockenhirnemulsion ip. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 16. II. 22. Blasen beide Metatarsen.
- 20. II. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 61?

- 1. IV. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe und Glycerinvakzine $\bar{a}\bar{a}$ in beide Metatarsen.
- 3. IV. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 5. IV. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1260.

- 1. IV. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe und Glycerinvakzine $\bar{a}\bar{a}$ in beide Metatarsen.

5. IV. 22. Blasen an den Impfstellen.
7. IV. 22. Allgemeinerscheinungen, schwerkrank.
 Meerschweinchen schwarz, weiß, gelb.
5. IV. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe und Cavine āā
 in beide Metatarsen.
7. IV. 22. Blasen an den Impfstellen.
10. IV. 22. Schwere Allgemeinerscheinungen.
 Meerschweinchen No. 1482.
5. IV. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe und Cavine āā
 in beide Metatarsen.
8. IV. 22. Blasen an den Impfstellen.
10. IV. 22. Allgemeinerscheinungen.

Versuch III.

Kutane und subkutane Vorbehandlung mit Vakzine,
Nachinfektion mit Maul- und Klauenseuche.

Meerschweinchen No. 1138.

11. X. 21. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
19. X. 21. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
7. XI. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in rechten Meta-
tarsus.
8. XI. 21. Blase rechter Metatarsus.
9. XI. 21. Schwere Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1123.

11. X. 21. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
19. X. 21. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
7. XI. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in rechten Meta-
tarsus.
8. XI. 21. Rechter Metatarsus Blase.
9. XI. 21. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1108.

11. X. 22. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
19. X. 22. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
14. XI. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Meta-
tarsen.
15. XI. 22. Blasen an den Impfstellen.
16. XI. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1139.

11. X. 21. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
19. X. 21. 2 ccm Glyzerinvakzine sk. — Infiltrat, Abszeß.
14. XI. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Meta-
tarsen.
15. XI. 21. Beide Metatarsen Blasen.
16. XI. 21. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1673.

- 6. II. 22. Cavine in beide Metatarsen.
- 10. II. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 1. III. 22. 0,5 ccm Eucupinvakzine sk. — kleines Infiltrat, nach 4 Tagen o. B.
- 13. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 14. III. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 15. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1019.

- 13. II. 22. Cavine in beide Metatarsen.
- 18. II. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 1. III. 22. 1 ccm Eucupinvakzine sk. — geringes Infiltrat, nach 3 Tagen o. B.
- 13. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 14. III. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 16. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Versuch IV.

Mehrmalige ip. und kutane Vorbehandlung mit Vakzine, Nachinfektion mit Maul- und Klauenseuche.

Meerschweinchen No. 1094.

- 13. II. 22. Cavine in Bauchrückengegend.
- 18. II. 22. Pusteln.
- 20. II. 22. 0,5 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 10. III. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 13. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 100 ganz weiß.

- 25. II. 22. Eucupinvakzine Bauchrückenhaut, gleichzeitig 1 ccm Eucupinvakzine ip.
- 28. II. 22. Auf der Bauchrückenhaut zahlreiche schöne Pusteln.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 11. III. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 13. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 955.

- 20. II. 22. 0,5 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 25. II. 22. 0,5 ccm Eucupinvakzine ip.
- 9. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 11. III. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 13. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1095.

- 13. II. 22. Glyzerinvakzine in beide Metatarsen.
- 16. II. 22. Blasen an den Impfstellen.
- 20. II. 22. 0,5 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 25. II. 22. 1,0 ccm Eucupinvakzine ip.
- 13. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 14. III. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 16. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1612.

- 6. II. 22. Cavine in beide Metatarsen.
- 10. II. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 14. II. 22. 1 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 20. II. 22. 1 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 25. II. 22. 1 ccm Eucupinvakzine ip.
- 1. III. 22. 0,5 ccm Eucupinvakzine sk. — winziges Infiltrat, nach 3 Tagen o. B.
- 13. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 14. III. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 16. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Meerschweinchen No. 1561.

- 25. I. 22. Cavine in beide Metatarsen.
- 30. I. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 14. II. 22. 1 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 20. II. 22. 2 ccm Pockenhirnemulsion ip.
- 25. II. 22. 1 ccm Eucupinvakzine ip.
- 1. III. 22. 2 ccm Eucupinvakzine sk. — kleines Infiltrat, nach 4 Tagen o. B.
- 13. III. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 14. III. 22. Blasen an beiden Metatarsen.
- 15. III. 22. Allgemeinerscheinungen.

Versuch V.

Vorbehandlung mit Maul- und Klauenseuchelymphe,
Nachinfektion mit Vakzine.

Meerschweinchen No. 1042.

- 6. X. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
- 7. X. 21. Blasen an beiden Metatarsen.
- 9. X. 21. Allgemeinerscheinungen.
- 14. XI. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen — keine Lokal- und Allgemeinerscheinungen.

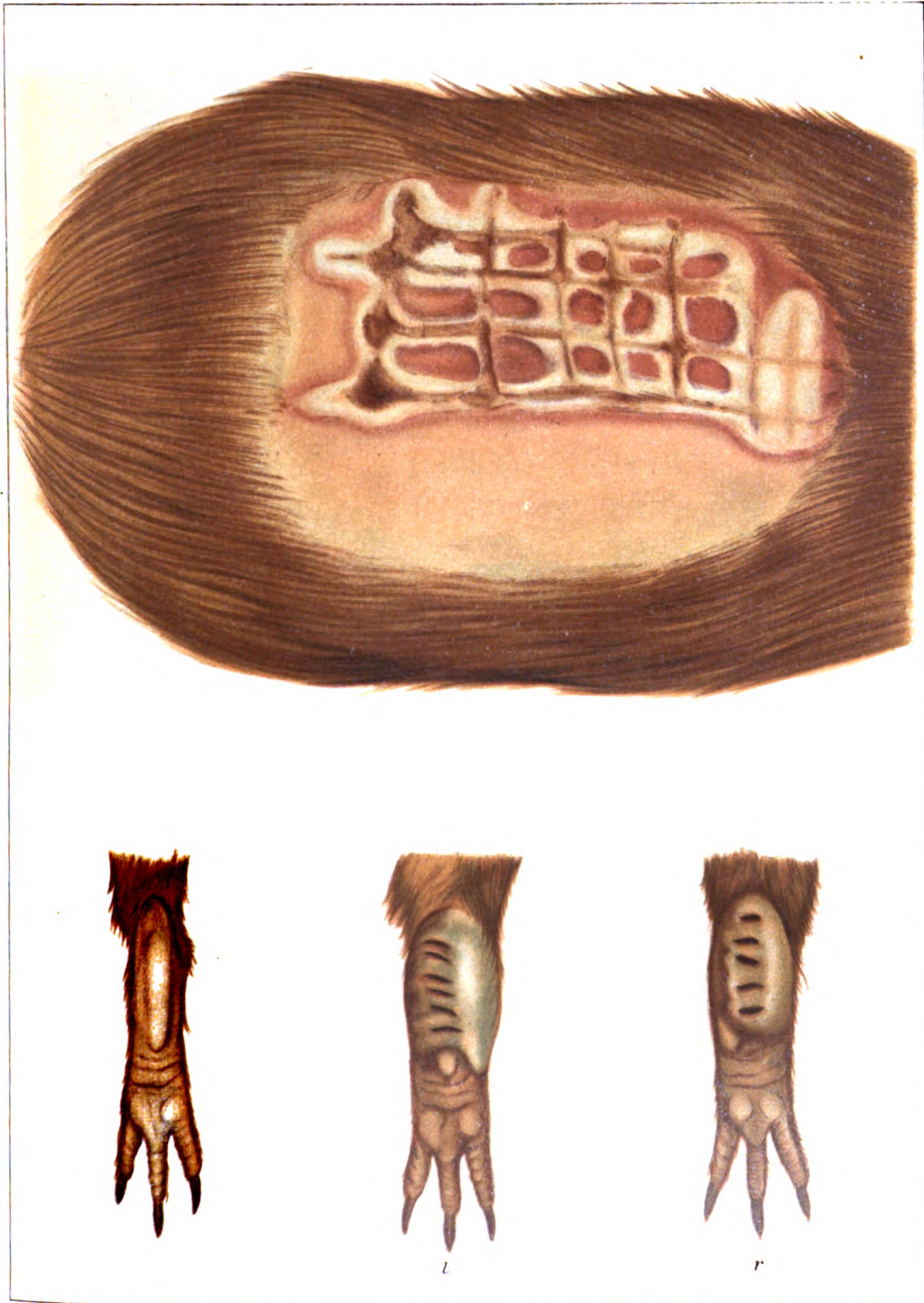
13. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen — keine Lokal- und Allgemeinerscheinungen.
 10. III. 22. Cavine in beide Metatarsen.
 15. III. 22. Blasen an den Impfstellen. Keine weiteren Erscheinungen.
- Meerschweinchen No. 499.
29. X. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen.
 30. X. 21. Blasen an den Impfstellen.
 1. XI. 21. Allgemeinerscheinungen.
 14. XI. 21. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen — keine Lokal- und Allgemeinerscheinungen.
 13. II. 22. Maul- und Klauenseuchelymphe in beide Metatarsen — keine Lokal- und Allgemeinerscheinungen.
 10. III. 22. Cavine in beide Metatarsen.
 15. III. 22. Blasen an den Impfstellen. Keine weiteren Erscheinungen.

Der Verlauf dieser Meerschweinchenversuche bestätigt die Rinderversuche, die wir selbst bis zum Schluß verfolgen konnten. Selbst die mit Vakzine (Cavine) hochimmunisierten Meerschweinchen zeigten bei der Nachinfektion mit Maul- und Klauenseuche keine Abweichung im Verlauf der Erkrankung gegenüber den Kontrollen. Auch gleichzeitig oder nacheinander vorgenommene Impfung von Vakzine und Maul- und Klauenseuche-Virus bei demselben Meerschweinchen (Versuch II) hatte vollen Impferfolg. Versuch V zeigt, daß Maul- und Klauenseuche-immune Meerschweinchen, mit Vakzine (Cavine) nachinfiziert, genau wie die Kontrollen Blasen an den Impfstellen bekamen.

Eine wechselseitige Beeinflussung der Vakzine- und Maul- und Klauenseuche-Immunität, die für die Praxis Bedeutung haben könnte, konnten wir also, wie unsere Versuche zeigen, nicht nachweisen.

Aus weiteren Arbeiten über Maul- und Klauenseuche, die wir vorläufig aus Tiermangel abbrechen mußten, möchten wir kurz noch folgendes mitteilen: Nie konnten wir eine Spontaninfektion der Meerschweinchen beobachten, trotzdem doch das Virus aus den geplatzten Blasen massenhaft in die Umgebung verstreut wird und dadurch reichlich Gelegenheit zur Ansteckung gegeben ist.

Was die Virulenz von Maul- und Klauenseuche-Stämmen aus verschiedenen Seuchenstämmen gegenüber dem Meer-



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Aust. v. Johannes Arndt, Jena.

schweinchen betrifft, so hatten wir Gelegenheit, recht erhebliche Unterschiede schon an kleinem Material (3 verschiedene Seuchengänge) festzustellen. In einem Falle hatte die Impfung von ganz frisch von uns selbst entnommener und sofort auf Meerschweinchen verimpfter Lymphe vom Schaf ein völlig negatives Resultat. Vielleicht wird dadurch die Tatsache erklärt, daß früher die Uebertragung der Maul- und Klauenseuche auf Meerschweinchen nicht gelang, obwohl auch gelegentlich dieselbe Impftechnik angewandt wurde, wie sie heute üblich ist (kutane Metatarsenimpfung). Das Meerschweinchen ist für die Maul- und Klauenseuche sicher viel weniger empfänglich als Rind und Schwein.

Das Ueberstehen einer Maul- und Klauenseuche-Erkrankung hinterläßt beim Meerschweinchen eine komplette Immunität, die wir bis zu 3 Monaten einwandfrei beobachten konnten (siehe hierzu auch Versuch V). Das Blut von maul- und klauenseuchekranken Meerschweinchen fanden wir stets bis zu 52 Stunden nach der Infektion virushaltig. 6 $\frac{1}{2}$ Stunden post infectionem machte das Blut, auf frische Meerschweinchen verimpft, die Tiere noch nicht krank (ip. und Skarifikationsversuche). Am meisten mit Virus angereichert fanden wir das Blut etwa 24 Stunden nach der Infektion; wie wir jedoch durch Verdünnungsversuche feststellen konnten, enthielt es auch dann nicht so viel Virus wie die Blasenlymphe. In den Organen entbluteter maul- und klauenseuchekranker Meerschweinchen, deren Blut infektiös war, konnten wir in keinem Fall Virus nachweisen. Die mit solchem Organbrei ip. vorbehandelten Tiere erkrankten bei der Nachinfektion (Skarifikation) prompt.

Wir haben auch versucht, in den verschiedensten Nährmedien das Maul- und Klauenseuchevirus zu kultivieren (Gallenährböden, Wasserkultur mit Organstückchen, Nährböden aus Meerschweinchenfußsohlen, bei Brutraum- und Zimmertemperatur). Diese Versuche hatten in keiner Richtung ein positives Ergebnis. Die mit von Nebenkeimen freier Maul- und Klauenseuchelymphe beimpften Nährflüssigkeiten machten die Meerschweinchen nicht krank, verliehen ihnen auch keine Immunität.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie E. v. Behring (Direktor: Geh. Reg. Rat Prof. Dr. Uhlenhuth) und der Universitäts-Augenklinik (Direktor: Geh. Rat Bielschowsky) in Marburg].]

Untersuchungen über die Vakzineimmunität der Rindercornea.

**(Nachtrag zu der vorstehenden Arbeit von Uhlenhuth und Bieber:
Untersuchungen zur Frage der wechselseitigen Vakzine- und Maul- und
Klauenseucheimmunität bei Rindern und Meerschweinchen.)**

Von Prof. W. Grüter.

Im Anschluß an die Untersuchungen von Uhlenhuth und Bieber über „Wechselseitige Vakzine- und Maul- und Klauenseucheimmunität“ (s. vorstehende Arbeit) habe ich auf Anregung von Geh. Rat Uhlenhuth mich noch mit der Hornhautimmunität nach aktiver allgemeiner Immunisierung von Rindern beschäftigt. In der Literatur liegen darüber bereits einige Angaben französischer Autoren [Béclère, Chambon, Ménard (1) und Strauß, Chambon, Ménard (2)] vor.

Technik. Ich bediente mich der von mir (3) bei den Studien über die Vakzineimmunität der Kaninchenhornhaut angewandten Methode. Es wurden über die Hornhaut drei parallele Impfschnitte nach vorhergehender Kokainisierung des Auges mit einer in die Lymphe eingetauchten Augenlanze gezogen. In der ersten Versuchsreihe mit 7 immunisierten Rindern wurde die Impfung mit Eucupinlymphe [Kirstein-Hannover (6)], Verdünnung 1 : 100 vorgenommen. Erst bei Anwendung solcher Lymphverdünnungen hatte ich bei Kaninchenimpfungen schöne klare Uebersichtsbilder, die die eingetretene Immunität zum Ausdruck brachten, bekommen, während die Impfung mit unverdünnter oder schwach verdünnter Lymphe eine uncharakteristische, schwere eitrig-keratitische Keratitis erzeugte. Es zeigte sich nun, daß die Hornhaut des Rindes wesentlich widerstandsfähiger gegen die Vakzineimpfung ist als die des Kaninchens. Denn bei der I. Rinderserie zeigte sich nach Impfung mit Eucupinlymphe 1 : 100 nur bei 1 von 4 geimpften

Kontrollaugen überhaupt ein Impfeffekt. Es entwickelten sich vereinzelte graue Infiltrate, die in den nächsten Tagen spontan, ohne daß es zur Geschwürsbildung gekommen war, ausheilten. Ganz anders war das Bild bei dem gleichzeitig zur Kontrolle des Virusgehaltes mit Eucupinlymphe 1 : 100 geimpften Kaninchen No. 225. Die Impfstriche der Hornhaut waren am 3. Tage übersät mit charakteristischen feinen grauen Infiltraten (ca. 20) und aus diesen entwickelten sich die von mir (loc. cit.) beschriebenen charakteristischen, in ihren Verzweigungen dem Herpes corneae ähnlichen Vakzinegeschwüre.

Auf Grund dieser Erfahrung wurde in einer II. Rinderserie mit unverdünnter Eucupinlymphe die Hornhaut geimpft.

Es liegt unseres Wissens in der Vakzineliteratur keine von einem Fachophthalmologen gemachte Beschreibung der Vakzinekeratitis beim Rinde vor und daher gebe ich zunächst eine allgemeine Schilderung der Vakzinekeratitis beim Rinde (Strichimpfung mit unverdünnter Lymphe).

Um Hornhautaffektionen leichter zu erkennen und übersichtlicher zu machen, bedient sich die Ophthalmologie der vitalen Färbung mit Fluorescein natr., dem bekannten, auch in stärkster wässriger Verdünnung schön grün fluoreszierenden Farbstoff. Wenn davon einige Tropfen auf die Hornhaut geträufelt werden und der Ueberschuß gründlich mit Wasser abgespült ist, so treten die erkrankten Hornhautstellen durch ihren grünen Farbenton scharf hervor und es lassen sich wesentlich mehr Einzelheiten, insbesondere bei beginnender Entzündung feststellen, als bei reiner lokaler Untersuchung des Auges mit künstlichem Licht. Ich werde demnächst in einer besonderen Arbeit auf die ophthalmologische Technik bei der Diagnostik von Pocken- und Vakzinekeratitis ausführlich eingehen.

Vakzinekeratitis beim Rinde.

Am Tage nach der Impfung der Hornhaut sind die Impfstriche kaum noch zu erkennen. Fluoresceinfärbung ist negativ, ein Beweis, daß die Epithelläsion an den Impfstreichen wieder geheilt ist.

Im allgemeinen zeigen sich die ersten Anzeichen der Infektion am 3. Tage. Es besteht eine leichte (ciliare) Injektion des Augapfels. Die Impfstriche heben sich durch eine zarte graue Trübung von dem dunklen Grunde der Pupille ab. Vielfach ist die Trübung nicht gleichmäßig über die Impfstriche verbreitet, sondern sie besteht aus feinen nebeneinander

am Impfstrich gelagerten grauen Fleckchen (Infiltraten), die klare Hornhaut zwischen sich haben. An der Iris zeigt sich zunächst keine Entzündung. Zwischen dem 5. und 8. Tage nimmt die Hornhautmattigkeit (entzündliches Hornhautödem) weiter zu (es kann bei sehr virulentem Impfstoff zum geschwürigen Zerfall einzelner Infiltrate gekommen sein). Nachdem die Infiltrate in weiteren 2—3 Tagen zu einer gleichmäßigen intensiv grauen Trübung zusammengefließen sind, beobachteten wir bei dem größeren Teile unserer Versuchstiere am 11. Tage den Zerfall der Infiltrate in Geschwüre. Dieselben sind zunächst flach mit grauen, angenagt aussehenden Rändern und grau belegtem Grunde. Sie vertiefen sich dann bei Zunahme der Entzündung bis in die mittleren Schichten des Parenchyms. Der Rand und Grund bekommt eitriggelbe Färbung und die weitere Umgebung des Geschwürs zeigt ein starkes schiefgrigraues Hornhautödem. Verzweigte Ausläufer wie bei der Vakzinekeratitis des Kaninchens sahen wir nicht. Es soll damit das Auftreten von solchen verzweigten, herpesartigen Geschwüren an der Kalbshornhaut nicht bestritten werden; jedoch haben wir solche Verzweigungen in keinem Fall bei der Impfung von 22 Augen beobachtet. Während noch die Hornhautgeschwüre an Ausdehnung zunehmen, zeigt sich bereits die beginnende Reparation in Gestalt von einwuchernden Bindehautgefäßen. Sind mehrere Geschwüre aufgetreten und haben dieselben eine größere Ausdehnung genommen, so entsteht immer eine sekundäre Iritis (Ausschwitzung in das Pupillargebiet). Auf dem Höhestadium der Entzündung, das ca. 3—4 Tage anhält, besteht mehr oder minder starke Bindehautsekretion. Gelegentlich zeigen sich am Lidrand einzelne, durch sekundäre Infektion von den Hornhautgeschwüren ausgehende Vakzinegeschwüre. Das Stadium der Rückbildung der Geschwüre bis zur völligen Heilung zieht sich über etwa 2 weitere Wochen hin, so daß bei unseren Tieren die gesamte Impfkeratitis 4—5 Wochen dauerte. Die zurückgebliebenen Narben sind nicht ungewöhnlich groß und dicht. Sie hellen sich im Laufe der nächsten Wochen noch stark auf, so daß es bei einer späteren Kontrolle den Augen nicht anzusehen war, daß sie eine ausgedehnte eitrig Hornhautentzündung durchgemacht hatten. Bei keinem

der geimpften Augen haben wir eine Geschwürsperforation mit nachfolgender Vereiterung des Augenninneren beobachtet.

Versuch I an 7 Rindern verlief, wie wir oben schon mitteilten, infolge zu starker Lymphverdünnung (1:100) negativ. Wir verzichten daher auf eine Wiedergabe der Versuchsprotokolle.

Versuch II. Die Tiere dieses Versuches sind mit verschiedenen großen Dosen und zu verschiedenen Zeiten vorbehandelt; sie wurden, abgesehen von Tier No. 58 (siehe Protokoll), wiederholt intravenös und außerdem ein- oder zweimal kutan in ausgedehntem Maße geimpft. Bei der Mehrzahl der Tiere liegt die I. Impfung 2 Monate zurück, die letzte Impfung hat etwa 3 Wochen vor der Hornhautimpfung stattgefunden. Näheres ist in den folgenden Protokollen angegeben. Verwandt wurden junge gesunde, früher nicht zu Impfzwecken benutzte Tiere.

No. 52.

Einmal kutan, dreimal iv. mit Vakzine vorbehandelt (20. XII. 21 5 ccm Vakzine iv., 16. I. 22 10 ccm iv., 8. II. 22 5 ccm iv., 25. II. 22 linker Rücken ausgedehnt geimpft).

28. II. Mit Eucupinlymphe unverdünnt am rechten Auge 3 Impfstrieche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Ciliarinjektion, Hornhaut matt, Impfstrieche grau, nur der untere Impfstrich nimmt Fluorescein an; er erscheint besonders grau getrübt.

5. Tag (Infiltrationsstadium). 4. III. Spur Bindehautsekret. Mäßige ciliare Injektion. Hornhaut in den mittleren Partien (Impfstrichzone) deutlich blaugrau getrübt. Randpartien aber klar. Ein Impfstrich zeigt etwas graue Trübung. Keine Geschwüre.

8. Tag (Rückgang). 7. III. Bindehautsekret. Deutliche ciliare Injektion, aber nicht so starke Lichtscheu wie am 4. III. Hornhaut in der Mitte nicht mehr so intensiv grau, Randpartien in größerer Breite ganz klar. Impfstrieche nehmen kein Fluorescein an.

10. III. Etwas Sekretion. Mäßig starke ciliare Injektion. Die Umgebung der Impfstrieche in mäßigem Grade noch grau.

15. Tag (Heilung). 14. III. Sekretion weg. Augapfel noch etwas injiziert. Hornhaut bis auf einzelne kleine fleckförmige Narben an den Impfstriichen klar.

No. 65.

Einmal kutan, zweimal iv. mit Vakzine vorbehandelt (24. XII. 21 5 ccm iv. Vakzine, 16. I. 22 10 ccm iv., 8. II. 22 Kutanimpfung).

28. II. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstrieche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Ciliare Injektion, Hornhaut gleichmäßig matt. Am mittleren Impfstich eine graue entzündliche Trübung, die sich mit Fluorescein färbt.

5. Tag (Infiltrationsstadium). 4. III. Keine Bindehautsekretion, ciliare Injektion. Die Hornhaut in der Umgebung der Impfstiche in Scheibenform getrübt; übrige Hornhaut fast klar. Nach Fluoresceineinträufung zeigt sich am ganzen mittleren Impfstich deutliche Grünfärbung.

8. Tag (Rückgang). 7. III. Ciliare Injektion. Die geringe Mattigkeit in der Umgebung der Impfstiche zurückgegangen. Grünfärbung nach Fluoresceineinträufung nicht so intensiv.

10. III. Noch leichte Injektion. Hornhaut bis auf eine geringe Trübung am mittleren Impfstich klar.

15. Tag (Heilung). 14. III. Etwas Sekretion und Lichtscheu. Hornhaut bis auf die zarten Impfstichnarben klar.

No. 58.

Einmal kutan vorbehandelt (22. XII. 21 Rückenimpfung).

28. II. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstiche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Etwas Sekretion. Ciliare Injektion. Hornhaut matt. Grünfärbung an allen Impfstichen nach Fluoresceineinträufung.

5. Tag (Rückbildung). 4. III. Kein Bindehautsekret. Geringe Ciliarinjektion. Hornhaut in der Umgebung der Impfstiche ganz wenig getrübt. Impfstiche nehmen kein Fluorescein an.

7. III. Nur geringe ciliare Injektion. Hornhaut leicht matt in den mittleren Partien (weniger als am 4. III). Impfstiche nehmen kein Fluorescein an.

10. III. Spur Injektion. Hornhaut fast klar. Am Impfstich Narben.

15. Tag (Heilung). 14. III. Augapfel blaß. Hornhaut klar, kleine strichförmige Narben.

No. 56.

Einmal kutan, dreimal iv. mit Vakzine vorbehandelt (25. XII. 21 kutan, 18. XII. 21 20 cem iv., 8. I. 22 5 cem iv.).

28. II. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstiche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Ciliare Injektion. Hornhaut eicht getrübt. Mittlerer Impfstich gleichmäßig zart grau getrübt. Fluorescein +. Keine Geschwüre.

5. Tag (Rückgang). 4. III. Kein Bindehautsekret. Ciliarinjektion. Hornhaut in der Umgebung der Impfstiche noch etwas matt, sonst klar.

8. Tag (vorübergehende Zunahme der Entzündung). 7. III. Etwas Bindehautsekret. Hornhautmattigkeit geringer. Oberer Impfstich nimmt eine Spur Fluorescein an.

10. III. Noch etwas Injektion. Hornhaut fast klar. Impfstich o. B.

15. Tag (Heilung). 14. III. Feine Narben an den Impfstichen. Hornhaut klar.

No. 60.

Einmal iv. und kutan gleichzeitig vorbehandelt (22. XII. 21 5 ccm Vakzine iv. + Kutanimpfung).

28. II. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstriche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Schwach ciliare Injektion. Hornhaut kaum getrübt. Impfstriche nehmen kein Fluorescein an.

5. Tag (Infiltrationsstadium). 4. III. Kein Bindehautsekret. Ciliare Injektion. Die ganze Hornhaut leicht matt. Umgebung der Impfstriche zeigt geringe Trübung. Am mittleren und unteren Impfstrich die Fluoresceinfärbung schwach positiv. Unterer Impfschnitt weit klaffend infolge des versehentlich besonders tiefgehenden Schnittes.

8. Tag (Geschwürsbildung). 7. III. Etwas Bindehautsekret. Augapfel stärker injiziert. Hornhaut in der Umgebung der Impfstriche besonders des unteren, deutlich grau. Es besteht am unteren Impfstrich ein breiter, Fluorescein annehmender geschwüriger Defekt mit grau belegten gequollenen Rändern (Folge des besonders tiefgehenden Impfschnittes).

10. III. Etwas Bindehautsekret. Ciliare Injektion. Die Hornhaut im ganzen noch mäßig stark getrübt. Am unteren Impfstrich ein größerer entzündlicher Defekt.

14. III. Stärkere Injektion des Augapfels. An den unteren Impfstrichen tief ausgestanzte Geschwüre, davon ausgehend eine blaugraue Hornhauttrübung.

17. III. Beginnender Rückgang der Infektion. Tier außer Beobachtung gesetzt. Heilung schätzungsweise 7 Tage später zu erwarten.

No. 53.

Einmal kutan, dreimal iv. mit Vakzine vorbehandelt (20. XII. 21 5 ccm Lympe iv., 16. I. 22 10 ccm iv., 8. II. 22 10 ccm iv. + kutan).

28. II. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstriche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Ciliare Injektion. Hornhaut leicht matt. Die Impfstriche nehmen eine Spur Fluorescein an.

5. Tag (Infiltrationsstadium). 4. III. Keine Bindehautsekretion. Mäßige ciliare Injektion. Hornhaut in der Umgebung der Impfstriche ziemlich matt, sonst fast klar. Am mittleren Impfstrich eine Spur Grünfärbung nach Fluoresceineinträufung; keine Geschwüre.

8. Tag (Rückgang). 7. III. Augapfel nur wenig ciliar injiziert. Hornhautmattigkeit entschieden geringer, nur die Umgebung der Impfstriche leicht getrübt. Keine Grünfärbung nach Fluoresceineinträufung.

11. Tag (Heilung). 10. III. Hornhaut klar. Impfstriche frei.

No. 45. Kontrolle.

28. II. 22. Mit Eucupinlymphe Hannover, am rechten Auge 3 Impfstriche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Starke ciliare Infektion. Alle 3 Impfstriche grau. Umgebung leicht getrübt. Nach Fluoresceineinträufung Impfstriche leicht grün. Keine Geschwüre.

5. Tag (Infiltrationsstadium). 4. III. Sekretion. Tiefe graue Hornhautinfiltration. Impfstriche nach Fluoresceineinträufung zum Teil zartgrün gefärbt; keine Geschwüre. (Sehr starke Reaktion.)

7. III. Mäßig starke Sekretion der Bindehaut. Intensivgraue Hornhauttrübung. Die Hornhaut ist schiefgrigrau, so daß die Pupille nicht zu sehen ist.

11. Tag (Geschwürbildung). 10. III. Mäßig starke Bindehautsekretion. Starke Lichtscheu. Starke ciliare Injektion. Die ganze Hornhaut ist ungewöhnlich stark blaugrau getrübt. Die Impfstriche zum Teil geschwürig zerfallen. Vom Limbus wuchern zahlreiche neugebildete Gefäße in die Hornhaut.

14. III. Lichtscheu. Sekretion. Ganze Hornhaut gleichmäßig intensiv grau getrübt. Geschwüre unverändert.

18. Tag (Höhepunkt) 17. III. Starke Bindehautsekretion. Starke Lichtscheu. Die ganze Hornhaut gleichmäßig stark grau getrübt. Impfstriche heben sich als breite, gelblich infiltrierte, zum Teil geschwürig zerfallene Streifen von der grau getrühten Hornhaut ab. Von der Iris und Pupille nichts zu erkennen, weil die Hornhaut vollkommen trüb ist.

22. Tag (Rückbildung). 21. III. Lichtscheu. Mäßig starke Sekretion. Cornea gleichmäßig grau getrübt. Am unteren Impfstrich Vaskularisation. Weitere Einzelheiten nicht zu sehen.

24. III. Etwas Sekretion. Hornhaut mäßig stark grau getrübt. Am mittleren Impfstrich die noch gebliebenen Geschwüre in beginnender Vaskularisation.

29. III. Lichtscheu. Ciliarinjektion noch deutlich; ebenso die gelblichen Infiltrationen.

3. IV. Noch etwas Lichtscheu, graublaue kleine Trübung an den Impfstrichen, Reste der Geschwüre.

40. Tag (Heilung). Große Narben.

No. 49. Kontrolle.

28. II. Mit Eucupinlymphe am rechten Auge 3 Impfstriche.

3. Tag (Beginn der Infektion). 2. III. Ciliare Injektion. Hornhaut leicht matt. Impfstriche nehmen kein Fluorescein an, abgesehen von dem einen Ende des mittleren Impfstriches, wo nach der Färbung zwei kleine grüne Punkte (Infiltrate) sichtbar sind.

5. Tag (Infiltrationsstadium). 4. III. Ciliare Injektion. An allen Impfstrichen fleckförmige stärkere Trübung, dazwischen hellere bzw. fast klare Stellen. (Die Reaktion ist nicht so stark wie bei der Kontrolle 45.)

7. III. Etwas Sekretion. Starke ciliare Injektion. Beide untere Impfstriche fleckförmig intensiv grau. (Stärkere herdförmige Infiltration.) Umgebung des mittleren und unteren Impfstriches ziemlich stark grau getrübt. Oberer Impfstrich leicht grau. (Kein Rückgang wie bei den immunisierten Tieren.)

11. Tag (Geschwürbildung.) 10. III. Starke Lichtscheu. Bindehautsekretion. Starke ciliare Injektion. Ganze Hornhaut ziemlich gleichmäßig

diffus getrübt. In der Umgebung der Impfstriche Trübung besonders stark. Die Impfstriche zum Teil geschwürig zerfallen.

14. III. Befund wie bei No. 45. Ganze Hornhaut intensiv trüb. Impfstriche in Geschwüre verwandelt.

18. Tag (Höhepunkt). 17. III. Lichtscheu. Etwas Sekretion. Hornhaut noch gleichmäßig intensiv graublau getrübt. Die Impfstriche heben sich als graue, trübe Geschwürslinien ab. Von der Regenbogenhaut ist infolge der Hornhauttrübung fast nichts zu sehen.

25. Tag (beginnender Rückgang). 24. III. Geschwüre sind in Reinigung. Gleichmäßig starke Hornhauttrübung, so daß die Iris nicht zu erkennen ist. Außer Beobachtung gesetzt. Heilung in ca. 7 Tagen zu erwarten.

Kontrollkaninchen 184.

28. II. Mit Eucupinlymphe am rechten Auge 3 Impfstriche.

2. Tag (Beginn der Infiltration). 1. III. Lichtscheu. Bindehaut etwas feucht. Augapfel wenig injiziert. Im fokalen Lichte heben sich die Impfstriche durch zarte graue Färbung von der klaren Cornea ab. Nach Fluoresceinfärbung zeigen sich an jedem Impfstrich 8–10 grüne Punkte, die perlschnurartig aneinandergereiht sind (Infiltrate).

2. III. Geringe Bindehautsekretion. Ciliare Injektion. Die ganze Hornhaut leicht matt. Die Impfstriche gleichmäßig grau getrübt. Fluorescein färbt die Impfstriche gleichmäßig grün (es sind also die Infiltrate größer geworden und zu einer Infiltrationsleiste zusammengeflossen). An einzelnen Stellen hebt sich am Impfstrich noch ein einzelnes Infiltrat (grüner Punkt) ab.

5. Tag (Geschwürsbildung). 4. III. Eitrige Bindehautsekretion. Die Impfstriche zeigen 3 mm breite, graue seichte Geschwüre mit angenagten überhängenden grauen Rändern. Die nächste Umgebung der Hornhaut ist stark getrübt. Pupille eng. Irishyperämie. Das eitrige Bindehautsekret ist stärker geworden, so daß die Lider verklebt sind. Nach gewaltsamem Öffnen quillt dicker rahmiger Eiter heraus.

7. III. Die Geschwüre haben sich der Fläche und Tiefe nach vergrößert und zeigen einen eitriggelben Farbenton. Die Regenbogenhaut ist durch die grauweiße Hornhaut kaum noch zu erkennen. Eitrige Sekretion aus der Nase.

11. Tag (Perforation der vereiterten Hornhaut). 10. III. Starke eitrig Bindehautsekretion. Die Hornhaut bis auf eine schmale Randpartie eitrig eingeschmolzen. Eitriges Exsudat in der Vorderkammer und in der Pupille. Panophthalmie.

Tier außer Beobachtung gesetzt; jedoch besteht auf Grund des Befundes kein Zweifel, daß es zur völligen Schrumpfung und Erblindung des Auges kommt.

Dieser Versuch No. II zeigt besonders schön die Hornhautimmunität nach vorhergehender allgemeiner Immunisierung. Die Versuchsbedingungen waren insofern besonders schwer,

als mit unverdünnter Eucupinlymphe geimpft wurde. Die hohe Virulenz derselben kommt besonders deutlich in der Kaninchenkontrolle zum Ausdruck. Das hochempfindliche Kaninchen zeigt am 3. Tage an jedem Impfstrich rund 10 Impfinfiltrate. Diese konfluieren schnell zu Geschwüren und am 11. Tage ist das ganze Auge eitrig eingeschmolzen.

Betrachten wir nun den Impfeffekt bei den vorbehandelten und den Kontrollrindern, so zeigt sich ohne weiteres, daß bei den immunisierten Tieren ein hoher Immunitätstiter besteht. Abgesehen von einem Tier (No. 45) kommt es bei den anderen 5 überhaupt nicht zur Geschwürsbildung. Es entwickelt sich vielmehr nur eine milde Infiltration an den Impfstrichen und diese geht bei 4 Tieren (No. 52, 65, 56, 53) am 8. Tage zurück, bei Tier No. 58 sogar schon am 5. Tage; nur bei Tier No. 60 entwickelt sich ein einzelnes Geschwür. Dieses beruht darauf, daß beim Impfen infolge der Unruhe des Tieres ein breit klaffender tiefer Impfschnitt entstand. — Wir möchten hier ausdrücklich betonen, daß der glatte Ausgang eines Impfexperimentes auch von der Anlegung gleichmäßiger, nur die oberflächliche Hornhautschicht durchtrennender Impfschnitte abhängt. — Die Heilung ist bei Tier No. 53 schon am 11. Tage, bei 4 Tieren (52, 65, 58, 56) nach 15 Tagen eingetreten; nur bei dem einen Tier mit dem Hornhautgeschwür dauert die Heilung ca. 22 Tage. Interessant ist, daß eine einzige ausgedehnte Kutanimpfung (No. 58) genügen kann, um einen starken Immunitätsgrad am Auge hervorzurufen. Einen viel schwereren Verlauf nahm der Impfprozeß bei den beiden Kontrolltieren (No. 45 und 49). Es entwickelte sich an den Augen eine gleichmäßige entzündliche Trübung der ganzen Hornhaut. Am 8. Tage ist sie so stark, daß die Pupille nicht mehr zu sehen ist. Am 11. Tage sind die Infiltrate zu großen eitrigem Geschwüren zerfallen. Es besteht ein außerordentlich schweres Krankheitsbild, das bei beiden Tieren in unverminderter Stärke bis zum 18. Tage anhält und dann nur langsam abklingt. Bei dem einen Tier (No. 45) ist am 40. Tage, bei dem zweiten Tier (No. 49) etwa am 32. Tage die Heilung zu verzeichnen. Im Gegensatz zu den zarten, wenig sichtbaren Narben bei den immunisierten Tieren sind dieselben bei den Kontrolltieren dicht grauweiß. (Siehe auch die später folgende Uebersichtstabelle.)

Versuch III.

No. 38.

Dreimal kutan, dreimal iv. mit Vakzine vorbehandelt (16. VIII. 21 3 ccm iv. 25. VIII. 5 ccm iv. 6. X. 18 ccm iv., gleichzeitig am Halse skarifiziert. 21. X. Skarifikation, und am 9. XI. Skarifikation). (Siehe ausführliches Protokoll bei Uhlenhuth und Bieber.)

8. III. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstriche.

3. Tag (Geschwürsstadium). 10. III. Lichtscheu. Etwas Sekret. Deutliche ciliare Injektion. Hornhaut in den unteren Zweidritteln ziemlich stark grau getrübt. Die beiden unteren Impfstriche zeigen beginnenden geschwürigen Zerfall. Oberer Impfstrich nimmt kein Fluorescein an. Pupille eng.

7. Tag (Höhepunkt der Entzündung). 14. III. Lichtscheu. Sekretion. Ciliarinjektion. Hornhaut in der unteren Hälfte intensiv grau getrübt, in der oberen weniger. An beiden unteren Impfstrichen schmale gelbliche Geschwüre mit zerfressenen Rändern.

10. Tag (beginnender Rückgang). 17. III. Etwas Sekretion. Ciliarinjektion geht zurück. Die intensive Hornhauttrübung in der unteren Hälfte trennt sich von der oberen klaren Hornhautpartie schärfer ab.

21. III. Keine Sekretion. Noch etwas Injektion des Augapfels. Unteres äußeres Hornhautviertel noch ziemlich stark grau getrübt. Die Trübung geht von der äußeren Hälfte des unteren Impfstriches aus und daselbst besteht deutlich gelbeitrige Infiltration mit starker Gefäßneubildung. Die andere Hälfte des Impfstriches ist vollkommen klar. Ebenso die 2 oberen Hornhautquadranten vollkommen klar und durchsichtig.

24. III. Kaum Sekretion. Unterer äußerer Hornhautquadrant noch leicht getrübt. Impfstrich in diesem Viertel nur noch leicht infiltriert.

29. III. Lichtscheu weg. Hornhaut noch etwas hauchig grau im unteren äußeren Quadranten am Ende des unteren Impfstriches. Impfstrich daselbst noch infiltriert.

27. Tag (Heilung). 3. IV. Narben an den Impfstrichen.

No. 39.

Zweimal kutan, dreimal iv. vorbehandelt (23. VIII. 21 3 ccm iv., 1. IX. 21 6 ccm iv. + Skarifikation, 29. IX. 21 6 ccm iv. + Skarifikation, 27. X. Skarifikation). (Weiteres siehe bei Uhlenhuth und Bieber.)

8. III. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstriche.

3. Tag (Geschwürsstadium). 10. III. Lichtscheu. Bindehautsekretion. Ciliare Injektion. Die beiden unteren Impfstriche sind größtenteils in schmale graue Geschwüre umgewandelt. Die umgebende Hornhaut und auch die ferner gelegenen Hornhautpartien getrübt. Pupillen eng. Die beiden unteren Impfstriche nehmen fast in ganzer Länge stark Fluorescein an, der obere Impfstrich nur eine Spur.

7. Tag (Höhepunkt der Entzündung). 14. III. Sekretion. Ciliare Injektion. Hornhaut in den unteren zwei Dritteln getrübt. An den Impfstrichen schmale gelbliche Geschwüre.

10. Tag (Rückgang). 17. III. Noch ciliare Injektion. Lichtscheu geringer. Untere Hornhauthälfte gleichmäßig grau; grenzt sich gegen die obere, klare deutlich ab. Die Geschwüre am Impfstrich in Reinigung.

21. III. Lichtscheu. Etwas Sekretion. Ciliare Injektion. Die beiden unteren Quadranten noch gleichmäßig grau getrübt. Unterer und mittlerer Impfstrich (letzterer im äußeren Drittel) noch leicht gelblich aussehend. Beginnende Vaskularisation der Geschwüre. Oberes inneres Hornhautdrittel klar.

24. III. Etwas Sekretion. Ciliare Injektion. Oberer äußerer Hornhautquadrant fast klar. Die beiden unteren Quadranten noch stark blaugrau getrübt. Die unteren Impfstriche noch gelb infiltriert, weniger als am 21. III. (Deutlicher Rückgang des Impfprozesses.)

29. III. Kaum noch Lichtscheu. Etwas Injektion. Untere Hornhauthälfte noch graublau getrübt. Der untere Impfstrich stark vaskularisiert. In der Tiefe Rest gelblicher Infiltration.

27. Tag (Heilung). 3. IV. Narben an den Impfstrichen. Pupillen wieder weit.

No. 76. Kontrolle.

8. III. Mit Eucupinlymphe am r. A. 3 Impfstriche.

3. Tag (Infiltrationsstadium). 10. III. Etwas Lichtscheu. Deutliche ciliare Injektion. An einigen Stellen punktförmige Fluoresceinfärbung (Infiltrate). Nicht nur die Umgebung der Impfstriche, sondern die ganze Hornhaut gleichmäßig grau getrübt. Pupille eng.

7. Tag (Geschwürsbildung). 14. III. Bindehautsekretion. Ciliare Injektion. Hornhaut gleichmäßig graublau getrübt. An den Impfstrichen größere, durch Fluoresceinfärbung sich abhebende Geschwüre.

17. III. Eitrige Bindehautsekretion, so daß die Lidspalte verklebt ist. Sehr starke Bulbusinjektion. Ganze Hornhaut gleichmäßig blaugrau getrübt. Der obere Impfstrich zeigt graugelbe Geschwüre. Die unteren Impfstriche zeigen gleichmäßig starke graugelbliche Infiltrationen. Entzündung noch auf der Höhe.

14. Tag (Höhepunkt). 21. III. Starke Sekretion im äußeren Lidwinkel, von einem durchgebrochenen Vakzinelidrandabszeß herrührend. Bulbus stark injiziert. Ganze Cornea gleichmäßig stark graublau getrübt. Pupille nicht zu sehen. Der ganze obere Impfstrich zeigt gelbweiße eitrige Infiltration von 3–5 mm Breite; an mehreren Stellen tiefe linsengroße Geschwüre mit zerfressenen Rändern.

17. Tag (Rückgang). 24. III. Etwas Sekretion. Starke Injektion. Ganze Hornhaut gleichmäßig blaugrau. Oberer Impfstrich, der am 21. III. noch stark infiltriert war, ist stark vaskularisiert.

29. III. Das Bild ist heute so gut wie unverändert. Die Vaskularisation hat nicht weiter zugenommen. Die Impfstriche zeigen in der Tiefe noch stecknadelkopfgroße gelbliche Infiltrate.

3. IV. Noch etwas Lichtscheu. Große graublaue Narbentrübung an den Impfstrichen und Reste von gelblicher Infiltration.

32. Tag (Heilung). 8. IV. Große dichte Narben. Pupille wieder weit.

Bei diesem Versuche kommt die Hornhautimmunität nur in geringem Umfang zum Ausdruck. Es entwickeln sich bei beiden immunisierten Tieren bereits am 3. Tage schmale graue

Geschwüre und diese nehmen am 7. Tage eitrigen Charakter an. Sie greifen allerdings nicht in größerem Umfange über die Impfstriche hinaus, so daß schon am 10. Tage der Rückgang der Entzündung festgestellt wird. Bis die Entzündung völlig abgeklungen ist, sind 27 Tage vergangen.

Das Kontrolltier zeigt Geschwürsbildung erst am 7. Tage (also einige Tage später als das immunisierte Tier), jedoch bleibt die Entzündung infolge des eitrigen Zerfalls der Geschwüre bis zum 14. Tage auf der Höhe; erst am 17. Tage ist das Zurückgehen der Entzündung im Protokoll notiert. Im Gegensatz dazu ist bei dem immunisierten Tiere, da nur kleinere graue Geschwüre aufgetreten waren, schon am 10. Tage Rückgang der Entzündung festgestellt. Die Infektionsdauer beträgt bei den Kontrollen ca. 32 Tage, bei den immunisierten Tieren ca. 27 Tage. Es ist also im ganzen der Unterschied im Verlauf der Infektion bei den immunisierten und den Kontrolltieren nicht so auffallend wie im Versuch II. Worauf dieses beruht, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen. In Analogie zu den von Gins (4) angestellten Vakzineexperimenten beim Kaninchen erwarteten wir in diesem Falle einen noch höheren Immunitätsgrad als im Versuch II.

Bekanntlich zeigt sich nach den Untersuchungen von Gins die Hornhautimmunität am besten einige Monate (2 Monate und mehr) nach der Allgemeinimmunisierung. Dieses ist von Sato (5) bestätigt worden. Wie aus seinen Protokollen hervorgeht, ist bei mehreren Kaninchen die Nachimpfung an der Hornhaut erst nach 4—7 Monaten vorgenommen worden und dieselbe schlug völlig fehl. Wir hatten also in unserem Falle, wo eine wiederholte ausgiebige intravenöse und kutane Impfung im Laufe mehrerer Monate vorgenommen war und die letzte Impfung ca. 4 Monate zurück lag, erst recht einen besonders hohen Immunitätsgrad an der Hornhaut zu erwarten und nahmen daher bei den günstigen Erfahrungen im II. Versuch an, daß in diesem III. Versuch die Hornhautimpfung so gut wie negativ verlaufen würde. Anstatt dessen sahen wir einen nur mäßigen Unterschied in dem Ablauf der Infektion bei den immunisierten- und beim Kontrolltier. Diesen Widerspruch können wir nicht erklären. Wir sind trotzdem geneigt, an-

zunehmen, daß die Feststellung von Gins und Sato auch für das Kalb bzw. Rind gilt. Es bedarf dieser Punkt noch einer weiteren experimentellen Nachprüfung.

Zum Schluß bringen wir eine tabellarische kurze Uebersicht der Resultate unserer Versuche.

Infektionsstufe I	(sehr milde Reaktion)	= +
„	II (schwache Reaktion)	= ++
„	III (mittelschwere Reaktion)	= +++
„	IV (schwere Reaktion)	= ++++
„	V (schwerste Reaktion)	= +++++

mit Verlust des Auges

Versuch	Rind	Vorbehandlung	Verlauf	Dauer	Kontroll-Rind	Verlauf	Dauer	Kontroll-Kaninchen
I. Impfung der Hornhaut mit Lymphverdün- nung 1:100. 3 parallele Impf- striche.			Nicht näher beschrieben da die Rindercornea gegenüber der Lymphverdün- nung 1:100 eine so starke Resistenz hat, daß nur 1 Kontrollauge eine vorüber- gehende sehr leichte Infektion bekommt.					Die hinreichende Virulenz der Lymphverdün- nung 1:100 wird durch den Kon- trollversuch am Kaninchenauge bewiesen. No. 225 = +++++
II. Impfung der Hornhaut mit un- verdünnter Eucupinlymphe Hannover. 3 parallele Impf- schnitte.	No. 52 No. 65 No. 58 No. 56 No. 60 No. 63	1 × kutan 3 × iv. 1 × kutan 2 × iv. 1 × kutan 3 × iv. 1 × kutan 1 × iv. 1 × kutan 3 × iv.	++ + + + +++ +	15 Tg. 15 „ 15 „ 15 „ ca. 22 „ 11 „	No. 45 No. 49	++++ ++++	40 Tage ca. 33 Tage	No. 184 +++++ Panophthalmie
III. Impfung der Hornhaut mit un- verdünnter Eucupinlymphe Hannover 3 parallele Impf- schnitte.	No. 38 No. 39	3 × kutan 4 × iv. 2 × kutan 3 × iv.	+++ bis ++++ +++ bis ++++	27 Tg. 27 „	No. 76	++++	32 Tage	

Zusammenfassung.

1) In Uebereinstimmung mit anderen Autoren konnten wir feststellen, daß beim Rinde Allgemeinimmunisierung eine Hornhautimmunität hervorruft.

2) Es bestehen jedoch in dem am Auge erreichten Immunitätsgrad erhebliche Schwankungen, indem eine einzige ausgedehnte Kutanimpfung eine ausgesprochene Hornhautimmunität gegen unverdünnte Lymphe herbeiführen kann, während in anderen Fällen nach wiederholter intravenöser und kutaner Impfung die Hornhautimmunität gering ist.

3) Rinderaugen sind gegen die Impfung mit virulenter Lymphe resistenter als Kaninchenaugen. Daher empfiehlt sich für die Vakzineuntersuchung an der Hornhaut von Rindern die Verwendung von unverdünnter oder nur schwach verdünnter Lymphe.

4) Die durch Eucupinzusatz steril gemachte Lymphe ist für das Studium der experimentellen Keratitis sehr geeignet, da die sonst das Krankheitsbild manchmal störende Beimengung von Eiterbakterien ausgeschaltet ist. Eine Nebenwirkung des Eucupins auf das an sich sehr empfindliche Kaninchenauge wurde nicht beobachtet.

5) Das Krankheitsbild an der Rindercornea ist nicht so ausgeprägt und übersichtlich wie das an der Kaninchencornea. Die von mir bei der Kaninchenvakzinekeratitis beschriebenen verzweigten, herpesartigen Ausläufer auf dem Höhepunkt des Impfprozesses wurden beim Rinde nicht beobachtet.

Literaturverzeichnis.

- 1) Bécélère, Chambon, Ménard, Études sur l'immunité vaccinale et le pouvoir immunisant. Annales de l'Inst. Pasteur, 1896.
- 2) Strauß, Chambon, Ménard, Recherches expérimentales sur la vaccine chez le veau. La Semaine méd., 1890; Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 9, S. 516.
- 3) Grüter, Ueber die Anteilnahme der Kaninchencornea an der allgemeinen Vakzineimmunität. Bericht der Ophthalmolog. Gesellsch., Heidelberg 1910, und
Grüter, Kritische und experimentelle Studien über die Vakzineimmunität des Auges und ihre Beziehungen zum Gesamtorganismus. Arch. f. Augenheilk., Bd. 70 (1911/12), H. 3/4.
- 4) Gins, Ueber experimentelle Vakzine und Vakzineimmunität. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 82, S. 89.
- 5) Sato, Experimentelle Beiträge zur Vakzineimmunität. Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 32, 1921, Heft 6.
- 6) Kirstein, Kernfreimachung der Schutzpockenlymphe mittels Morgenrothscher Chinaalkaloide. Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 40.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten,
Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Vergleichende Untersuchungen über den Heilwert hochwertiger und niederwertiger Diphtheriesera.

Von Dr. **Kazufusa Sato** (Osaka).

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Mai 1922.)

Durch die in letzter Zeit von verschiedenen Seiten vorgenommenen gründlichen experimentellen Untersuchungen ist erneut gezeigt worden, daß das Diphtherieserum einzig und allein dem Gehalt an spezifischem Antitoxin seine ausgesprochene Schutz- und Heilkraft verdankt. Die Wirkung, die das normale Pferdeserum unter Umständen äußert, ist gegenüber nur eng begrenzt und reicht, wie das Tierexperiment lehrt, auch nicht im entferntesten an die Leistungen des spezifischen Serums heran. Hiermit finden sich die klinischen Beobachtungen im Einklang. Die Veröffentlichungen, die sich auf eine Nachprüfung der bekannten Bingelschen Angaben beziehen, kommen fast übereinstimmend zu dem Schluß, daß die Behandlung der menschlichen Diphtherie mit spezifischem Diphtherieserum bessere Resultate gibt, als die Injektion normalen Pferdeserums. (Vgl. Feer, Karger, S. Meyer, Herzfeld, H. Meyer u. a.) Immerhin kann nach manchem dieser Berichte dem normalen Pferdeserum ein gewisser therapeutischer Einfluß nicht abgesprochen werden. Ebenso wie auch sonst die unspezifische „Proteinkörpertherapie“ gelegentlich Erfolge aufzuweisen hat, scheint bei der Diphtherie das normale Pferdeserum die Widerstandskraft des Organismus stärken zu können. So ist es erklärlich, daß selbst unter den Autoren, die für die überlegene Wirkung des antitoxischen Serums eintreten, sich Stimmen finden, die auf das Serum als solches Wert legen und es daher für richtig halten, nicht nur eine ausreichende Menge von Antitoxin, sondern zugleich möglichst große Serummengen zu injizieren (vgl. Czerny, Klotz, S. Meyer, v. Starck, Schwenken-

becher). Aus dieser Forderung würde sich also der Schluß ergeben, daß die Verwendung hochwertiger Sera mit ihrem konzentrierten Antitoxingehalt nicht das richtige sei, weil hierbei die resistenzsteigernde Wirkung des Serums nicht genügend ausgenutzt werde, und daß demgemäß niedrigwertige Sera vorzuziehen seien.

Damit steht nun aber die Ansicht im Widerspruch, die man sich bisher wohl im allgemeinen und in den meisten Ländern über diese Frage gebildet hatte. Man erblickte ja gerade in der Einführung der hochwertigen Sera in die Therapie einen wesentlichen Fortschritt und sprach es als einen Vorzug an, daß eine geringe Serummenge schon zur Injektion ausreichte, in erster Linie deshalb, weil man darauf bedacht war, der Anaphylaxie auf jedem nur möglichen Wege vorzubeugen. Man mag die Gefahr der Anaphylaxie nach den vorliegenden Erfahrungen für den Menschen auch noch so gering einschätzen, so ist es doch klar, daß man eine Verminderung der Serummenge als Mittel zur Einschränkung dieser bestehenden oder vermeintlichen Gefahr unter allen Umständen begrüßen müßte. Voraussetzung dabei ist freilich, daß das hochwertige konzentrierte Serum dasselbe leistet, wie das niedrigwertige, sofern die injizierte Antitoxinmenge in beiden Fällen die gleiche ist. Das wurde bisher als Tatsache angenommen, nicht sowohl auf Grund klinischer Beobachtungen, sondern vor allen Dingen als Schlußfolgerung aus dem Tierexperiment, das in zahllosen Versuchen immer wieder die ausschlaggebende und entscheidende Bedeutung des Antitoxingehaltes für den Heilwert des Serums bestätigt hatte.

Freilich wurde von mancher Seite dieser Auffassung widersprochen. Namentlich sind es französische Autoren, die den antitoxischen Wert des Diphtherieserums nicht allein berücksichtigt wissen wollen und der Bevorzugung der hochwertigen Sera nicht ohne weiteres zustimmen. Auch sonst bestand schon immer mancherorts die Neigung, möglichst große Serumengen zu injizieren, ohne Rücksicht auf den Antitoxingehalt des Serums.

Bei dem Interesse, das die hier angedeutete Frage auf Grund der neueren Veröffentlichungen wieder gewonnen hat, mußte es erwünscht sein, auf experimentellem Wege ihrer

Lösung nachzugehen. Betont sei dabei ausdrücklich, daß diese Frage, streng genommen, nicht einfach identisch ist mit der Frage nach den Beziehungen zwischen dem nach dem Ehrlich'schen Prüfungsmodus ermittelten Antitoxingehalt eines Serums und seiner Schutz- und Heilkraft. Es ist ja zur Genüge bekannt, daß die von Ehrlich begründete Lehre, wonach der im Toxin- und Antitoxinmischungsversuch ermittelte antitoxische Wert des Diphtherieserums auch den Wertmesser für seine Heilkraft abgibt, von mancher Seite angegriffen worden ist. Auf die Einwände, die in dieser Hinsicht von Roux, Barikine u. a. erhoben und dann namentlich von Kraus und seinen Mitarbeitern auf Grund umfassender Experimente geltend gemacht worden sind, soll hier nicht näher eingegangen werden. Es scheint uns, daß diese Einwände durch die Arbeiten von Bergholz, Neufeld und Haendel, Brüstlein, Friedberger, Kolle und Schloßberger u. a. durchaus widerlegt sind. Der Kardinalpunkt, um den es sich bei der uns interessierenden Aufgabe handelt, ist ja ein anderer. Nicht etwa lediglich, ob verschiedene Sera bei Verwendung gleicher Antitoxinmengen die gleichen Heilresultate ergeben, sollte entschieden werden, sondern die Frage war die, ob die gleiche Antitoxinmenge einen Unterschied der Wirkung zeigt, je nachdem sie mit einer geringeren oder größeren Serummengemenge dem Körper zugeführt wird.

Die Versuchsanordnung mußte demgemäß eine andere sein als die gemeinhin geübte. Bei der Auswertung der Sera im Mischungsversuch oder auch sonst bei wissenschaftlichen Experimenten zum Studium der Schutz- und Heilkraft des Serums wird ja immer so verfahren, daß das Serum mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und bei allen Versuchen genau auf das gleiche Flüssigkeitsquantum gebracht wird. Für unseren Zweck kam dieses Verfahren nicht in Betracht. Hier wurde absichtlich gerade das umgekehrte Prinzip befolgt und die Heilinjektion mit verschiedenen Flüssigkeits-(Serum-)Mengen — bei gleichem Antitoxingehalt — vorgenommen. Dabei wurde die physiologische Kochsalzlösung vollkommen ausgeschaltet oder höchstens, in den ersten Versuchsreihen, zur Kontrolle herangezogen und das Serum ent-

weder unverdünnt benutzt, oder, falls Verdünnung notwendig war, diese Verdünnung mit normalem antitoxinfreiem Pferdeserum vorgenommen. Auf diese Weise war es möglich, die gleiche Antitoxinmenge in beliebig zu wählenden Serummengen zu injizieren, ohne daß überdies durch Kochsalzlösung, wie sonst, die Eiweißkonzentration geändert und damit ein Einfluß auf die Resorptionsverhältnisse ausgeübt wurde.

Die Versuche wurden an Meerschweinchen vorgenommen, die Wirkung des Serums im Heilversuch gegenüber einer Diphtherieinfektion geprüft. Wir hielten es für angebracht, den natürlichen Verhältnissen bei der menschlichen Diphtherie möglichst nahe zu kommen, und haben daher von der reinen Toxinvergiftung abgesehen. Zu gleicher Zeit haben wir die Dosierung der Bakterienkultur und des Serums, sowie die zeitlichen Bedingungen des therapeutischen Eingriffs so gewählt, daß individuelle Verschiedenheiten der Versuchstiere ganz zurücktreten mußten und nur deutliche Ausschläge erhalten wurden. Wir haben also mit vollem Bewußtsein darauf verzichtet, das Serum etwa genau bis auf 1 Antitoxineinheit oder gar nach Bruchteilen einer AE. zu bemessen, sondern uns begnügt, von dem nach der Ehrlichschen Methode ausgewerteten Serum ein größeres Quantum zu injizieren, so wie es nach einer Anzahl von Stunden zur Heilung der Tiere noch erforderlich war. Nur ausnahmsweise wurde der Antitoxingehalt der Sera nach dem Römerschen Verfahren ermittelt; es wird dies bei den betreffenden Versuchen ausdrücklich angegeben werden.

Zur Infektion diente ein frisch isolierter Diphtheriestamm von typischem Verhalten. Er wurde in Form von 48-stündigen Bouillonkulturen verwendet, so daß Infektion und Intoxikation nebeneinander zur Geltung kamen. Die gut gewachsenen Kulturen wurden zunächst kräftig aufgeschüttelt und alsdann zur Befreiung von gröberen Bakterienpartikelchen durch ein steriles Papierfilter filtriert. Das Filtrat zeigte noch ausgesprochene Trübung und enthielt reichlich Diphtheriebazillen. Es war aber auf diese Weise immer eine ziemlich gleichmäßige Konzentration des Infektionsmaterials gewährleistet. Die Impfungen erfolgten ausschließlich subkutan, an der Brusthaut, in der Gegend der Achselhöhle. Durch Vor-

versuche war eine mittlere Virulenz unseres Stammes bei dieser Art der Verwendung festgestellt worden. Durch 0,3 ccm wurden Meerschweinchen von 200–300 g in ca. 2 $\frac{1}{2}$ Tagen getötet. Als Infektionsdosis wurde infolgedessen für unsere Prüfungen fast stets eine Dosis von 0,5 ccm, in einigen Versuchen 0,7 ccm gewählt.

Die Sera, die mir zur Verfügung standen, durchweg Pferdesera, waren nach Alter und Antitoxingehalt verschieden. Neben den im hiesigen Seruminstitut hergestellten Diphtheriesera wurden in einzelnen Versuchen auch solche anderer Herkunft benutzt. Die Sera waren, ebenso wie das normale Pferdeserum, karbolisiert, nur ausnahmsweise gelangte frisches, phenolfreies Serum zur Verwendung, ohne daß sich hierbei ein Unterschied ergeben hätte. Die Einspritzung des Serums erfolgte durchweg intraperitoneal.

Die Meerschweinchen waren im allgemeinen im Gewicht zwischen 250–300 g, doch ließ es sich nicht vermeiden, daß gelegentlich etwas leichtere oder schwerere Tiere mit in die Versuchsreihe genommen werden mußten. Die Dosierung der Diphtheriekultur blieb trotzdem immer die gleiche, weil uns dies bei den geringfügigen Gewichtsunterschieden der Versuchstiere zulässig schien. Der meist glatte Verlauf der Versuche hat uns darin recht gegeben.

Zunächst wurden in einer Reihe orientierender Vorversuche die Antitoxinmengen ermittelt, die für Heilzwecke bei der von mir gewählten Versuchsanordnung in Betracht kamen. Es zeigte sich dabei, daß gegenüber der Infektion, die in 1–2 Tagen zum Tode der Kontrolltiere führte, eine Serumdosis von 200 AE. imstande war, noch etwa 6–7 Stunden nach der Infektion die behandelten Tiere zu retten. Bei milderer Infektion († 4–5) wurden durch 1000 AE. die Tiere noch nach 24 und 30 Stunden gerettet. Ich habe bei den weiteren Versuchen die Anordnung meist so getroffen, daß eine Dosis von 200 AE., teils unverdünnt, teils in verschiedener Art der Verdünnung wechselnde Zeiten nach der Infektion den Tieren einverleibt wurde. Gewöhnlich nahm ich die Heilimpfungen von 2 zu 2 Stunden vor, ein Zwischenraum, der vielleicht etwas groß erscheinen mag, trotzdem aber, wie ein Vergleich mit den später in einstündigen Abständen aus-

geführten Injektionen zeigt, einen klaren Ueberblick über die zeitlichen Grenzen der Heilungsmöglichkeit gewährt.

Die erste Versuchsreihe, die in Tabelle I wiedergegeben ist, bestand darin, daß von einem 400fachen Serum ein Teil der Tiere nach 2, 4, 6, 8 und 10 Stunden je 0,5 ccm = 200 AE. erhielt, ein anderer Teil die gleiche Antitoxinmenge (0,5 ccm), aber mit 4,5 ccm NaCl-Lösung auf 5 ccm aufgefüllt. Beide Kategorien von Tieren unterscheiden sich also nur durch die Flüssigkeitsmenge, in der die ihnen verabfolgte, durchweg gleiche Antitoxinmenge von 200 AE. enthalten war. Hier wurde also zunächst noch Kochsalzlösung verwendet, die das Flüssigkeitsquantum zwar vermehrte, aber, wie bereits erwähnt, wegen Aenderung des Eiweißgehalts der Flüssigkeit nicht ohne

Tabelle I.

Heilversuch mit unverdünntem Diphtherieserum und mit dem gleichen, durch Vermischen mit NaCl-Lösung verdünnten Serum.
Diphtherieserum = 400fach.

No.	Gewicht	Diph.- Bouillon- kultur	Seruminjektion		Ergebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der Injektion	Antitoxinmenge		
1	336 g	0,5ccm	2 Std.	0,5 ccm = 200 AE.	lebt	kleine Infiltration
2	240 „	dgl.	4 „	dgl.	„	ziemlich deutliche Infiltration mit Nekrose
3	215 „	„	6 „	„	„	dgl.
4	200 „	„	8 „	„	„	starke Nekrose, Geschwürsbildung. Nach 24 Tagen geheilt
5	200 „	„	10 „	„	† 7	Sektionsbefund typisch
6	350 „	„	2 „	Antitoxin 0,5 } NaCl-Lös. 4,5 } = 5 ccm 200 AE.	lebt	kleine Infiltration
7	305 „	„	4 „	dgl.	„	starke Nekrose, später Geschwürsbildung
8	205 „	„	6 „	„	„	dgl.
9	205 „	„	8 „	„	„	„
10	212 „	„	10 „	„	† 1½	Sektionsbefund typisch
11	208 „	„	Kontr.	—	† 2½	dgl.

weiteres die Verhältnisse wiedergibt, wie sie in der Praxis bei Verwendung niedrigwertiger Sera vorliegen. Immerhin ist schon hier ersichtlich, daß ein Unterschied im Verlauf je nach dem injizierten Flüssigkeitsquantum nicht hervortritt. Die Tiere wurden bis zu 8 Stunden nach der Infektion gerettet, gleichgültig, ob das Antitoxin in reiner, konzentrierter Form oder in einem größeren Flüssigkeitsquantum injiziert worden war. Fast könnte man eine etwas günstigere Wirkung des unverdünnten Serums herauslesen, da es nach 10 Stunden noch zu einer deutlichen Verzögerung des Todes kam, wogegen das mit verdünntem Serum zu gleicher Zeit behandelte Versuchstier keine Spur von Schutz zeigte, sondern sogar noch rascher als das Kontrolltier einging.

In dem gleichen Sinne fiel ein zweiter Versuch aus, bei dem die Infektion mit einer stärkeren Kulturdosis (0,7 ccm)

Tabelle II.

Heilversuch wie in Tabelle I, nur bei stärkerer Infektion.
Serum = 200fach.

No.	Gewicht	Diph.- Bouil- lon- kultur	Seruminjektion		Er- gebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der In- fek- tion	Antitoxinmenge		
12	316 g	0,7 ccm	4 Std.	1 ccm = 200 AE.	lebt	starke Nekrose, dann Geschwürs- bildung
13	271 "	dgl.	6 "	dgl.	"	dgl.
14	252 "	"	8 "	"	† 8	Sektionsbefund nicht ganz typisch
15	262 "	"	10 "	"	† 5	Sektionsbefund ty- pisch
16	281 "	"	12 "	"	† 1½	dgl.
17	340 "	"	4 "	Antitoxin 1 } NaCl-Lös. 3 } = 4 ccm 200 AE.	lebt	starke Nekrose, Ge- schwürsbildung
18	317 "	"	6 "	dgl.	† 7	Sektionsbefund ty- pisch
19	251 "	"	8 "	"	† 1½	dgl.
20	232 "	"	10 "	"	† 1½	"
21	283 "	"	12 "	"	† 2½	"
22	322 "	"	Kon- trolle	—	† 1½	"
23	322 "	"	"	—	† 1½	"

und einem anderen Serum vorgenommen worden war (vgl. Tabelle II). Von einer Ueberlegenheit des 4fach verdünnten Serums ist keine Rede, sondern im Gegenteil wirkt hier 1 ccm des unverdünnten Serums deutlich besser. Nicht nur daß eine Rettung von schwerer Infektion noch nach 6 Stunden gelang, wogegen die gleiche Antitoxinmenge (200 AE.), mit Kochsalzlösung verdünnt, zu dieser Zeit schon versagte und ihre Heilkraft nur bis zu 4 Stunden äußerte, fiel auch der Vergleich der trotz Seruminjektion eingegangenen Tiere zugunsten der konzentrierten Antitoxinlösung aus. Erst nach 12 Stunden versagte das unverdünnte Serum, indem der Tod des betreffenden Tieres genau wie der des Kontrolltieres eintrat, nach 8 und selbst nach 10 Stunden aber war ein günstiger Einfluß des Serums noch unverkennbar vorhanden. Demgegenüber war bei Verdünnung mit Kochsalzlösung die Wirkung des Serums zu dem gleichen Zeitpunkt, nach 8 und 10 Stunden, schon vollkommen erloschen.

Sprechen also auch die bisherigen Versuche dafür, daß das Antitoxin in konzentrierter Form sogar besser zur Geltung kommt als bei Verdünnung, so sind doch aus dieser Tatsache für die uns beschäftigende Frage keine bestimmten Schlußfolgerungen zu ziehen. Die Resorptionsverhältnisse vor allen Dingen erfahren bei Vermischung des Serums mit Kochsalzlösung eine so weitgehende Aenderung, daß schon aus diesem Grunde das Ergebnis nicht beweiskräftig sein kann. Es sei übrigens in diesem Zusammenhange auf die interessanten Ergebnisse hingewiesen, die Walbum bei seinen Untersuchungen über den Einfluß der Eiweißkonzentration auf die Resorption der Serumantikörper erhalten hat. Während nach subkutaner und intramuskulärer Injektion des Immunserums (Coliagglutinin, Ziege) die Resorption um so rascher erfolgte, je weniger konzentriert der Eiweißgehalt des Serums war, änderten sich die Dinge vollkommen, sobald der intraperitoneale oder intravenöse Injektionsmodus gewählt wurde. Die Geschwindigkeit der Resorption war alsdann ziemlich unabhängig vom Eiweißgehalt des Serums, aber nach intravenöser Einspritzung vollzog sich die Abnahme der Antikörper im Blut langsamer, wenn konzentriertes Serum mit hohem Eiweißgehalt verwendet wurde. Hier läge also ein

Analogon vor zu unseren Befunden, das die bessere Wirkung des konzentrierten Serums erklären könnte.

Wir haben nun fernerhin, entsprechend unserem eigentlichen Versuchsplan, die Verdünnung des Serums, wo eine solche vorgenommen werden sollte, immer nur mit normalem Pferdeserum hergestellt oder aber von vornherein Sera von verschiedenem Antitoxingehalt benutzt. Zuvor aber kam es darauf an, uns zu überzeugen, inwieweit unter den gegebenen Bedingungen das normale Serum etwa Heilkraft zu entfalten und das spezifische Antitoxin in seiner Wirkung zu unterstützen vermag. Deshalb wurde ein Versuch genau in der gleichen Weise wie auch sonst angestellt, nur jedesmal eine Dosis von 5 ccm Normalserum eingespritzt. Ein Erfolg war, wie Tabelle III zeigt, nicht nachweisbar. Die Tiere starben fast genau zu gleicher Zeit und mit genau den gleichen Erscheinungen wie das Kontrolltier, so daß das Serum auch nicht eine Spur von Heilwirkung äußerte. Daß ein einziges Tier (No. 27), das nach 8 Stunden behandelt worden war, mit dem Leben davonkam, will nichts besagen. Denn dieses Tier fällt ganz aus dem Rahmen und, wenn es nach schwerster Er-

Tabelle III.
Heilversuch mit normalem, antitoxinfreiem Pferdeserum.

No.	Gewicht	Diph.- Bouil- lon- kultur	Seruminjektion		Er- gebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der In- fek- tion	Normalpferdeserum		
24	242 g	0,5 ccm	2 Std.	5,0 ccm	† 2	Sektionsbefund ty- pisch
25	225 „	dgl.	4 „	dgl.	† 1½	dgl.
26	228 „	„	6 „	„	† 1½	„
27	300 „	„	8 „	„	lebt	ausgedehnte Ne- krose, später Ge- schwürsbildung, nach 30 Tagen ge- heilt. Starke Ab- magerung.
28	222 „	„	10 „	„	† 1½	Sektionsbefund ty- pisch
29	235 „	„	Kontr.	—	† 1½	dgl.

krankung schließlich am Leben geblieben ist, so hat wohl lediglich irgendein unbekannter Zufall individueller oder technischer Art dabei mitgespielt. Das etwas höhere Gewicht dieses Tieres dürfte kaum als Erklärung heranzuziehen sein, da das Serum ja schon nach 2 Stunden versagt hatte und dieser zeitliche Abstand den Gewichtsunterschied wohl reichlich ausgeglichen hat. Auch spätere Versuche haben keinerlei Anhaltspunkte für eine irgendwie nennenswerte therapeutische Wirksamkeit des normalen Pferdeserums unter den von mir eingehaltenen Versuchsbedingungen ergeben. Die Beobachtung von Kastenmeyer u. a., wonach nicht nur eine Intoxikation der Tiere mit Diphtheriegift, sondern auch die Infektion mit lebenden Diphtheriebazillen unter Umständen durch normales Pferdeserum geheilt werden kann, habe ich also in meinen Versuchen nicht bestätigt gefunden. Daß dem normalen Serum innerhalb gewisser Grenzen die Fähigkeit zukommt, selbst bei nachträglicher Injektion einen günstigen Einfluß auszuüben, trifft sicherlich zu. Das haben ja auch die neueren Beobachtungen von Kolle und seinen Mitarbeitern, sowie von S. Meyer u. a., ergeben. Ich selbst habe bei der experimentellen Trachealdiphtherie der Kaninchen das gleiche wahrnehmen können. Aber eine so weitgehende Wirkung des normalen Pferdeserums, daß noch die Infektion mit der 100fachen tödlichen Dosis einer virulenten Diphtheriekultur geheilt werden könnte, wie Kastenmeyer fand, beruht offenbar auf irgendwelchen nicht sicher anzugebenden Zufälligkeiten. Bei meinen eigenen Versuchen hat, wie wir sahen, gegenüber der Infektion mit der etwa 3fach tödlichen Kulturdosis das normale Pferdeserum glatt versagt.

Der folgende, in Tabelle IV mitgeteilte Versuch ist mit einem 400fachen Diphtherieserum angestellt. Eine Reihe von Tieren erhielt von dem unverdünnten Serum 0,5 ccm = 200 AE. nach 4, 6, 8 und 10 Stunden, eine zweite Reihe die gleiche Antitoxinmenge, aber nach Vermischung mit 4,5 ccm normalem Pferdeserum. Die Serummenge war also in dem letzteren Falle die 10fache. Anders ausgedrückt, könnte man auch sagen, das ursprünglich 400fache Serum wurde durch Vermischen mit normalem Pferdeserum künstlich in ein nur 40faches verwandelt, so daß erst 5 ccm die erforderliche Dosis von 200 AE.

Tabelle IV.

Heilversuch mit einem 400fachen Diphtherieserum. Serum teils unverdünnt, teils nach Verdünnung mit normalem Pferdeserum injiziert. Stets gleiche Antitoxinmengen.

No	Gewicht	Diph.- Bouillon- kultur	Seruminjektion		Ergebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der Infektion	Antitoxinmenge		
30	235 g	0,5 ccm	4 Std.	0,5 ccm = 200 AE.	lebt	starke Nekrose, später kleine Geschwürsbildung
31	250 „	vgl.	6 „	vgl.	„	starke Nekrose, später große Geschwürsbildung
32	230 „	„	8 „	„	† 2 ¹ / ₂	Sektionsbefund typhisch
33	220 „	„	10 „	„	† 1 ¹ / ₂	vgl.
34	240 „	„	4 „	Antitoxin 0,5 Normalser. 4,5 } = 5 ccm 200 AE.	lebt	starke Nekrose, große Geschwürsbildung
35	255 „	„	6 „	vgl.	„	vgl.
36	225 „	„	8 „	„	† 1 ¹ / ₂	Sektionsbefund typhisch
37	218 „	„	10 „	„	† 1 ¹ / ₂	vgl.
38	260 „	„	Kontr.	„	† 1 ¹ / ₄	„

enthielten. Das Resultat ist, wie sich zeigt, in beiden Fällen das gleiche. Sowohl das unverdünnte wie das verdünnte Serum vermochte die Tiere nach 6 Stunden noch zu retten, 8 Stunden nach der Infektion versagten sie aber beide. Ein wesentlicher Unterschied war nicht zu konstatieren, die kleine Serummenge von 0,5 ccm des unverdünnten Antitoxins hatte mindestens das gleiche geleistet wie die wesentlich größere Serumdosis von 5 ccm des künstlich verdünnten Antitoxins.

Ein anderer Versuch (Tabelle V) unterschied sich von dem soeben besprochenen nur dadurch, daß an Stelle eines 400fachen ein 500faches Serum verwendet und der Zwischenraum zwischen den Injektionszeiten in der kritischen Periode auf 1 Stunde (statt 2 Stunden) verkürzt wurde. Die Tiere erhielten nach 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9 Stunden teils 0,4 ccm Immuns serum (200 AE.), teils 0,4 ccm Immuns serum + 4,6 ccm normales Pferdeserum. Hier scheint eine kleine Ueberlegenheit

Tabelle V.

Heilversuch mit einem 500fachen Diphtherieserum. Serum teils unverdünnt, teils nach Verdünnung mit normalem Pferdeserum injiziert. Stets gleiche Antitoxinmengen.

No.	Gewicht	Diph.- Bouil- lon- kultur	Seruminjektion		Er- gebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der In- fek- tion	Antitoxinmenge		
39	240 g	0,5 cem	1 Std.	0,4 cem = 200 AE.	lebt	geringe Infiltration
40	239 "	dgl.	3 "	dgl.	"	starke Nekrose, vom 4. Tage an, später Geschwürsbildung
41	285 "	"	5 "	"	"	starke Nekrose, vom 3. Tage an, später Geschwürsbildung
42	280 "	"	6 "	"	"	dgl.
43	235 "	"	7 "	"	† 5	an der Impfstelle geringes Oedem, hämorrhagisch. Kein Exsudat in der Brust-u. Bauch- höhle; nur rechte Nebenniere schwach gerötet.
44	245 "	"	8 "	"	† 2	Sektionsbefund ty- pisch
45	255 "	"	9 "	"	† 2	dgl.
46	240 "	"	1 "	Antitoxin 0,4 Normalser. 4,6 = 5 cem 200 AE.	lebt	kleine Infiltration
47	225 "	"	3 "	dgl.	"	starke Nekrose, vom 3. Tage an, später Geschwürsbildung
48	250 "	"	5 "	"	"	dgl.
49	285 "	"	6 "	"	"	"
50	235 "	"	7 "	"	"	sehr starke Nekrose und Geschwürsbil- dung Tier stark ab- gemagert
51	245 "	"	8 "	"	† 2	Sektionsbefund ty- pisch
52	260 "	"	9 "	"	† 1½	dgl.
53	265 "	"	Kontr.	—	† 1½	"

des größeren Serumquantums zutage zu treten, denn während das unverdünnte Serum seine sichere Heilkraft nur bis zu 6 Stunden nach der Infektion zu äußern vermochte, wurde

durch das verdünnte Serum auch das nach 7 Stunden behandelte Tier noch gerettet. Freilich ist bei genauerem Zusehen die Ueberlegenheit keine so erhebliche, denn einerseits ist das letzterwähnte Tier auch nur nach schwerster Erkrankung mit dem Leben davongekommen, andererseits aber das entsprechende Tier aus der anderen Reihe, also das 7 Stunden post infectionem mit dem unverdünnten Serum gespritzte, erst verspätet, am 5. Tage, und unter nicht ganz typischen Erscheinungen eingegangen. Aber, wie dem auch sei, der Vergleich ist in diesem Versuche zugunsten der größeren Serummenge ausgefallen.

Daß dies nicht die Regel ist, ergibt sich schon daraus, daß ich ein gleiches Resultat nicht wieder erhalten habe. Wohl aber kann bei größeren Versuchsreihen gelegentlich auch das umgekehrte Verhältnis beobachtet werden, wie ich wiederholt bestätigt fand. So wurde in einigen Versuchen ganz analoger Art die Anordnung nur insofern geändert, als das Antitoxin nicht in immer gleichbleibender Menge zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion, sondern in wechselnder Menge zu dem gleichen Termin injiziert wurde. Ein Beispiel dieser Art gibt Tabelle VI. Die in der gewöhnlichen Weise infizierten Tiere wurden hier sämtlich 5 Stunden später mit intraperitonealer Seruminjektion behandelt, und zwar so, daß die verabfolgten Antitoxinmengen 15, 30, 45, 60 und 90 AE. betragen. Diese Dosis erhielt eine Gruppe der Tiere in Form eines unverdünnten 75fachen Serums, also Serummengen von 0,2 ccm (15 AE.) bis 1,2 ccm (90 AE.), eine Parallelgruppe erhielt das gleiche Serum in gleichen Antitoxinmengen, aber so, daß das Injektionsquantum immer mit normalem Pferdeserum genau auf 5 ccm aufgefüllt wurde. Wie der Verlauf des Versuches lehrt, konnten alle Tiere gerettet werden, die 30 AE. oder mehr erhalten hatten, gleichgültig ob das Antitoxin in dem relativ kleinen Quantum des unverdünnten oder in der wesentlich größeren Menge des verdünnten Immunserrums enthalten war. Dagegen war das Schicksal der beiden mit nur 15 AE. gespritzten Tiere ein verschiedenes. Hier blieb das eine, und zwar das mit konzentriertem Antitoxin behandelte am Leben, während das andere trotz des 25mal größeren Serumquantums durch die gleiche Antitoxin-

Tabelle VI.

Heilversuch mit einem 75fachen Diphtherieserum, 5 Stunden nach der Infektion. Injektion des Serums teils unverdünnt, teils nach Verdünnung mit normalem Pferdeserum. Infektion: 0,5 ccm Diphtherie-Bouillonkultur.

Nr.	Gewicht	Antitoxin	Ergebnis	Bemerkungen
54	285 g	0,2 ccm = 15 AE.	lebt	starke Nekrose
55	275 „	0,4 ccm = 30 AE.	„	geringgradige Nekrose, vom 2. Tage an, später Abschuppung und Haar- ausfall
56	285 „	0,6 ccm = 45 AE.	„	geringe Nekrose, auch sonst wie oben
57	310 „	0,8 ccm = 60 AE.	„	dgl.
58	325 „	1,2 ccm = 90 AE.	„	geringe Nekrose, später nur Abschuppung
59	300 „	Antitoxin 0,2 ccm = 15 AE. Normalserum 4,8 ccm	† 3	Sektionsbefund typisch
60	273 „	Antitoxin 0,4 ccm = 30 AE. Normalserum 4,6 ccm	lebt	starke Nekrose, vom 3. Tage an, später Geschwürsbildung
61	285 „	Antitoxin 0,6 ccm = 45 AE. Normalserum 4,4 ccm	„	geringgradige Nekrose, vom 3. Tage an, aber keine Geschwürsbildung
62	320 „	Antitoxin 0,8 ccm = 60 AE. Normalserum 4,2 ccm	„	dgl.
63	323 „	Antitoxin 1,2 ccm = 90 AE. Normalserum 3,8 ccm	„	„
64	265 „	Kontrolle	† 3	Sektionsbefund typisch

menge nicht geheilt werden konnte; es ging nach 3 Tagen unter typischen Erscheinungen zugrunde. In diesem Falle war also die Ueberlegenheit auf der Seite des „hochwertigen“ Serums. Nach dem Gesamtergebnis meiner Experimente dürfen aber auch hieraus keine verallgemeinernden Schlußfolgerungen abgeleitet werden. Offenbar hielt sich die Antitoxinmenge von 15 AE. gerade an der Grenze der Dosis, die nach 5 Stunden noch eine Infektion zu heilen vermochte. Da unter solchen Umständen aber auch die individuellen Besonderheiten und Abwehrkräfte des Organismus, d. h. der Zustand des Tieres im Augenblick der Seruminjektion (5 Stunden nach der Infektion!) eine Rolle spielen müssen, ist es durchaus verständlich, daß der Ausgang nicht immer absolut der gleiche zu sein

braucht. Es wird bei der Verwendung der Grenz-(Minimal-) Dosis des Antitoxins gelegentlich einmal das eine oder andere Tier doch der Infektion erliegen, ohne daß die Wertigkeit des Serums, also die größere oder kleinere Serummenge, die bei gleichem Antitoxingehalt eingespritzt wurde, allein ausschlaggebend zu sein braucht. Wie unter diesen Umständen in dem Versuch 5 das verdünnte Serum etwas besser wirkte, hat sich in Versuch 6 gerade umgekehrt das konzentrierte Antitoxin besser bewährt. Es wurde daher ja auch bei der ganzen Anlage unserer Versuche auf große Antitoxinmengen und relativ große zeitliche Intervalle Bedacht genommen, um eben die individuellen Schwankungen nach Möglichkeit auszuschalten und klare Resultate zu gewinnen.

Für die weiteren Versuche habe ich sodann die beiden Parallelreihen der Versuchstiere immer mit 2 verschiedenen Sera, einem hochwertigen und einem antitoxinarmen, behandelt, also nicht, wie bisher, das antitoxinarme Serum aus dem antitoxinreichen erst durch Verdünnung künstlich hergestellt. Dazu war es aber nötig, den Antitoxingehalt der beiden, nebeneinander benutzten Sera so genau wie möglich auszutitrieren. Dies geschah mit Hilfe der Römerschen Intrakutanmethode. Als antitoxinarmes Serum diente ein 45faches Diphtherieserum, als hochwertiges zunächst ein 590faches, später ein 540faches. Die Versuchsanordnung blieb im übrigen die gleiche wie auch sonst. So wurden in einem ersten Versuch (Tabelle VII) 12 Tiere in der Zeit von 7 bis 12 Stunden nach der Infektion in Behandlung genommen, und zwar durchweg mit ca. 295 AE. Die eine Hälfte erhielt diese Antitoxindosis in der Menge von 0,5 ccm des 590fachen Serums, die andere in 6,5 ccm des nur 45fachen Serums. In dem letzteren Falle war somit das Serumquantum 13mal so groß. Die Antitoxindosis stimmte in beiden Serien nicht vollkommen genau überein, sie betrug bei dem hochwertigen Serum 295 AE., bei dem anderen nur 292,5 AE., weil sich ein absoluter Ausgleich aus technischen Gründen nicht gut herbeiführen ließ. Doch dürfte dieser äußerst geringe Unterschied bei unserer Versuchsanordnung ohne Belang gewesen sein. Eine Differenz von 2—3 AE. macht 10—12 Stunden nach der Infektion mit lebender Diphtheriekultur nichts aus.

Tabelle VII.

Heilversuch mit einem hochwertigen (590fachen) und einem niederwertigen (45fachen) Diphtherieserum. Beide Sera werden unverdünnt in gleichen Antitoxinmengen verwendet.

No.	Gewicht	Diph.- Bouil- lon- kultur	Seruminjektion		Er- gebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der In- fek- tion	Antitoxinmenge		
65	295 g	0,5 ccm	7 Std.	0,5 ccm = 295 AE. (Serum 590fach)	lebt	kleine, aber starke Nekrose, später Ge- schwürsbildung
66	295 „	dgl.	8 „	dgl.	„	starke Nekrose, vom 4. Tage an Ge- schwürsbildung
67	320 „	„	9 „	„	„	dgl.
68	255 „	„	10 „	„	„	„
69	275 „	„	11 „	„	† 2	Sektionsbefund ty- pisch
70	305 „	„	12 „	„	† 6	Geringes Exsudat in der Brust- und Bauchhöhle; sonst typisch
71	305 „	„	7 „	6,5 ccm = 292,5 AE. (Serum 45fach)	lebt	starke Nekrose, spä- ter Geschwürsbil- dung
72	300 „	„	8 „	dgl.	„	dgl.
73	290 „	„	9 „	„	„	„
74	323 „	„	10 „	„	„	„
75	305 „	„	11 „	„	† 1 ¹ / ₄	Sektionsbefund ty- pisch
76	315 „	„	12 „	„	† 3	dgl.
77	310 „	„	Kontr.	—	† 2	„

Die Tabelle lehrt, daß beide Reihen ein ganz übereinstimmendes Resultat geliefert haben. Die Rettung gelang bis zur 10. Stunde, während die nach 11 und 12 Stunden injizierten Tiere eingingen und die gleichen Erscheinungen zeigten wie das Kontrolltier. Ein einziges Tier (No. 70) starb etwas verspätet, am 6. Tage. Also auch unter diesen Versuchsbedingungen war ein Vorteil der größeren Serummenge nicht ersichtlich; die intraperitoneale Injektion von 6,5 ccm Serum entwickelte keinen höheren Heilwert als eine solche von 0,5 ccm.

In einem anderen Versuch konnten die Antitoxinmengen der beiden verwendeten Sera genau aufeinander eingestellt werden, so daß nach dieser Hinsicht kein Einwand mehr zu erheben war. Von dem antitoxinarmen 45fachen Serum wurden 6,0 ccm injiziert, also 270 AE., und von einem 540fachen Serum 0,5 ccm, ebenfalls 270 AE. Wie aus Tabelle VIII ersichtlich, war der Verlauf wiederum ganz der gleiche. Die

Tabelle VIII.

Heilversuch wie in Tabelle VII, nur wurde als hochwertiges Serum ein 540faches verwendet.

No.	Gewicht	Diph.- Bouil- lon- kultur	Seruminjektion		Er- gebnis	Bemerkungen
			Zeit nach der In- fek- tion	Antitoxinmenge		
78	335 g	0,5 ccm	8 Std.	0,5 ccm = 270 AE. (Serum 540fach)	lebt	starke Nekrose, be- ginnend am 3. Tage, später Geschwürs- bildung
79	325 „	dgl.	9 „	dgl.	† 12	starke Nekrose mit Geschwürsbildung, die beim Tode des Tieres in Verhei- lung begriffen. Ne- benniere etwas ver- größert, sonst wenig charakteristisch
80	310 „	„	10 „	„	† 2 1/2	Sektionsbefund ty- pisch
81	370 „	„	11 „	„	† 1 1/4	dgl.
82	320 „	„	12 „	„	† 1 1/2	„
83	230 „	„	8 „	6,0 ccm = 270 AE. (Serum 45fach)	lebt	starke Nekrose, be- ginnend am 3. Tage, später Geschwürs- bildung
84	320 „	„	9 „	dgl.	† 18	starke Nekrose mit Geschwürsbildung, die schon etwas zu- rückgegangen. Sek- tionsbefund nicht sehr typisch
85	295 „	„	10 „	„	† 1 1/4	Sektionsbefund ty- pisch
86	275 „	„	11 „	„	† 1 1/4	dgl.
87	320 „	„	12 „	„	† 1 1/2	„
88	290 „	„	Kontr.	—	† 1 1/4	„

Paralleltiere beider Serien zeigen sogar eine sehr weitgehende Uebereinstimmung in ihrem Verhalten. Nach 8 Stunden wurden beide Tiere gerettet, nach 9 Stunden tritt eine ausgesprochene Verzögerung des tödlichen Ausgangs ein, indem die Tiere erst nach 12 bzw. 18 Tagen der chronischen Giftwirkung unter nicht sehr charakteristischen Organveränderungen erliegen, und nach 10 Stunden und später ist eine therapeutische Wirkung überhaupt nicht mehr vorhanden. So stimmen auch in diesem Falle das hochwertige und das niedrigwertige Serum in ihrem Heilwert überein, indem offenbar die Antitoxinmenge, nicht die Serummenge für das Schicksal der Tiere entscheidend war. Selbst die 12fache Serummenge (6,0 ccm — 0,5 ccm) verbesserte die Antitoxinwirkung nicht.

Es sei endlich noch ein letzter Versuch angeführt, der, wenn man will, eigentlich nicht mehr direkt zu unserer Fragestellung in Beziehung steht, ein Versuch, bei dem verschiedenwertige Sera durch Zusatz von normalem Pferdeserum auf den gleichen Titer gebracht und so in Parallelreihen therapeutisch verwendet wurden. Hierbei schied also die Frage nach dem Einfluß der Serummenge aus, die Sera wurden vielmehr in gleichen Mengen und in gleicher Zahl von Antitoxineinheiten injiziert. Es sollte auf diese Weise noch einmal durch einen Kontrollversuch gezeigt werden, daß die Auswertung verschiedener Sera nach ihrem Antitoxingehalt (Ehrlichscher Prüfungsmodus) in der Tat einen sicheren Maßstab für die Heilkraft der Sera abgibt. Denn das war ja die notwendige und selbstverständliche Voraussetzung für unsere vergleichenden Untersuchungen, speziell für die letzten, in Tabelle VII und VIII mitgeteilten Experimente. Hierüber liegen, wie ich auch einleitend erwähnt hatte, bereits zahlreiche Versuche anderer Autoren vor, von denen sich meine eigenen nur dadurch unterscheiden, daß der Ausgleich des Antitoxingehalts durch Vermischen der Sera mit normalem Pferdeserum, nicht mit Kochsalzlösung, herbeigeführt, die physikalisch-chemische Beschaffenheit des Mediums also möglichst unverändert erhalten wurde.

In Tabelle IX ist ein solcher Versuch wiedergegeben. Er bezieht sich auf 3 Diphtheriesera mit einem antitoxischen Titer von 100 bzw. 200 und 500 AE. im ccm. Zur Injektion

Tabelle IX.

Heilversuch. 3 Sera von verschiedenem Antitoxingehalt, durch Verdünnung mit normalem Pferdeserum auf gleichen Antitoxinwert gebracht und in gleichen Mengen (200 AE. = 5 ccm) injiziert.

No.	Gewicht	Diph.- Bouil- lon- kultur	Zeit nach der In- fek- tion	Seruminjektion		Er- gebnis	Bemerkungen
				Antitoxin + Normalserum			
89	266 g	0,5 ccm	2 Std.	Serum 100fach Antitoxin 2) Normalser. 3)	= 5 ccm	lebt	leichte Infiltration. Keine Nekrose
90	265 „	dgl.	4 „	dgl.		„	Infiltration und un- bedeutende Nekrose
91	215 „	„	6 „	„		„	Nekrose und Ge- schwürsbildung
92	227 „	„	8 „	„		„	dgl.
93	220 „	„	10 „	„		† 3	Sektionsbefund nicht ganz typisch
94	310 „	„	4 „	Serum 200fach Antitoxin 1) Normalser. 4)	= 5 ccm	lebt	starke Nekrose, später kleine Ge- schwürsbildung
95	205 „	„	6 „	dgl.		„	dgl.
96	237 „	„	8 „	„		„	Nekrose, später ziemlich große Ge- schwürsbildung
97	215 „	„	10 „	„		† 5 1/2	Sektionsbefund nicht ganz typisch
98	307 „	„	4 „	Serum 500fach Antitoxin 0,4) Normalser. 4,6)	= 5 ccm	lebt	geringe Nekrose, und unbedeutende Geschwürsbildung
99	205 „	„	6 „	dgl.		„	starke Nekrose, Ge- schwürsbildung
100	227 „	„	8 „	„		„	dgl.
101	227 „	„	10 „	„		† 7 1/2	Sektionsbefund nicht ganz typisch
102	267 „	„	Kontr.	—		† 2	Sektionsbefund ty- pisch
103	262 „	„	„	—		† 2	dgl.

gelangten stets 200 AE., also 2 bzw. 1 und 0,4 ccm, mit normalem Pferdeserum auf 5 ccm aufgefüllt. Die Einspritzung des Serums erfolgte nach 2, 4, 6, 8 und 10 Stunden. Die Tiere der 3 Serien, die mit den 3 verschiedenen Sera angestellt wurden, zeigten ein ganz gleichmäßiges Verhalten: Sie konnten noch 8 Stunden nach der Infektion gerettet werden; nach

10 Stunden trat nur eine mehr oder minder deutliche Verzögerung des Krankheitsverlaufes ein, die Tiere erlagen aber der Infektion. Das Resultat findet sich mit dem unserer übrigen Versuche und mit den Untersuchungsergebnissen vieler anderer Autoren insofern im Einklang, als auch in diesem Falle der Heilwert verschiedener Diphtheriesera durchaus dem Antitoxingehalt der Sera parallel ging. Damit gewinnen aber zugleich die Versuche, in denen ich einen günstigen Einfluß der größeren Serummenge nicht konstatieren konnte, an Beweiskraft. Wiederholen und betonen möchte ich nochmals, daß eine feinere Abstufung der Antitoxindosen und der Injektionszeiten auch nicht imstande zu sein scheint, Differenzen aufzudecken, die bei unserer Versuchsanordnung etwa verschwinden, denn, wie wir sahen, treten unter solchen Bedingungen die individuellen Einflüsse der Versuchstiere auf den Infektionsverlauf ebenfalls stärker zutage, so daß leicht unregelmäßige Reihen erhalten werden.

So läßt sich zusammenfassend die uns gestellte Frage dahin beantworten, daß die experimentelle Infektion des Meerschweinchens, wie wir sie durch subkutane Verimpfung von Diphtheriebouillonkulturen hervorgerufen haben, in gleicher Weise durch hoch- und niedrigwertiges Diphtherieserum geheilt werden kann, daß lediglich die Antitoxinmenge für den Heileffekt maßgebend ist, daß die größere Serummenge dagegen keinen nachweisbaren Vorteil bietet. Die resistenzsteigernde Wirkung des normalen Pferdeserums, die namentlich bei Verwendung großer Dosen auch im Tierversuch nachgewiesen und innerhalb gewisser Grenzen therapeutisch ausgenutzt werden kann, ist bei unserer Versuchsanordnung nicht zur Geltung gelangt. Sie ist offenbar im vorgeschrittenen Stadium der experimentellen Diphtherieinfektion, nach 8, 9, 10 Stunden, unzureichend und machtlos und vermag auch nicht die Heilkraft des Antitoxins zu verstärken. Zum mindesten haben Serummengen von 5 und 6 ccm, und noch mehr, nichts Besseres geleistet als solche von 0,4 oder 0,5 ccm, wenn der Antitoxingehalt in beiden Fällen der gleiche war. Nur das spezifische Antitoxin ist entscheidend. Die unterstützende unspezifische Wirkung, die vielleicht von dem fremdartigen

Serum (Pferdeserum) als solchem ausgehen könnte, hat wohl schon in kleinen Serummengen die Grenze ihrer Leistungsfähigkeit erreicht und wird durch größere Dosen nicht weiter gesteigert. Wollte man diese Verhältnisse verallgemeinern und namentlich daraus Schlüsse für die Serumtherapie der menschlichen Diphtherie ziehen, so würde man unbedingt dem hochwertigen Diphtherieserum den Vorzug geben müssen. Denn, wenn das hochwertige Serum genau das gleiche leistet, wie das schwache, so ist es unzweifelhaft ein großer Vorteil, daß zur parenteralen Einverleibung der gleichen Antitoxinmenge nur eine relativ kleine Serumdosis erforderlich ist. Die Erwägungen, die von Anfang an zur Herstellung hochwertiger Sera, speziell Diphtheriesera den Anlaß gegeben haben, würden damit erneut als wohlbegründet gekennzeichnet. Nun ist es ja richtig, daß die Ergebnisse des Meerschweinchen-experiments nicht einfach auf den Krankheitsverlauf beim Menschen übertragen werden dürfen, andererseits aber ist zu bedenken, daß der resistenzsteigernde Einfluß der parenteralen Injektion von fremdartigem Eiweiß sich gerade auch im Tierexperiment besonders deutlich erweisen läßt. Wenn also in unseren Versuchen hiervon gar nichts zu beobachten war, so dürfte diese Tatsache immerhin bemerkenswert sein und auch für die Serumtherapie des Menschen Berücksichtigung verdienen. Die neuerdings gelegentlich zum Ausdruck gebrachten Bedenken gegen die Verwendung hochwertiger Sera finden jedenfalls in dem Tierexperiment keine Stütze. Inwieweit der Rat mancher Kliniker, nicht nur Antitoxin, sondern auch möglichst große Serummengen dem Diphtheriekranken zu injizieren, sich auf klinische Erfahrungen zu berufen vermag, möchte ich nicht entscheiden, die experimentellen Feststellungen sprechen dagegen. Man könnte allenfalls daran denken, daß die größeren Serummengen für die Bekämpfung der Mischinfektion mit Streptokokken von Wert sind. Denn im Gegensatz zu unseren Infektionsversuchen an Meerschweinchen, die mit Reinkulturen von Diphtheriebazillen vorgenommen worden sind, ist eben die menschliche Diphtherie gewöhnlich durch das Auftreten von Mischinfektionserregern kompliziert. Gegenüber der experimentellen Mischinfektion bei Meerschweinchen hat freilich die größere Serummenge anscheinend

auch nicht viel zu bedeuten (cf. S. Meyer); eigene Versuche haben nach dieser Richtung keine Entscheidung gebracht, weil eine deutliche Verstärkung der diphtherischen Infektion durch Mischinfektion mit Streptokokken nicht erzielt werden konnte. Es soll darüber noch berichtet werden.

Zusammenfassung.

Es wird die Frage experimentell geprüft, ob für die Heilung der Diphtherie neben dem Antitoxingehalt auch die mitinjizierte Serummenge von Bedeutung ist. Das übereinstimmende Resultat der in der Anordnung mehrfach variierten Versuche ist, daß bei gleichem Antitoxingehalt größere Serumengen die Diphtherieinfektion des Meerschweinchens nicht besser zu heilen vermögen als kleine Serumengen. Hochwertige Diphtheriesera leisten unter den geprüften Versuchsbedingungen genau das gleiche wie schwache Sera; nur der Antitoxingehalt, nicht die Serummenge entscheidet.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. G. Sobernheim für die lebhafteste Anregung und die freundliche Anleitung, die er diesen Untersuchungen entgegenbrachte, sowie für die stets in liebenswürdiger Weise erteilten Ratschläge meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- Barikine, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, 1912.
Berghaus, Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, 49 u. 50, 1909.
Brüstlein, Arb. a. d. Inst. z. Erf. d. Infektionskrankh. usw., Bern, 1909, H. 3.
Czerny, Berl. klin. Wochenschr., 1918.
Feer, Münch. med. Wochenschr., 1919.
Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., 1919.
Herzfeld, Münch. med. Wochenschr., 1919.
Karger, Deutsche med. Wochenschr., 1919.
Kastenmeyer, Arch. f. Kinderheilk., Bd. 67, 1919.
Klotz, Berl. klin. Wochenschr., 1919.
Kolle und Schloßberger, Med. Klinik, 1919.
Kraus, 2. Tagung d. freien Ver. f. Mikrobiol., Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 42, 1908.
Kraus und Bächer, 7. Tagung d. freien Ver. f. Mikrobiol., Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 57, 1913.

366 Sato, Heilwert hochwertiger und niederwertiger Diphtheriesera.

Kraus und Schwoner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, 1908.

— — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909.

— — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909.

Meyer, H., Deutsche med. Wochenschr., 1920.

Meyer, S., Münch. med. Wochenschr., 1919.

Neufeld und Händel, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 38, 1912.

Roux, 10. intern. Hygiene-Kongreß, Paris, 1900.

Sato, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 34, 1922.

Schwenkenbecher, Berl. klin. Wochenschr., 1921.

v. Starck, Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 9, Ver.-Ber.

Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912.

Nachdruck verboten.

[Aus der wissenschaftlichen Abteilung des Instituts für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. H. Sachs).]

Ueber den Einfluß des Salzgehaltes auf die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum.

Von **Seigo Kondo** aus Kanazawa.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Mai 1922.)

Trotz des weitgehenden Parallelismus, der zwischen Wassermannscher Reaktion und den Ausflockungsmethoden zum serologischen Luesnachweis in bezug auf die praktisch-diagnostische Verwertbarkeit besteht, erscheinen gewisse Fragen, die die theoretischen Grundlagen des Vorganges betreffen, noch einer weiteren Analyse bedürftig. Nach dem vorliegenden umfangreichen Tatsachenmaterial kann wohl kein Zweifel bestehen, daß sowohl durch die Wassermannsche Reaktion, als auch durch die Ausflockung dieselbe für Syphilis charakteristische Blutveränderung nachgewiesen wird. Von den Unterschieden, die trotzdem eine Divergenz im Ergebnis der beiden Methoden hervortreten lassen, dürfte dem Verhalten des aktiven Serums ein besonderes Interesse zukommen. Bekanntlich haben Sachs und Altmann¹⁾ zuerst gezeigt, daß das aktive Serum bei der Wassermann-

1) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

schen Reaktion stärker reagiert als das in üblicher Weise durch halbstündiges Erhitzen inaktivierte Serum. Diese Feststellung war insofern überraschend, als man ursprünglich die Inaktivierung der Sera bei der Serodiagnostik der Syphilis deshalb vornahm, weil man den im aktiven Serum interferierenden und durch Verstärkung der Wirkung des hämolytischen Systems den Reaktionsgrad unter Umständen abschwächenden Komplementgehalt auszuschalten trachtete. Im Gegensatz zu dieser Voraussetzung hat sich gezeigt, daß im allgemeinen gerade das Umgekehrte zutrifft, daß nämlich die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum meist stärker ausfällt als mit inaktiviertem. Wenn es sich trotzdem nicht empfiehlt, die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum auszuführen, so liegt das daran, daß, wie schon Sachs¹⁾ gezeigt hat, bei Verwendung aktiven Serums die Gefahr uncharakteristischer Reaktionen ungebührlich zunimmt.

Im Gegensatz zu diesen für Theorie und Praxis der Wassermannschen Reaktion grundlegenden Feststellungen haben nun die Erfahrungen über die Ausflockungsmethoden abweichende Bedingungen dargetan. Sachs und Georgi²⁾ konnten von vornherein feststellen, daß die von ihnen in die Praxis eingeführte Ausflockungsmethode, die sogenannte Sachs-Georgi-Reaktion, bei Verwendung aktiver Sera versagt, und daß die Inaktivierung bei der Sachs-Georgi-Reaktion daher nicht sowohl im Interesse des charakteristischen Verhaltens als auch deswegen erforderlich ist, um eine hinreichende Empfindlichkeit zu erzielen. Im Gegensatz dazu schien es freilich, als ob bei der von Meinicke angegebenen sogenannten „Dritten Modifikation“ die Aktivität des Serums auf das Versuchsergebnis ohne Einfluß wäre. Nun besteht aber zwischen den Bedingungen der Sachs-Georgi-Reaktion und der sogenannten Dritten Modifikation Meinickes ein Unterschied. Die erstere Methode arbeitet in einem Medium von physiologischem (0,85-proz.) Kochsalzgehalt, während Meinicke die Verwendung einer 2-proz. Salzlösung vorgeschrieben hat. Unter Berücksichtigung dieses Umstandes gelang es, die

1) H. Sachs, X. Kongreß der Deutschen Dermatog. Ges., 1908, S. 166.

2) H. Sachs und W. Georgi, Med. Klinik, 1918, No. 33.

Divergenz im Verhalten der aktiven Sera bei der Sachs-Georgi-Reaktion und bei Meinickes Dritter Modifikation als eine scheinbare aufzuklären. Wie sich nämlich aus den Arbeiten von Sachs¹⁾, Sachs und Georgi²⁾, Georgi und Lebenstein³⁾ ergeben hat, handelt es sich bei der mangelnden Reaktionsfähigkeit des aktiven Serums bei der Sachs-Georgi-Reaktion um eine Art von Schutzkolloidwirkung, deren Ursache in der Labilität des aktiven Serums gelegen ist. Durch stabilisierende Einflüsse (Salzsäureeinwirkung oder Hypertonie des Mediums) gelingt es daher, auch die aktiven Sera reaktionsfähig und sie den inaktivierten Seris gleichartig zu machen. Und umgekehrt versagen die aktiven Sera auch bei Meinickes Dritter Modifikation, wenn man als Medium nicht 2-proz., sondern 0,85-proz. Kochsalzlösung verwendet, eine Aenderung, die im übrigen auf das Verhalten der Dritten Modifikation ohne wesentlichen Einfluß ist. Man kann daher schließen, daß in bezug auf die Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera zwischen Sachs-Georgi-Reaktion und Meinickes Dritter Modifikation kein grundsätzlicher Unterschied besteht, daß vielmehr die Identität des aktiven Serums mit dem inaktiven Serum bei Meinickes Dritter Modifikation nur durch die Hypertonie des Mediums vorgetäuscht wird.

Bei der prinzipiellen Uebereinstimmung, die demnach zwischen den beiden Ausflockungsreaktionen besteht, kann aber auch der Gegensatz zu den Bedingungen der Wassermannschen Reaktion an Schärfe verlieren. Wenn man nämlich der Betrachtung folgt, daß die mangelnde Reaktivität des aktiven Serums bei der Ausflockung durch eine Schutzkolloidwirkung bedingt ist, die in den labilsten Serumkomponenten ihre Ursache hat, so ergibt sich, daß jedenfalls zwischen aktivem Serum und Extrakt eine Reaktion stattfindet. Man darf sie wohl in dem Sinne auffassen, daß

1) H. Sachs, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, Bd. 135 1921, S. 338.

2) H. Sachs und F. Georgi, Med. Klinik, 1921, No. 33.

3) F. Georgi und Lebenstein, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33, 1922, S. 503.

sich die Extraktteilchen rasch mit den labilen Serumkomponenten beladen und derart der Reaktionsfähigkeit mit den für Syphilis charakteristischen Blutbestandteilen entzogen werden. Wie schon H. Sachs und F. Georgi ausgeführt haben, würde man dann verstehen, daß trotzdem dieser uncharakteristische Vorgang zu einer Komplementinaktivierung bei der Wassermannschen Reaktion führen könnte. Die Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera bei der Wassermann-Reaktion würde in diesem Sinne als der Ausdruck einer unspezifischen Globulinreaktion erscheinen, die einerseits mit der charakteristischen Syphilisreaktion zu einer verstärkenden Summation führen würde, andererseits aber uncharakteristische Ausschläge veranlassen könnte.

Nicht ohne weiteres dem Verständnis zugänglich bleibt dann nur die Tatsache, warum nicht jedes beliebige Serum im aktiven Zustande mehr oder weniger stark Wassermann-positiv ist. Zum mindesten müßte man erwarten, daß die überwiegende Mehrzahl der aktiven Sera zu einer positiven Wassermann-Reaktion führt. Denn die positive Wassermann-Reaktion müßte dann dem Ausbleiben der Ausflockung entsprechen. Das ist aber bekanntlich nicht der Fall. Unter den üblichen Versuchsbedingungen reagieren auch aktive Sera nur in einer mehr oder weniger beschränkten Anzahl uncharakteristisch positiv.

Die Absicht, diesen Widerspruch zu klären, lag nun den Versuchen zugrunde, über die ich mir im folgenden zu berichten erlauben möchte. Ich ging dabei von der Vermutung aus, daß der 0,85-proz. Salzgehalt, der allgemein das Medium bei der Wassermannschen Reaktion darstellt, schon etwas zu hoch sein könnte, um schwache komplementinaktivierende Globulinfunktionen nachweisen zu können. Daß die anti-komplementäre Wirkung der Globuline durch Erhöhung des Salzgehaltes gehemmt wird, ist ja eine allgemein bekannte Tatsache, und so wäre es denkbar, daß bei sehr schwachen Globulinalterationen, wie sie eben durch die Reaktion des aktiven Serums mit den Extraktkomponenten zustande kommen, der physiologische Salzgehalt bereits einen gewissen Ueberschuß darstellen könnte. Wenn diese Voraussetzung richtig ist, so müßte es gelingen, durch Verminderung des Salz-

gehaltenes mit fast allen aktiven Seris positive Wassermann-Reaktionen zu erzielen, und von diesem Gesichtspunkte bin ich bei meinen Untersuchungen ausgegangen.

Ueber den Einfluß der Verminderung des Salzgehaltes bei der Wassermannschen Reaktion hat schon früher Neukirch¹⁾ einige Beobachtungen mitgeteilt. Es hat sich aus ihnen ergeben, daß durch Herabsetzung des Kochsalzgehaltes unter den physiologischen die Reaktionsfähigkeit schwach positiver Sera bei der Wassermannschen Reaktion zwar verstärkt werden kann, daß aber dabei auch negative Sera schwach positiv werden können. Diese Befunde wiesen darauf hin, daß schon geringfügige Schwankungen des Kochsalzgehaltes bei der Wassermannschen Reaktion einen merklichen Einfluß auf das Ergebnis ausüben können, und sie zeigten zugleich, daß bei Verminderung des Salzgehaltes jedenfalls die komplementinaktivierende Wirkung des aus Extrakt und Syphilitikerserum zusammengesetzten Gemisches gesteigert werden kann.

Allerdings waren die Versuchsbedingungen Neukirchs insofern nicht ganz leicht zu übersehen, als nach Ablauf der ersten Phase (Zusammenwirken von Extrakt, Patientenserum und Komplement) in verschiedenen Kochsalzkonzentrationen das hämolytische System (Mischung von Hammelblut und Ambozeptor) in physiologischer (0,85-proz.) Kochsalzlösung zugesetzt wurde. Es resultierten also derart auch in der zweiten Phase verschiedene Salzkonzentrationen, so daß das Ergebnis als die Resultante der Wirkung des hypotonischen Mediums auf die Komplementinaktivierung und auf die Komplementfunktion betrachtet werden mußte.

Ich habe daher in meinen eigenen Untersuchungen, die zunächst zu einer Bestätigung der Angaben Neukirchs führten, die Bedingungen durchsichtiger zu gestalten versucht. Zu diesem Zwecke nahm ich die erste Phase der Wassermannschen Reaktion in Medien von verschiedenem Salzgehalt vor, fügte dann aber das hämolytische System in derart konzentrierter Kochsalzlösung zu, daß schließlich für die zweite Phase die Konzentration des physiologischen Salz-

1) P. Neukirch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, S. 177

gehaltenes entstand. Andererseits kam es mir auch weniger darauf an, den Einfluß eines verminderten Salzgehaltes auf die eigentliche Wassermannsche Reaktion mit inaktiviertem Serum festzustellen, als vielmehr das Verhalten aktiver Sera unter dem Einfluß vermindelter Salzkonzentration zu prüfen und es gleichzeitig mit demjenigen inaktivierter Sera zu vergleichen.

Methodisch bin ich dabei im übrigen dem bei der Wassermannschen Reaktion üblichen Vorgang gefolgt. Jede der 5 zur Wassermannschen Reaktion dienenden Komponenten nahmen in einem Volumen von 0,25 ccm teil. Es wurde mit 10fach verdünntem Komplement gearbeitet. Das Patientenserum wurde im Interesse der Materialersparnis meist in 10facher Verdünnung statt der üblichen 5fachen Verdünnung benutzt. Nach einstündigem Aufenthalt der Gemische im Brutschrank wurde das hämolytische System zugesetzt, der Ambozeptor in etwa 4fach lösender Dosis. Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte in der Regel nach Lösung der Kontrollen.

Das Ergebnis wurde nach dem eingetretenen Grade der Hämolyse mit „komplett (k), fast komplett (fk), stark (st), mäßig (m), wenig (w), Spur (Sp), Spürchen (Spch), keine Hämolyse (0)“ notiert.

Meine Versuche bestätigten zunächst, wie schon erwähnt, die von Neukirch erhobenen Befunde. Beim Verwenden inaktivierter Sera trat mit abnehmender Kochsalzkonzentration eine Verstärkung der positiven Reaktionen auf, die allerdings leicht zu unspezifischen Ergebnissen führte. Umgekehrt nahm bei einer Steigerung der Kochsalzkonzentration auf 1 Proz. die Stärke der Wassermannschen Reaktion, besonders bei schwach positiven Seris, etwas ab. Sehr charakteristisch waren aber die Unterschiede, die zwischen aktiven und inaktiven Seris bei Abnahme des Salzgehaltes bestanden. Folgendes Versuchsbeispiel mag die hier eintretenden Bedingungen veranschaulichen.

Es wurden in den Reihen α je 0,25 ccm 6fach verdünnten cholesterinierten Rinderherzextraktes mit je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums und mit 0,25 ccm 10fach verdünnten Wassermannnegativen Patientenserums 1 Stunde im Brutschrank digeriert.

In den Reihen β wurden gleichzeitig je 0,5 ccm 10fach verdünnten Patientenserums mit je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums digeriert (Serumkontrollen).

Zur Herstellung der Gemische bzw. zum Verdünnen der einzelnen Komponenten dienten in den Reihen:

- I. 0,85-proz. Kochsalzlösung,
 II. 0,7-proz. „
 III. 0,5-proz. „

Die Versuche wurden:

- a) mit aktiven
 b) mit inaktivierten Patientenseris

ausgeführt. Nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und je 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung, wobei die Ambozeptorverdünnung hergestellt wurde für die Reihen:

- I. in 0,85-proz. Kochsalzlösung,
 II. in 1,3-proz. „
 III. in 1,9-proz. „

In der zweiten Phase betrug also die Kochsalzkonzentration überall übereinstimmend 0,85 Proz.

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

	Eingetretene Hämolyse bei der WaR. mit											
	a) aktivem Serum unter Verlauf der I. Phase in						b) inaktiviertem Serum unter Verlauf der I. Phase in					
	I. 0,85-proz. NaCl		II. 0,7-proz. NaCl		III. 0,5-proz. NaCl		I. 0,85-proz. NaCl		II. 0,7-proz. NaCl		III. 0,5-proz. NaCl	
	α	β	α	β	α	β	α	β	α	β	α	β
Extraktkontr.	k	—	k	—	k	—	—	—	—	—	—	—
Serum 1	„	k	0	k	0	k	k	k	k	k	st	k
„ 2	„	„	0	„	0	„	„	„	„	„	st	„
„ 3	w	„	0	„	0	„	„	„	„	„	fk	„
„ 4	k	„	Sp	„	0	„	„	„	„	„	k	„

Wie die Tabelle zeigt, reagierte bei der üblichen Versuchsanordnung in 0,85-proz. Kochsalzlösung nur ein Serum (3) im aktiven Zustand schwach positiv, während die übrigen Sera auch im aktiven Zustande eine negative Reaktion aufwiesen. Das entspricht der allgemeinen Erfahrung, daß die aktiven Sera zwar zu unspezifischer Wassermannscher Reaktion neigen, aber doch nur mehr oder weniger häufig positiv reagieren. Die Bedingungen ändern sich aber wesentlich, wenn die erste Phase des Versuches anstatt in 0,85-proz. Kochsalzlösung in 0,7-proz. Kochsalzlösung verläuft (Reihen II der Tabelle). Hier zeigt sich, daß 3 aktive Sera eine vollständige Hemmung der Hämolyse ergeben, und daß auch

Serum 4 zu einer fast vollständigen Hämolysehemmung führt. Es handelt sich hier zweifellos um Reaktionen, die durch das Zusammenwirken der Wassermannnegativen aktiven Sera mit dem Extrakt zustande kommen. Wie nämlich die Tabelle zeigt, sind sowohl die Extraktkontrollen als auch die Serumkontrollen mit der doppelten Serumdosis (β) vollständig gelöst. Bei weiterer Herabsetzung des Kochsalzgehaltes in der ersten Phase auf 0,5 Proz. tritt noch eine weitere gewisse Verschärfung dieses Ergebnisses ein.

Im Gegensatz zum Verhalten der aktiven Sera zeigen nun die inaktiven Sera bei Verlauf der ersten Phase in 0,7-Kochsalzlösung vollständige Hämolyse, und erst bei Verminderung des Kochsalzgehaltes auf 0,5 Proz. macht sich bei einzelnen Seris ein geringgradiger Einfluß auf die hämolytische Wirkung geltend.

Das Ergebnis, das die Tabelle darstellt, entspricht daher durchaus den Erwartungen, von denen die Versuche ihren Ausgang nahmen. Tatsächlich zeigt sich, daß die aktiven Sera bei Herabsetzung des Salzgehaltes stark positiv reagieren, während sie in 0,85-proz. Kochsalzlösung nur mehr oder weniger selten eine positive Reaktion aufweisen. Der Umstand, daß die aktiven Sera bei den Ausflockungsreaktionen in der Regel negativ reagieren, hatte uns ja zu der Annahme geführt, daß eine Reaktion zwischen aktiven Seris und Extrakt von statten gehen muß. Nur handelt es sich unserer Auffassung nach eben bei dieser Reaktion um eine Umhüllung der Extrakt-lipoide mit den labilen Globulinanteilen des aktiven Serums. Nach den mitgeteilten Versuchen gelingt es nun wirklich, diese Globulinreaktion auch mittels Komplementbindung nachzuweisen, wenn nur der Kochsalzgehalt etwas unter den üblichen physiologischen herabgesetzt wird. Der Widerspruch, der zwischen den bei der Ausflockung erhobenen Befunden und der Wassermannschen Reaktion besteht, erscheint daher durch diese Befunde aufgeklärt. Denn es läßt sich die Globulinreaktion, die die aktiven Sera mit den Extraktteilchen eingehen, auch durch die Komplementbindungsmethode nachweisen, wenn man nur den von mir benutzten Kunstgriff der Herabsetzung des Salzgehaltes benutzt. Die 0,85-proz. Koch-

salzlösung bedeutet daher augenscheinlich für die schwachen Reaktionen, die das aktive Serum mit den Extraktteilchen ergibt, häufig bereits eine Hemmung der Komplementinaktivierung durch die relative Hypertonie des Mediums.

Es ist nicht zu verwundern, daß sich in meinen zahlreichen vergleichenden Versuchen, die ich über das Verhalten der aktiven Sera bei der Wassermannreaktion in 0,85-proz. und 0,7-proz. Kochsalzlösung ausführte, quantitative Variationen ergaben. So reagierten nicht selten aktive Wassermannnegative Sera in 0,85-proz. Kochsalzlösung mehr oder weniger stark, zuweilen war aber auch die Hämolysehemmung in 0,7-proz. Kochsalzlösung nicht vollständig und erreichte erst in 0,5-proz. Kochsalzlösung stärkere Grade. Auch kam es vor, daß gelegentlich in 0,7-proz. Kochsalzlösung, etwas häufiger in 0,5-proz. Kochsalzlösung bereits eine Extrakthemmung zu verzeichnen war oder auch manche Serumkontrollen partielle Hemmung der Hämolyse aufwiesen.

Wenn das Ergebnis derart schwankte, ohne allerdings den allgemein gesetzmäßigen Charakter zu verlieren, so wird man an erster Stelle die Beschaffenheit des Meerschweinchenserums als Komplementträger zu berücksichtigen haben. Es handelt sich hier um Eigenschaften, die man kurz unter dem bekannten Begriff der „Deviabilität“ zusammenfassen kann. Manche Meerschweinchensera werden leichter durch die verschiedenartigsten antikomplementären Wirkungen beeinflusst, manche schwerer. Augenscheinlich hängt das von der wechselnden Labilität der Globuline des Meerschweinchenserums ab¹⁾.

1) Von dem Gesichtspunkte aus, daß sowohl die hämolytische Wirkung des Komplementes als auch die Deviabilität, d. h. die Beeinflußbarkeit der Komplementwirkung, von dem physikochemischen Zustande der Eiweißstoffe des Meerschweinchenserums abhängen (vgl. hierzu Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52; Kolloidzeitschr. Bd. 24, 1919, S. 113), erscheint eine im hiesigen Institut vielfach beobachtete Tatsache bemerkenswert. Nicht selten ist nämlich die Stärke der Komplementwirkung von einer zunehmenden Deviabilität des Komplementes begleitet, ein Verhalten, auf das auch Untersuchungen von Hintze (Centralbl. f. Bakt., Bd. 84, 1920, S. 65) über starke Wirkung des Komplementes, begleitet von unspezifischen Hemmungen, bei Verwendung des Serums von Meerschweinchchen mit beginnender Pseudotuberkulose hingewiesen haben. Erfahrungen dieser Art verdienen für die praktische Serodiagnostik mittels Komplementbindung, insbesondere für die

Diese Unterschiede, die die Meerschweinchensera aufweisen, dokumentieren sich nun auch bei herabgesetztem Salzgehalt weit deutlicher als in physiologischer Kochsalzlösung. Als Beleg dafür möchte ich im folgenden die Beispiele der anti-komplementären Extraktwirkung an zwei verschiedenen Tagen anführen, an denen das benützte Komplement übereinstimmend den gleichen Ambozeptortiter (1:2000) ergab.

Absteigende Mengen des 6fach verdünnten Extraktes wurden mit je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums (Volumen 0,75 ccm) 1 Stunde im Brutschrank digeriert.

Als Medium in diesen Versuchen diente

in den Versuchsreihen a: 0,85-proz. Kochsalzlösung,

in den Versuchsreihen b: 0,7-proz. Kochsalzlösung.

Nach einstündigem Verweilen im Brutschrank wurden je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung zugefügt. Die Ambozeptorverdünnung erfolgte für die Versuchsreihen a in 0,85-proz. Kochsalzlösung, für die Versuchsreihen b in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Tabelle II enthält das Versuchsergebnis von zwei Versuchstagen (I und II) mit zwei verschiedenen Meerschweinchensera.

Tabelle II.

Mengen 6fach verdünnten Extraktes ccm	Hämolyse nach Einwirkung von Extrakt auf Meerschweinchenserum			
	I.		II.	
	nach Ablauf der I. Phase in		nach Ablauf der I. Phase in	
	a) 0,85-proz. NaCl	b) 0,7-proz. NaCl	a) 0,85-proz. NaCl	b) 0,7-proz. NaCl
0,5	st	0	k	k
0,4	k	Spch	„	„
0,3	„	Sp	„	„
0,25	„	w	„	„
0,2	„	w	„	„
0	„	k	„	„

Die Tabelle zeigt, daß bei gleicher Aktivierungsstärke des Komplementes die Beeinflussung durch den Extrakt eine

Wassermannsche Reaktion, Beachtung. Es ergibt sich auf Grund dieses Verhaltens die paradoxe Tatsache, daß gerade bei stark als Komplement wirkenden Meerschweinchensera Eigenhemmung bei der Wassermannschen Reaktion auftreten kann, und tatsächlich darf man auf Grund der im hiesigen Institut erhobenen Befunde annehmen, daß unter Umständen mit zunehmender Stärke der Komplementwirkung die Gefahr der Eigenhemmung durch den Extrakt wächst.

sehr verschiedene ist, was ja bekannten Tatsachen entspricht. Von Interesse dürfte aber sein, daß die Unterschiede in dieser „Deviabilität“ des Meerschweinchen-serums weit stärker in 0,7-proz. Kochsalzlösung zum Ausdruck kommen als in 0,85-proz. Kochsalzlösung, und ich darf hinzufügen, daß bei weiterem Herabgehen auf einen Salzgehalt von 0,5 Proz. die anti-komplementäre Wirkung eine weitere Zunahme erfährt. Dieses Ergebnis dürfte darauf hindeuten, daß die Deviabilität eine einfache Funktion des physikochemischen Verhaltens der Serumglobuline darstellt. Da die Erhöhung des Salzgehaltes allgemein ein Hemmnis für derartige Globulinalterationen, die der antikomplementären Wirkung zugrunde liegen, bedeutet, so ist es verständlich, daß mit herabgesetztem Salzgehalt der durch die Labilität der Globuline bedingte Wirkungsgrad zunimmt. Bemerkenswert aber ist die Tatsache, daß schon so geringfügige Schwankungen des Salzgehaltes (0,85—0,7 Proz.) zu deutlichen Ausschlägen führen.

Man wird nicht fehlgehen in der Annahme, daß auch das Verhalten der aktiven menschlichen Wassermann-negativen Sera durch gleiche Ursachen bedingt ist. Die höhere Labilität, die die aktiven Sera gegenüber den inaktiven aufweisen, genügt eben bereits, um bei geringfügiger Herabsetzung des Salzgehaltes mit dem Extrakt zu einer positiven Wassermannschen Reaktion zu führen, und die individuellen Verschiedenheiten, die die einzelnen Sera aufweisen, erklären sich dann ohne weiteres aus dem wechselnden Grade der Labilität ihrer Globuline. Das Extrakt wirkt eben in diesem Sinne als Globulinfällungsmittel geringen Grades und bedingt so die Globulinalterationen, die antikomplementär wirken, wenn sie nicht in dieser Funktion durch einen hinreichend hohen Salzgehalt beschränkt werden.

Von diesem Gesichtspunkte aus mußte aber die Frage von besonderem Interesse erscheinen, ob nicht bereits der Alkoholgehalt der Extraktverdünnung an und für sich in mehr oder weniger hohem Grade an der unspezifischen Reaktion der aktiven Sera beteiligt ist. Ueber die Wirkung des Alkohols bei der Wassermannschen Reaktion liegen in der Literatur bereits einige Angaben

vor. Als erste haben wohl Sachs und Rondoni¹⁾ gezeigt, daß der Alkoholgehalt der Extraktverdünnungen ein verstärkendes Moment bei der Wassermannschen Reaktion darstellt [vgl. auch Satta und Donati²⁾]. Im Jahre 1910 berichtete dann in einer anscheinend wenig beachteten Arbeit Falco³⁾ „über eine besondere Reaktion des Blutserums im puerparalen Zustande“. In den Versuchen Falcos ergab sich, daß das Serum von Schwangeren und Wöchnerinnen unter den Bedingungen der Wassermannschen Reaktion positiv reagierte, wenn statt Extrakt verdünnter Alkohol 26-proz. verwendet wurde. Fötalserum ergab im Gegensatz dazu stets negative Ergebnisse. Daß aber diese von Falco beschriebene Reaktion nicht für Gravidität charakteristisch war, zeigten die Kontrollen mit Wassermann-negativen Seris. Insbesondere schien das Serum bei Tuberkulose die Reaktion auch zu geben, und Falco spricht dem Verfahren kaum einen diagnostischen Wert zu. Angaben darüber, ob mit aktivem oder inaktivem Serum gearbeitet wurde, sind nicht ersichtlich.

In weiteren Arbeiten haben sich dann Berczeller⁴⁾, Heller⁵⁾ und besonders eingehend Wagner⁶⁾ mit der Einwirkung des Alkohols auf das Komplement unter dem Einfluß menschlicher Sera beschäftigt. Heller hat, ausgehend von der leichteren Fällbarkeit der Globuline des syphilitischen Serums, geprüft, ob eiweißfällende Reagentien ähnlich wie Extrakte bei der Wassermannschen Reaktion wirken. Er hat gewisse Unterschiede unter Verwendung von Ammonsulfat erhalten, aber bei Verwendung von Alkohol und Chloroform nur Ergebnisse erzielt, die nicht ohne weiteres zu verwerten waren. Die von Berczeller und Wagner erhobenen Befunde stimmen dagegen insofern überein, als beide Autoren bei einer mehr oder weniger großen Zahl von Blutseris auch bei Verwendung von einfachem Alkohol unter den Bedingungen der Wasser-

1) H. Sachs und P. Rondoni, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1. 1908, S. 132.

2) G. Satta und A. Donati, Wien. klin. Wochenschr., 1910, No. 29.

3) A. Falco, Centralbl. f. Gynäkol., Jahrg. 34, 1910, S. 39.

4) L. Berczeller, Wien. klin. Wochenschr., 1918, S. 464.

5) L. Heller, Biochem. Zeitschr., Bd. 90, 1918, S. 166.

6) G. Wagner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920, S. 26.

mannschen Reaktion Komplementbindung erhielten. In beiden Arbeiten handelte es sich wohl um die Untersuchung inaktivierter Sera, wie sie zur Wassermannschen Reaktion in der Regel benutzt werden. Es zeigten insbesondere die Erfahrungen Wagners, daß bei einem Teil der Sera positive Alkoholreaktionen auftraten, und zwar verhältnismäßig oft bei syphilitischen Seris, aber keineswegs spezifisch für Lues. In praktischer Hinsicht ergab sich zugleich die Frage, ob dementsprechend die Serumkontrollen bei der Wassermannschen Reaktion mit geeignetem Alkoholzusatz vorgenommen werden sollen, um etwa durch Alkoholwirkung entstehende unspezifische Reaktionen bei der Wassermannschen Reaktion auszuschalten. Die Frage wird von Berczeller bejaht, während Wagner sich von einer derartigen Alkohol-Serumkontrolle nicht viel verspricht, weil sowohl syphilitische als auch nichtsyphilitische Sera durch den Alkohol beeinflußt würden.

Ueberblickt man die Befunde, so kann ein Zweifel nicht bestehen, und das entspricht auch mehr oder weniger der Auffassung der Autoren, daß es sich bei den erörterten Alkoholwirkungen um eine Funktion des Alkohols als Eiweißfällungsmittel handelt. Der eiweißfällende Einfluß bewirkt eine geeignete (makroskopisch unter Umständen noch nicht wahrnehmbare) Alteration der Globuline, die ihrerseits zur antikomplementären Wirkung führt. Es ist daher ohne weiteres verständlich, daß diese Alkoholwirkungen nicht für Lues charakteristisch sind, da sie eben um so leichter auftreten, je labiler die Eiweißstoffe des Serums sind, und demnach den allgemeinen Reaktionen auf die Labilität der Blutflüssigkeit entsprechen, die neuerdings immer mehr in den Vordergrund des Interesses treten. Von diesem Gesichtspunkt aus erschien es aber nicht aussichtslos, gerade die aktiven, über ihre volle Labilität verfügenden Sera zu prüfen und zugleich festzustellen, wie sich die Einwirkung des Alkohols bei Herabminderung der Salzkonzentration geltend macht. Denn wenn die erörterte Auffassung richtig ist, so konnte erwartet werden, daß unter diesen die Fällbarkeit der Eiweißkörper fördernden Bedingungen wohl fast jedes Serum eine gewisse Alkoholreaktion ergibt, ähnlich wie ich das für die Extraktwirkung festgestellt habe. Es ergab sich dann

weiterhin die Frage, ob etwa die allgemeine Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera bei der Wassermannschen Reaktion unter vermindertem Salzgehalt allein durch Alkoholwirkung erklärt werden kann. Ich bin daher zunächst so vorgegangen, daß ich bei Verwendung von Alkohol in einer den Extraktverdünungen etwa entsprechenden Konzentration die Versuche im Medium von verschiedenem Salzgehalt ausführte. Ich erlaube mir zunächst ein Versuchsbeispiel dieser Art anzuführen.

Es wurden

in den Reihen α je 0,25 ccm 6fach verdünnten Alkohols,

in den Reihen β je 0,25 ccm 5fach verdünnten Alkohols,

mit je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums unter Zusatz von je 0,25 ccm 10fach verdünnter menschlicher Sera 1 Stunde im Brutschrank digeriert.

Das Patientenserum wurde

in den Reihen a im aktiven Zustand,

in den Reihen b inaktiviert

verwendet.

Als Medium und zur Verdünnung diente

in den Reihen I 0,85-proz. Kochsalzlösung,

in den Reihen II 0,7-proz. Kochsalzlösung.

Nach einstündigem Verweilen im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung, die letztere für die Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung, für die Reihen II in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von							
	a) aktivem Serum unter Verlauf der 1. Phase in				b) inaktiviertem Serum unter Verlauf der 1. Phase in			
	I. 0,85-proz. NaCl		II. 0,7-proz. NaCl		I. 0,85-proz. NaCl		II. 0,7-proz. NaCl	
	α	β	α	β	α	β	α	β
Alkohol-	k	k	k	k	k	k	k	k
kontrolle	"	m	Spch	0	"	"	"	"
Serum 1	"	fk	"	0	"	"	"	"
" 2	"	k	"	0	"	"	"	"
" 3	"	"	w	Sp	"	"	"	"
" 4	"	"	fk	fk	"	"	"	"
" 5	"	"			"	"	"	"

Die Serumkontrollen unter Verwendung von 0,5 ccm 10fach verdünnten Serums sind nicht besonders aufgeführt, weil sie übereinstimmend vollständige Hämolyse aufwiesen.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß das inaktivierte Serum bei allen benutzten Serumproben (von denen Serum 1 Wassermann-positiv, die anderen Wassermann-negativ waren) nach vorheriger Alkoholeinwirkung vollständige Hämolyse aufweist. Im Gegensatz dazu steht das Verhalten des aktiven Serums. Unter Verwendung der üblichen 0,85-proz. Kochsalzlösung als Medium ist zwar bei 6fach verdünntem Alkohol nirgends eine positive Reaktion wahrzunehmen, bei geringer Erhöhung der Alkoholmenge (5fach verdünnter Alkohol in Reihen β) tritt aber bei einigen Seris (1 und 2) bereits eine geringfügige Hemmung der Hämolyse ein. Wie nun auch hier der physiologische Salzgehalt bereits ein Hemmnis bedeutet, das zeigt ein Vergleich der Versuchsreihen mit 0,7-proz. Kochsalzlösung (II). Es ergibt sich hier, daß bereits 6fach verdünnter Alkohol bei allen Seris zu mehr oder weniger starken Reaktionen führt, und daß diese Alkoholreaktionen bei etwas größerem Alkoholgehalt eine weitere Verstärkung erfahren. Der Unterschied der Alkoholwirkung in 0,85-proz. und 0,7-proz. Kochsalzlösung ist also ganz eklatant, und man kann schon aus diesem Versuchsbeispiel schließen, daß prinzipiell Alkohol mit fast allen aktiven Seris unter den übrigen Versuchsbedingungen der Wassermannschen Reaktion mehr oder weniger stark positive Reaktionen ergibt. Der Unterschied zwischen aktiven und inaktiven Seris ist außerordentlich deutlich, indem die Alkoholreaktionen nach der Inaktivierung vollständig schwinden.

Freilich war auch die Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera unter dem Einfluß der Alkoholwirkung mehr oder weniger großen Schwankungen unterworfen, die sich an den einzelnen Versuchstagen, bzw. bei Verwendung verschiedener Meer-schweinchensera als Komplement geltend machten. So wiesen zuweilen die aktiven Sera bereits in 0,85-proz. Kochsalzlösung nicht unerhebliche Alkoholreaktionen auf, zuweilen führte aber auch die durch Herabsetzung des Kochsalzgehaltes bedingte Verstärkung nicht zu großen Hemmungswirkungen. Daß andererseits bei manchen Seris bereits sehr geringe Alkohol-

mengen von Einfluß sein können, zeigt das folgende Versuchsbeispiel.

Absteigende Mengen Alkohols werden mit je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums unter Zusatz von je 0,25 ccm verschiedener, 10fach verdünnter, aktiver Patientensera digeriert (Volumen 0,75 ccm), und zwar

in den Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung,

in den Reihen II in 0,7-proz. Kochsalzlösung.

Nach 1stündigem Verweilen im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung; die letztere

für die Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung,

für die Reihen II in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen des 6fach verdünnten Alkohols ccm	Eingetretene Hämolyse bei Ablauf der ersten Phase in							
	I. 0,85-proz. NaCl bei Serum				II. 0,7-proz. NaCl bei Serum			
	a	b	c	d	a	b	c	d
0,25	k	0	k	k	w	0	w	st
0,15	"	Sp	"	"	m	0	m	fk
0,1	"	w	"	"	fk	0	fk	k
0,05	"	"	"	"	"	0	"	"
0,03	"	k	"	"	k	Spch	k	"
0,02	"	"	"	"	"	Sp	"	"
0	"	"	"	"	"	w	"	"

Die Tabelle zeigt zunächst erneut die Unterschiede zwischen der Einwirkung des Alkohols in 0,85-proz. Kochsalzlösung und in 0,7-proz. Kochsalzlösung. Zugleich ergibt sich das individuell verschiedene Verhalten der einzelnen Sera. Bemerkenswert ist dabei, daß für Serum b schon recht geringe Alkoholmengen genügen, um zu einer Reaktion zu führen. Sogar in 0,85-proz. Kochsalzlösung reicht ein Alkoholgehalt von etwa 1,1 Proz. bereits zu einer Wirkung aus, und in 0,7-proz. Kochsalzlösung ist sogar ein Alkoholgehalt von 0,45 Proz. von deutlicher Wirkung. Allerdings handelt es sich hier um ein Serum, das in 0,7-proz. Kochsalzlösung schon an und für sich eine Eigenhemmung ausübt, und es dürfte zugleich die Tatsache von Interesse sein, das auch die dem aktiven Serum innewohnende Eigenhemmung durch Herabsetzung des Salzgehaltes verstärkt wird und unter Umständen bei diesen Bedingungen erst zum deutlichen Ausdruck gelangt.

Noch deutlicher werden diese Beziehungen zwischen Alkoholwirkung und eigenhemmender Serumfunktion, wenn man mit absteigenden Serummengen arbeitet.

Absteigende Mengen aktiver Menschensera werden in den Reihen A mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten Alkohols und je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums digeriert (Volumen 0,75 ccm).

Als Verdünnungsmedium diente

in den Reihen I 0,85-proz. Kochsalzlösung,

in den Reihen II 0,7-proz. Kochsalzlösung.

Zugleich wurde in Parallelreihen B ebenso verfahren, nur anstatt des verdünnten Alkohols physiologische, bzw. 0,7-proz. Kochsalzlösung verwendet.

Nach 1stündigem Verweilen im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und je 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung; die letztere für die

Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung,

Reihen II in 1,3-proz. Kochsalzlösung

hergestellt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen des aktiven Menschenserums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Ablauf der ersten Phase							
	I. in 0,85-proz. NaCl mit den Seris				II. in 0,7-proz. NaCl mit den Seris			
	a	b	c	d	a	b	c	d
A (Alkohol)								
0,05	0	k	k	k	0	m	Sp	w
0,03	0	"	"	"	0	st	w	m
0,02	0	"	"	"	0	fk	m	"
0,01	Spch	"	"	"	0	k	k	k
0,006	k	"	"	"	Spch	"	"	"
0,004	"	"	"	"	m	"	"	"
0	"	"	"	"	k	"	"	"
B (Kontrollen)								
0,05	0	k	k	k	0	k	k	k
0,03	m	"	"	"	0	"	"	"
0,02	k	"	"	"	0	"	"	"
0,01	"	"	"	"	Spch	"	"	"
0,006	"	"	"	"	k	"	"	"

Auch dieses Versuchsbeispiel zeigt in deutlicher Weise die Verstärkung der Alkoholreaktion bei Herabsetzung des Salzgehaltes des Mediums und die Beziehungen, die augenscheinlich zwischen eigenhemmender Serumwirkung und der Rolle des Alkohols bestehen können. Denn Serum a, das bereits in 0,85-proz. Kochsalzlösung zu einer erheblichen Alkoholwirkung führt, ist auch durch eine deut-

liche antikomplementäre Funktion ausgezeichnet, die ihrerseits in 0,7-proz. Kochsalzlösung eine erhebliche Verstärkung erfährt. So dürften die Befunde in dem Sinne sprechen, daß der Alkohol als Eiweißfällungsmittel die Globulinveränderungen bedingt oder befördert, die dann als antikomplementäre Wirkung zum Ausdruck kommen.

Da die Alkoholwirkung, wenigstens zu einem gewissen Teil, von der Labilität der Sera abhängig sein dürfte, ist es nicht zu verwundern, daß sie bei labilen Seris am stärksten zum Ausdruck kommt. Da zu den letzteren vornehmlich die Sera von Geschwulstträgern, Schwangeren und Infektionskrankheiten gehören, ist es verständlich, daß Falco derartige Alkoholreaktionen hauptsächlich bei Schwangeren (und auch bei Tuberkulose) beobachtet hat. Auch ich habe bei der Untersuchung von Gravidenseris Alkoholreaktionen in der Regel schon in 0,85-proz. Kochsalzlösung eintreten sehen, die allerdings in 0,7-proz. Kochsalzlösung eine Verstärkung erfahren, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen von 3 aktiven Seris von Schwangeren (a—c) und einem nichtschwangeren Serum (d) wurden mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten Alkohols und je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchen-serums (Volumen 0,75 ccm) gemischt.

Als Verdünnungsfüssigkeit diente in den
Reihen I 0,85-proz. Kochsalzlösung,
Reihen II 0,7-proz. Kochsalzlösung.

Nach 1stündigem Verweilen im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung. Die letztere wurde hergestellt für die

Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung.
Reihen II in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Das Ergebnis zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

Mengen des aktiven Menschenserums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Ablauf der ersten Phase							
	I. in 0,85-proz. NaCl mit den Seris				II. in 0,7-proz. NaCl mit den Seris			
	a	b	c	d	a	b	c	d
0,05	0	0	0	fk	0	0	0	0
0,03	Spch	0	0	„	0	0	0	0
0,02	„	Sp	0	k	0	0	0	0
0,01	w	„	w	„	0	0	0	Sp
0,006	„	w	„	„	0	0	Sp	m
0,004	m	fk	„	„	Sp	m	m	„
0	k	k	k	„	k	k	k	k

Die Tabelle zeigt, daß die Schwangerensera (a—c) bereits in 0,85-proz. Kochsalzlösung mehr oder weniger stark mit Alkohol reagierten¹⁾, eine Reaktion, die in 0,7-proz. Kochsalzlösung zunimmt und dann auch andere Sera betrifft. Die gleichzeitig ausgeführten Parallelversuche mit inaktiven Seris sind in der Tabelle nicht aufgenommen, da sie zu vollkommen negativen Ergebnissen führten. Es besteht also auch hier ein markanter Unterschied zwischen aktivem und inaktivem Serum, was ja ohne weiteres verständlich ist, wenn man berücksichtigt, daß es sich im wesentlichen um Reaktionen auf die Labilität der Sera handelt.

Was das Verhalten der inaktiven Sera anlangt, so habe ich mit Alkohol häufig nur mit Wassermann-positiven Seris Hämolysehemmung erhalten. Die letztere war aber meist nur verhältnismäßig geringfügig, zuweilen schon in 0,85-proz. Kochsalzlösung wahrzunehmen und erfuhr bei Herabsetzung des Salzgehaltes eine entsprechende Verstärkung. Ein Versuchsbeispiel dieser Art sei im folgenden angeführt.

Je 0,25 ccm 10fach verdünnter inaktivierter Wassermann-positiver Patientensera (a—d) und Wassermann-negativer Sera (e, f) wurden mit 0,25 ccm 6fach verdünnten Alkohols und 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinchenserums (Volumen 0,75 ccm) digeriert. Die Mischungen wurden in den

Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung

Reihen II in 0,7-proz. Kochsalzlösung bereitet.

Nach 1stündigem Verweilen im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung; die letztere wurde hergestellt für die

Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung

Reihen II in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Das Ergebnis ist aus Tabelle VII ersichtlich, in der die vollständig gelösten Kontrollen (Alkoholkontrollen und Serumkontrollen) nicht notiert sind.

Tabelle VII.

Ablauf der ersten Phase in:	Eingetretene Hämolyse bei den Seris					
	a	b	c	d	e	f
I. 0,85-proz. NaCl	m	m	k	k	k	k
II. 0,7-proz. NaCl	w	Sp	„	„	„	„

1) Auch hierbei kamen Variationen an den einzelnen Versuchstagen vor.

Wie die Tabelle zeigt, ergeben die inaktiven Wassermann-positiven Sera a und b in der Tat in 0,85-proz. Kochsalzlösung eine partielle Hämolysehemmung, die in 0,7-proz. Kochsalzlösung verstärkt wird. Das angeführte Ergebnis imponiert als für Lues charakteristisch, wenn auch die Empfindlichkeit nicht entfernt in dem Maße erreicht wird, wie sie für die Wassermannsche Reaktion erforderlich ist (siehe die Wassermann-positiven Sera c und d). Es muß aber dazu bemerkt werden, daß die Ergebnisse an den einzelnen Tagen außerordentlich schwanken. Zum Teil trat mit inaktiven Seris überhaupt keine Reaktion auf, zum Teil erwies sich die Reaktion auch unspezifisch, indem Wassermann-negative Sera nach der Inaktivierung, besonders in 0,7-proz. Kochsalzlösung, Hemmung der Hämolyse bedingten. Das traf besonders für die labilen Sera von Graviden zu. Meine Erfahrungen zeigen also, daß der Ersatz des Extraktes durch Alkohol zwar zuweilen der Wassermannschen Reaktion entsprechende Befunde zu ergeben scheint. Die verhältnismäßige Seltenheit der positiven Alkoholreaktion im inaktivierten Serum und die Regellosigkeit, die sich, zumal bei Herabsetzung des Salzgehaltes, ergibt, dürfte aber in dem Sinne sprechen, daß es sich auch hierbei mehr um unspezifische Ausschläge besonders labiler Sera handelt, die augenscheinlich unter dem Einfluß der syphilitischen Infektion häufig entstehen, also nicht um eine für Lues charakteristische Reaktion. Zweifellos ist beim Arbeiten mit inaktivierten Seris der Unterschied zwischen Extrakt und reiner Alkoholwirkung außerordentlich groß, und unter den Bedingungen der Wassermannschen Reaktion dürfte daher der Alkoholgehalt der Extrakte im wesentlichen nur als ein Adjuvans aufzufassen sein, wie das schon den älteren Beobachtungen von Sachs und Rondoni entspricht.

Von Interesse scheint nun noch die Frage, ob die starke Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera mit dem Extrakt, zumal bei vermindertem Salzgehalt, nur auf die Alkoholwirkung zu beziehen ist, oder ob die Lipoidbestandteile des Extraktes auch an und für sich in der beobachteten Richtung wirken. In dieser Hinsicht erlauben zwar meine bisherigen Versuche

keine exakte Beantwortung, immerhin deuten aber mehr oder weniger große quantitative Unterschiede im Verhalten des Extraktes und des Alkohols darauf hin, daß den Extraktlipoiden mindestens ein erhebliches verstärkendes Moment zugesprochen werden darf. Es dürfte dieser Auffassung kaum widersprechen, wenn zuweilen im Rahmen der Versuchsanordnung Differenzen nicht in Erscheinung treten. Denn an manchen Versuchstagen ist, wohl in Abhängigkeit von der Deviabilität des jeweils benutzten Komplementes, die Alkoholwirkung so stark, daß sie ohne entsprechende quantitative Variationen von der Extraktwirkung nicht oder kaum abgegrenzt werden kann. Besonders trifft das nicht selten für das Arbeiten in 0,7-proz. Kochsalzlösung zu, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Es wurden je 0,25 ccm 10fach verdünnten aktiven Wassermann-negativen Patientenserums (a—d) mit 0,25 ccm 10fach verdünnten Meer-schweinchenserums in den Reihen

I. mit 0,25 ccm 6fach verdünnten Extraktes in 0,85-proz. Kochsalzlösung
 II. „ 0,25 „ 6 „ „ Alkohols „ 0,85 „ „
 III. „ 0,25 „ 6 „ „ Extraktes „ 0,7 „ „
 IV. „ 0,25 „ 6 „ „ Alkohols „ 0,7 „ „
 digeriert (Volumen 0,75 ccm).

Nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und von 0,25 ccm Ambozeptor-verdünnung; die letztere in den

Reihen I und II in 0,85-proz. Kochsalzlösung,
 Reihen III und IV in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Die vollständig gelösten Kontrollen sind in der folgenden Tabelle VIII, die das Ergebnis enthält, weggelassen.

Tabelle VIII.

	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung der Sera			
	a	b	c	d
I.	0	k	0	m
II.	w	„	m	k
III.	0	0	0	0
IV.	0	0	0	0

Wie die Tabelle zeigt, ist in 0,85-proz. Kochsalzlösung (I, II) der Unterschied zwischen Extrakt und Alkohol deutlich vorhanden; das Extrakt bedeutet bei einer Reihe

von Seris immerhin eine deutliche Verstärkung der Hemmungswirkung¹⁾. In 0,7-proz. Kochsalzlösung dagegen (III, IV) fehlt ein Unterschied, weil bereits der Alkohol an und für sich vollständige Hemmung der Hämolyse bedingt. Man kann also schon aus diesem Versuch schließen, daß die Extraktbestandteile für die Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera keineswegs gleichgültig sind, wenngleich in Bestätigung früherer Versuche bereits dem Alkohol eine unverkennbare Wirkung zugesprochen werden muß.

Noch deutlicher kamen allerdings die Unterschiede zur Geltung an Versuchstagen, an denen die Reaktion der aktiven Sera nur schwach zum Ausdruck gelangte. Auch in dieser Hinsicht möchte ich mir in folgendem erlauben, ein Beispiel zu geben.

Je 0,25 ccm 10fach verdünnten aktiven Wassermann-negativen Patientenserums (a-d) wurden mit je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meer-schweinchenserum in den Reihen

- | | |
|------|---|
| I. | mit 0,25 ccm 6fach verdünnten Extrakt in 0,85-proz. NaCl, |
| II. | „ 0,25 „ 4 „ „ Alkohol „ 0,85 „ „ |
| III. | „ 0,25 „ 6 „ „ Extrakt „ 0,7 „ „ |
| IV. | „ 0,25 „ 4 „ „ Alkohol „ 0,7 „ „ |
- digiert (Volumen 0,75 ccm).

Nach Istündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgte Zusatz von 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptorverdünnung; die letztere für die

- Reihen I und II in 0,85-proz. Kochsalzlösung
 Reihen III und IV in 1,3-proz. Kochsalzlösung.

Das Ergebnis bei vollständig gelösten Kontrollen zeigt Tabelle IX.

1) Zu entsprechenden Ergebnissen gelangen auch Browning, Dunlop und Kennaway (Journal of Pathology and Bacteriology, Vol. XXV, 1922, p. 36) in einem Aufsatz, von dem ich erst nach Beendigung meiner Arbeit Kenntnis erhielt. Browning, Dunlop und Kennaway haben gefunden, daß die Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera bei der Wassermannschen Reaktion wesentlich von dem Alkoholgehalt der Extraktverdünnungen abhängt, und daß bei manchen Seris bereits Alkohol an und für sich zu einer positiven Reaktion führt, in anderen Fällen aber der Zusatz der Extraktlipide erforderlich ist. Die von mir erhobenen Befunde stehen damit in Einklang. Sie zeigen aber außerdem die wesentliche Bedeutung, die der Salzkonzentration für die Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera mit dem Extrakt oder auch mit Alkohol allein zukommt.

Tabelle IX.

	Eingetretene Hämolyse bei Serum			
	a	b	c	d
I.	st	fk	st	fk
II.	k	k	k	k
III.	0	0	0	0
IV.	st	m	w	st

Die Tabelle zeigt zunächst beim Vergleich der Reihen I und III, daß eine wesentliche Extraktwirkung in diesem Versuch erst bei Herabsetzung des Salzgehaltes auf 0,7 Proz. zustande kommt. Obwohl in den Reihen II und IV Alkohol in stärkerer Konzentration (4fach verdünnt) zur Verwendung kam, ergibt sich doch auch in 0,7-proz. Kochsalzlösung ein erheblicher Unterschied zwischen Alkohol- und Extraktwirkung. Man muß daher schließen, daß den Extraktbestandteilen zum mindesten ein erheblich verstärkendes Moment zugesprochen werden darf.

Das zeigen auch Versuche, in denen unter quantitativer Variation mit absteigenden Serummengen gearbeitet wurde.

Absteigende Mengen aktiver Wassermann-negativer Patientensera (a—d) wurden unter Zusatz von 0,25 ccm 10fach verdünnten Meer-schweinchenserums:

A. mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten cholesterinierten Rinderherz-extrakts,

B. mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten Alkohols,

C. mit je 0,25 ccm Kochsalzlösung

digiert (Volumen 0,75 ccm).

Verdünnung und Mischung erfolgte in den

Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung,

Reihen II in 0,7-proz. Kochsalzlösung.

Nach 1stündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgte Zusatz von je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,25 ccm Ambozeptor-verdünnung, für die

Reihen I in 0,85-proz. Kochsalzlösung,

Reihen II in 1,3-proz. Kochsalzlösung

bereitet.

Das Ergebnis zeigt Tabelle X.

Tabelle X.

Mengen des aktiven Patientenserums ccm	Eingetretene Hämolyse bei Ablauf der ersten Phase in							
	I. 0,85-proz. NaCl mit den Seris				II. 0,7-proz. NaCl mit den Seris			
	a	b	c	d	a	b	c	d
A (Extraktvers.)								
0,05	Spch	k	fk	k	0	Spch	0	fk
0,03	"	"	Spch	"	0	"	0	"
0,02	"	"	w	"	0	"	0	st
0	k	"	k	"	k	k	k	k
B (Alkoholvers.)								
0,05	k	k	k	k	0	k	st	k
0,03	"	"	"	"	0	fk	m	"
0,02	"	"	"	"	0	m	"	"
0	"	"	"	"	k	k	k	"
C (NaCl-Vers.)								
0,05	k	k	k	k	k	k	k	k
0,03	"	"	"	"	"	"	"	"
0,02	"	"	"	"	"	"	"	"
0	"	"	"	"	"	"	"	"

Die Tabelle zeigt wiederum sehr deutlich den Unterschied zwischen Extrakt- und Alkoholwirkung, und zwar sowohl in 0,85-proz. als auch in 0,7-proz. Kochsalzlösung. Von Interesse ist dabei, daß geringere Serumengen zuweilen stärkere Hemmung hervorrief als größere. Es ist das ein Befund, der zwar nicht regelmäßig zu verzeichnen war, der aber doch wiederholt wiederkehrte, so daß ich in ihm nicht einen Zufall erblicken möchte. Man kann ein derartiges paradox erscheinendes Verhalten wohl verstehen, wenn man entweder annimmt, daß bei Steigerung der Mengen des aktiven Serums der Komplementgehalt und damit die Stärke der hämolytischen Wirkung zunimmt, oder aber in Betracht zieht, daß mit Steigerung der Serumengen die unspezifische Alkohol- oder auch Extraktwirkung eine Verminderung erfahren kann. Bemerkenswert ist aber jedenfalls, daß unter Verwendung der größeren Serumengen die Unterschiede zwischen Extrakt- und Alkoholwirkung auch beim Ablauf der ersten Phase in 0,7-proz. Kochsalzlösung besonders deutlich erscheinen.

Jedenfalls ergibt sich aus der Gesamtheit der Versuche, daß im aktiven Zustande fast jedes Serum eine mehr oder minder große Reaktionsfähigkeit unter

den Versuchsbedingungen der Wassermannschen Reaktion aufweist, wofern der Salzgehalt des Mediums hinreichend niedrig ist. Wenn auch diese Reaktion bereits unter Verwendung von Alkohol anstatt des Extraktes bis zu einem gewissen Grade in Erscheinung tritt, so ist doch nicht zu bezweifeln, daß die Alkoholwirkung durch die Extraktbestandteile eine sehr erhebliche Verstärkung erfährt. In beiden Fällen handelt es sich eben um eine Funktion der Labilität der Sera, die bei geeigneter Anordnung im aktiven Serum fast ausnahmslos zur Wirkung gelangt. Ihre Funktion wird, wie die Versuche gezeigt haben, durch Herabsetzung des Salzgehaltes erheblich verstärkt, und so entsprechen die von mir erhobenen Befunde durchaus den Erfahrungen, die sich beim serologischen Luesnachweis mittels Ausflockung ergeben haben. Hier wie dort findet eine unspezifische Reaktion des Extraktes mit Komponenten des aktiven Serums statt, wofern der Salzgehalt des Mediums nicht über eine gewisse Grenze gesteigert ist. Während sich aber bei der Ausflockung diese Reaktion in einem Ausbleiben der Niederschlagsbildung dokumentiert, führt sie unter den Bedingungen der Wassermannschen Reaktion zur unspezifischen Komplementbindung. Hier wie dort liegen augenscheinlich Globulinumhüllungen bzw. Globulinalterationen schwächsten Grades vor, die einerseits gegenüber dem Flockungsvorgang antagonistisch gerichtet sind, andererseits aber hinreichen, um zur antikomplementären Globulinwirkung zu führen. So dürfte sich der Widerspruch, der scheinbar im Verhalten des aktiven Serums bei der Wassermannschen Reaktion und bei der Ausflockung besteht, in befriedigender Weise in dem Sinne erklären, daß den verschiedenartigen Ausdrucksformen identische Vorgänge zugrunde liegen.

Zusammenfassung.

- 1) Die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum erfährt durch Herabsetzung des Salzgehaltes in der ersten Phase des Versuchsablaufes eine erhebliche Verstärkung, so daß fast jedes Serum mehr oder weniger stark positiv reagiert.
- 2) Auch die antikomplementäre Wirkung von Extrakt und

Patientenseris kann bei Verminderung des Salzgehaltes verstärkt werden.

3) Bei Ersatz des Extraktes durch Alkohol treten mehr oder weniger starke Alkoholreaktionen ein, die bei Herabsetzung des Salzgehaltes eine erhebliche Verstärkung erfahren.

4) Zum Teil ergeben sich auch bei Verwendung inaktivierter Sera Alkoholreaktionen, zumal bei Verminderung des Salzgehaltes. Sie sind aber weder für Lues hinreichend empfindlich, noch auch charakteristisch, so daß unter den üblichen Bedingungen der Wassermannschen Reaktion der Alkoholgehalt der Extrakte nur als ein Adjuvans aufzufassen sein dürfte.

5) Wenn auch aktive Sera bei vermindertem Salzgehalt mit Alkohol nicht selten sehr stark reagieren, so ergeben sich doch bei quantitativer Analyse erhebliche Unterschiede zwischen Alkohol- und Extraktwirkung.

6) Die Alkoholwirkung ist im Sinne eines schwachen Globulinfällungsmittels aufzufassen, das daher besonders die labilen Sera, also an erster Stelle in aktivem Zustande, betrifft.

7) Die Extraktlipide wirken augenscheinlich, abgesehen von ihrer für Lues charakteristischen Funktion, in gleichem Sinne, so daß die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum grundsätzlich anderen Gesetzmäßigkeiten folgt wie diejenige mit inaktivem Serum.

8) Aus der Tatsache, daß Verminderung des Salzgehaltes bei fast allen aktiven Seris positive Reaktionen bedingt, ergibt sich, daß ein prinzipieller Unterschied im Verhalten des aktiven Serums bei der Wassermannschen Reaktion und beim serologischen Luesnachweis mittels Ausflockung nicht besteht. In beiden Fällen reagieren Extraktbestandteile mit dem aktiven Serum im Sinne einer Umhüllung mit labilen Eiweißkomponenten. Diese Reaktion verhindert bei der Ausflockung das positive Ergebnis. Sie führt unter den Bedingungen der Wassermannschen Reaktion zu einer antikomplementären Funktion der derart alterierten Globuline. Beide Prozesse werden durch Salzüberschuß gehemmt. Bei der Wassermannschen Reaktion bedeutet bereits der 0,85-proz. Salzgehalt einen derartigen Antagonismus für die antikomplementäre Wirkung.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. K. Herxheimer).]

Ueber die Aufhebung der Funktion alkoholischer Rinderherzextrakte durch Cobragift und ihre Bedeutung für die Theorie der Wassermannschen und Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion.

Von Prof. Dr. E. Nathan,
Oberarzt der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. April 1922.)

In zwei vorangehenden Mitteilungen konnte ich¹⁾ im Anschluß an eine Beobachtung von Hirschfeld und Klinger in ausgedehnten experimentellen Untersuchungen zeigen, daß alkoholischer Rinderherzextrakt durch Digestion mit Cobragift seine Fähigkeit verliert, mit syphilitischem Serum unter Komplementbindung zu reagieren. Das Cobragift vermag also die beim Zusammenwirken mit Syphilisserum zur Komplementbindung führende Funktion alkoholischer Rinderherzextrakte zu zerstören. Diese extraktzerstörende Funktion des Cobragiftes verhielt sich, wie meine weiteren Untersuchungen zeigten, der lezithinspaltenden Funktion (Lecithinase) des Cobragiftes völlig analog, so daß der Schluß auf eine Identität dieser beiden Funktionen des Cobragiftes nahe lag.

Die Aufdeckung dieser extraktzerstörenden Funktion des Cobragiftes legte nun den Gedanken nahe, die damit gegebene Möglichkeit der Ausschaltung der antigenen Funktion des Extraktes zu Untersuchungen über die Reaktionsbeziehungen zwischen Extrakt, Syphilisserum und Komplement zu benutzen. Dabei zeigten sich zunächst individuelle Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit verschiedener, jedoch gleich stark wassermannpositiver syphilitischer Sera, die in diesem Ausmaß von vornherein nicht zu erwarten waren, und die vermuten ließen,

1) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, S. 154 und S. 582.

daß die Verschiedenheiten der Reaktionsfähigkeit dieser Sera vielleicht im Sinne von Aviditätsdifferenzen der die positive Reaktion vermittelnden Serumqualitäten aufzufassen sind. Daneben war allerdings, wenn man von der immunologischen Betrachtungsweise absah, die Möglichkeit weitgehender und bis jetzt noch ungeklärter biochemischer oder biophysikalischer Differenzen der einzelnen Sera nicht von der Hand zu weisen. Diese individuellen Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der einzelnen Sera machten sich gerade bei der Analyse der Reaktionsbeziehungen zwischen Extrakt, Syphilisserum und Komplement besonders bemerkbar und ließen keine ganz eindeutigen Gesetzmäßigkeiten aus den Versuchen ableiten. Wurden z. B. Gemische von Extrakt, Syphilisserum und Meerschweinchenserum 1 Stunde lang mit Cobragift digeriert, und dann erst das hämolytische System zugesetzt — eine Versuchsanordnung, bei der die Komplementbindungsreaktion gleichsam mit der Extraktzerstörung in Konkurrenz trat — so hing es von der Eigenart der verwandten Sera ab, welcher von beiden Vorgängen, die Extraktzerstörung oder die Komplementbindung, überwog. Bei Seren mit großer Reaktionsfähigkeit bzw. Avidität trat die Komplementbindung bzw. die zur Komplementinaktivierung führende Reaktion zwischen Extrakt, Syphilisserum und Komplement ein, bevor das Cobragift seine fermentative Funktion entfalten konnte, so daß eine Extraktzerstörung nicht nachweisbar war. Umgekehrt trat bei Seren von schwacher Avidität eine Extraktzerstörung durch das Cobragift ein, da bei solchen Seren das Cobragift seine Wirksamkeit entfalten konnte, bevor es zur Komplementbindung gekommen war. Bei manchen Seren wirkte sogar der gleichzeitige Serumzusatz begünstigend auf die Zerstörung des Extraktes durch Cobragift ein.

Von besonderem Interesse war aber die Tatsache, daß auch bei bereits digerierten Gemischen von Extrakt und Syphilisserum und nachträglichem Zusatz von Cobragift eine Extraktzerstörung, wenn auch nicht immer, nachweisbar war. Die Digestion des Extraktes mit dem Serum und die dabei zwischen den beiden Komponenten ablaufenden Reaktionsprozesse vermochten also den Extrakt nicht vor der Zerstörung

durch Cobragift zu schützen, sondern das Extraktserumgemisch verlor auch unter diesen Umständen öfters völlig seine anti-komplementäre Funktion. Daraus ergab sich die wichtige Schlußfolgerung, daß der Reaktion zwischen Extrakt und Syphilisserum nicht die Rolle einer festen, d. h. abgeschlossenen und irreversiblen Verbindung vindiziert werden darf.

Die Auffindung der Sachs-Georgischen Reaktion, die sich ja lediglich zwischen dem alkoholischen Organextrakt und dem Syphilisserum abspielt und in dem Eintritt einer Ausflockung ihren optischen Ausdruck erfährt, gab nun die Veranlassung, in Ergänzung und Erweiterung meiner eingangs erwähnten Untersuchungen bei der Wassermannschen Reaktion die extraktzerstörende Wirkung des Cobragiftes auch bei der Ausflockungsreaktion zu untersuchen. Denn bei der Prüfung mittels der Ausflockungsreaktion mußten die Untersuchungsergebnisse wesentlich einfacher und übersichtlicher sein, da die störende Interferenz der antikomplementären und hämolytischen Cobrawirkung ausgeschaltet ist; außerdem waren aus diesen Untersuchungen weitere Aufschlüsse über die Gleichartigkeit bzw. Verschiedenartigkeit der bei beiden Reaktionen — der Wassermannschen und der Ausflockungsreaktion — beteiligten Extrakt- bzw. Serumbestandteilen und ihrer Beziehungen zueinander zu erwarten. Von diesen Gesichtspunkten ausgehend, habe ich die Einwirkung des Cobragiftes auf die Extraktfunktion bei der Ausflockungsreaktion untersucht und möchte mir erlauben, kurz über die Resultate der bereits 1918 und 1919 vorgenommenen, aus äußeren Gründen bis jetzt aber noch nicht veröffentlichten Untersuchungen im folgenden zu berichten.

Von meinen Untersuchungen über die Extraktzerstörung durch Cobragift bei der WaR. ausgehend, war zunächst festzustellen, wie sich die Verhältnisse bei der Ausflockungsreaktion gestalten; es war also zu prüfen, ob das Cobragift den Extrakt auch seiner Fähigkeit beraubt, mit syphilitischem Serum unter Ausflockung zu reagieren. Daß dem tatsächlich so ist, zeigt das folgende Versuchsbeispiel:

Absteigende Mengen 1-proz. Cobragiftlösung (Vol. 0,25 ccm) werden mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten cholesterinierten Rinderherzextraktes in 8 parallelen Reihen 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

Sodann erfolgt in jeder Reihe Zusatz von je 0,5 ccm 10fach verdünnten, flockungspositiven Luesserums. Die nach 24stündiger Digestion der Gemische im Brutschrank bei 37° eingetretene Flockung bei Verwendung von 8 verschiedenen Seren zeigt die folgende Tabelle:

Tabelle I.

Mengen der 1-proz. Cobragiftlösung ccm	Ausflockungsreaktion nach Vorbehandlung des Extraktes mit Cobragift							
	Serum I	Serum II	Serum III	Serum IV	Serum V	Serum VI	Serum VII	Serum VIII
1:250 0,25	—	—	—	—	—	—	—	—
0,15	—	—	—	—	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—	—	—	—	—
1:1250 0,25	—	—	—	—	±	—	—	—
0,15	—	—	—	±	+	—	—	—
0,1	—	+	—	++	++	—	±	—
1:7250 0,25	—	++	+	++	++	+	±	—
0,15	—	++	+	++	++	+	++	—
0,1	+	++	++	+++	+++	++	+++	±
1:37250 0,25	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,15	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,1	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Wie die Tabelle I zeigt, ist bei der Digestion der mit dem Cobragift vorbehandelten Extraktverdünnungen mit den luetischen Sera nur bei den mit den geringsten Cobragiftmengen behandelten Gemischen bzw. in der unbehandelten Kontrolle eine Ausflockung eingetreten; dagegen ist die Ausflockung bei Vorbehandlung des Extraktes mit den größeren Cobragiftmengen völlig ausgeblieben. Das Cobragift hat also in dem mitgeteilten Versuch den cholesterinierten Rinderherzextrakt bei Prüfung gegenüber acht flockungspositiven Seren seiner Fähigkeit beraubt, mit den Sera unter Ausflockung zu reagieren. Dabei erwiesen sich die zur Extraktzerstörung notwendigen Cobragiftmengen, wie sich aus der Tabelle ergibt, als recht gering; denn in zwei Versuchen genügten noch 0,15 ccm einer 7250fachen Verdünnung der 1-proz. Cobragiftlösung, um eine völlige Aufhebung der Extraktfunktion zu bewirken. Bei den anderen Sera waren etwas größere Cobragiftmengen notwendig.

Der Versuch zeigt also in Erweiterung meiner früheren Befunde, daß das Cobragift nicht nur die Fähigkeit des Ex-

traktes zerstört, mit dem Syphilisserum unter Komplementbindung zu reagieren, sondern daß es auch seine Eignung aufhebt, zusammen mit Syphilisserum eine Ausflockung hervorzurufen. Daß sich bei dieser Zerstörung durch Cobragift sowohl für die komplementbindende als auch für die ausflockende Funktion des Extraktes ein weitgehender Parallelismus nachweisen läßt, zeigt das nächste Versuchsbeispiel (s. S. 397), bei dem die Gemische des mit Cobragift vorbehandelten Extraktes und der Syphilissera nach Ablesung und Notierung der Ausflockungsreaktion durch Zusatz von Meerschweinchenserum und hämolytischem System zu einer Wassermannschen Reaktion ergänzt wurden.

Wie die Tabelle II zeigt, besteht ein sehr weitgehender Parallelismus zwischen der Aufhebung der Ausflockung und der Komplementbindung durch die Vorbehandlung des Extraktes mit Cobragift. Dieser Parallelismus ist bei einigen Sera (III, IV, V, VIII) absolut quantitativ, bei den anderen Sera fast quantitativ. Die geringen bei diesen Sera (I, II, VI, VII) insofern bestehenden Differenzen, als die ersten bereits Ausflockung zeigenden Gemische noch komplette Hämolyse oder nur partielle Hemmung der Hämolyse aufweisen, lassen sich übrigens auf Grund der experimentellen Untersuchungen von Hecht¹⁾, Berczeller²⁾, Neukirch³⁾, Nathan⁴⁾ über das Verhalten ausgeflockter Extrakt-Serumgemische gegenüber der Wassermannschen Reaktion leicht erklären. Aus diesen Versuchen war nämlich hervorgegangen, daß bereits 24 Stunden digerierte und ausgeflockte Extrakt-Serumgemische bei Ergänzung zur Wassermannschen Reaktion durch nachträglichen Zusatz von Meerschweinchenserum und hämolytischem System eine wesentlich schwächere Komplementbindung ergeben, als bei direkter Mischung von Extrakt, Syphilisserum und Meerschweinchenserum. Auf dieser Abschwächung der antikomplementären Wirkung bereits ausgeflockter Extrakt-Serumgemische dürfte wohl auch die im Verhältnis zur Ausflockungs-

1) H. Hecht, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, 1915, S. 258.

2) L. Berczeller, Biochem. Zeitschr., Bd. 83, 1917, S. 315.

3) P. Neukirch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, S. 177.

4) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 34, 1922, S. 124.

Absteigende Mengen 1-proz. Cobragiftlösung (Vol. 0,25 ccm) werden mit je 0,25 ccm 6fach verdünnten cholesterinierten Rinderherzextraktes in 8 parallelen Reihen 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann erfolgt in jeder Reihe Zusatz von je 0,5 ccm 10fach verdünnten Syphiliserums. Nach 24stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° wird die Ausflockung notiert (Reihe a).

Hierauf erfolgt zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion in allen Röhren Zusatz von je 0,25 ccm 10fach verdünnten Meerschweinenserums und nach einstündiger Digestion im Brutschrank Zusatz von 0,5 ccm eines Gemisches gleicher Teile Hammelblut und hämolytischen Ambozeptors. Das Resultat der WaR. nach 2stündiger Digestion der Gemische im Brutschrank zeigen die Reihen b der Tabelle.

Tabelle II.

Mengen des Cobragiftes	Ausflockung bzw. WaR. nach Vorbehandlung des Extraktes mit Cobragift															
	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV		Serum V		Serum VI		Serum VII		Serum VIII	
ccm	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.	Ausfl.	WaR.
1 : 250	—	k	—	k	—	k	—	k	—	k	—	k	—	k	—	k
0,15	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"
0,1	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"	—	"
1 : 1250	—	"	—	"	—	"	—	fk	—	fk	—	fk	—	fk	—	"
0,25	—	"	—	"	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	"
0,15	—	"	—	"	—	"	—	0	—	0	—	0	—	0	—	"
0,1	—	"	—	"	—	"	—	0	—	0	—	0	—	0	—	"
1 : 7250	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	st
0,25	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	"
0,15	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	"
0,1	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	w
1 : 37250	—	m	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp
0,25	—	w	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp
0,15	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	"
0,1	—	"	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	"
0	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	0
	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	Sp	—	0

reaktion etwas schwächere Komplementbindung bei einem Teil der geprüften Sera beruhen.

Gleichzeitig geht aber aus dieser gleichsinnigen Beeinflussung der Extraktfunktion durch Cobragift gegenüber der Wassermannschen und der Sachs-Georgischen Reaktion mit Deutlichkeit hervor, daß die Extraktqualität, die im Zusammenwirken mit dem syphilitischen Serum bei der Methodik der Sachs-Georgischen Reaktion zum Entstehen der Ausflockung, bei der Methodik der Wassermannschen Reaktion zur Komplementinaktivierung führt, bei beiden Reaktionen die gleiche sein muß, daß mit anderen Worten bei beiden Reaktionen die nämlichen Extraktbestandteile beteiligt und von funktioneller Bedeutung sind. Dabei ist die Zerstörung dieser Extraktbestandteile durch Lecithinasewirkung ein weiterer Beweis für die lipoide Natur dieser Substanzen. Die parallele Aufhebung der Extraktfunktion bei beiden Reaktionen durch Cobragift erweitert also in methodisch neuartiger Weise die Kenntnis derjenigen äußeren Eingriffe bzw. Veränderungen des Milieus, die eine gleichsinnige Beeinflussung der Wassermannschen Reaktion und der Ausflockung ergeben hatten, wie z. B. die Wirkung erhöhter Kochsalzkonzentration, die Wirkung von Säure und Alkali usw. [vgl. hierzu u. a. H. Sachs und W. Georgi¹⁾ und Stilling²⁾].

Nachdem sich, wie die mitgeteilten Versuchsbeispiele gezeigt haben, eine gleichsinnige Beeinflussung der Extraktwirkung bei der Wassermannschen und der Sachs-Georgischen Reaktion durch das Cobragift ergeben hatte, ließ die weitere Analyse der Extraktzerstörung durch Cobragift mittels der Ausflockungsreaktion die gleichen Gesetzmäßigkeiten erkennen, wie wir sie bereits bei der Prüfung der Extraktzerstörung mittels der Methodik der Wassermannschen Reaktion nachgewiesen hatten. Ich glaube daher auf die Mitteilung detaillierter Versuchsprotokolle verzichten und mich mit einer kurzen Zusammenfassung der Versuchsergebnisse begnügen zu können.

1) H. Sachs und W. Georgi, Arbeiten a. d. Inst. f. exp. Therapie, H. 10, 1920, S. 5.

2) E. Stilling, ebenda, S. 69.

Auch bei der Sachs-Georgischen Reaktion gelingt es, analog den Verhältnissen bei der Wassermannschen Reaktion, nicht immer, sondern nur unter bestimmten Versuchsbedingungen, eine Zerstörung des Extraktes unter dem Einfluß des Cobragiftes nachzuweisen. Maßgebend für das Eintreten oder Ausbleiben einer Extraktzerstörung durch Cobragift bei der Ausflockungsreaktion sind gerade, wie bei der Wassermannschen Reaktion, zwei Momente, nämlich:

1) Die biochemische Eigenart des Extraktes, insofern, als einmal verschiedene Extrakte sich verschieden stark zerstörbar erwiesen, und andererseits der gleiche Extrakt durch Aenderung des Cholesteringehalts, also durch eine Aenderung des Mischungsverhältnisses der Lipoide, sich in seiner Empfindlichkeit gegenüber der Cobragiftzerstörung variieren ließ.

2) Die Eigenart der geprüften syphilitischen Sera insofern, als verschiedene, und zwar durch Auswertung auch als gleich stark positiv reagierend befundene Sera bei Prüfung gegenüber dem gleichen Extrakt eine anscheinend ganz verschieden starke Zerstörbarkeit des Extraktes zur Erscheinung brachten. Gerade diese Erscheinung, die ich bereits bei der Prüfung der Extraktzerstörung mittels der Wassermannschen Reaktion nachgewiesen hatte und nun auch bei der Ausflockungsreaktion wieder fand, führte mich bereits in meiner früheren Mitteilung zu dem Schluß, daß sich in dieser Erscheinung wahrscheinlich Verschiedenheiten der Reaktionsaktivität der Sera dokumentieren, die vielleicht im Sinne von Aviditätsdifferenzen der die positive Reaktion vermittelnden Faktoren aufzufassen sind. Man wird nun auf Grund der bei der Ausflockungsreaktion gewonnenen Kenntnisse wohl nicht fehlgehen, wenn man den wesentlichen Faktor dieser Aviditätsdifferenzen in der mehr oder weniger großen Fähigkeit der Globuline des Syphilisserums, mit den Extraktlipoiden zu reagieren, also in der individuell verschieden großen Eignung der einzelnen syphilitischen Sera zu Aenderungen ihres Dispersitätsgrades, erblickt. Denn je nach der mehr oder weniger großen Reaktions-

fähigkeit der Serumglobuline, also wahrscheinlich der geringeren oder größeren Stabilität dieser Serumfraktion, werden die der Zerstörung entgangenen Extraktreste im einzelnen Fall noch bzw. nicht mehr zur Erzeugung einer positiven Ausflockungsreaktion ausreichen, so daß die individuellen Unterschiede bei den einzelnen Sera hinsichtlich des Nachweises einer Extraktzerstörung dem Verständnis wohl zugänglich werden dürften. Auf dieser verschiedenen leichten Ausflockbarkeit der Serumglobuline dürften ja wohl auch zum größten Teil die Divergenzen beruhen, wie sie sich bei der klinischen Erprobung zwischen der Wassermannschen und der Sachs-Georgischen Reaktion herausgestellt haben; denn es ist sehr wohl denkbar und entspricht dem von Sachs in vielfachen Arbeiten vertretenen Standpunkt, daß die Reaktion zwischen Extraktlipoiden und Serumglobulinen wohl zu antikomplementärer Wirkung führen kann, eine optisch wahrnehmbare Ausflockung aber bei einem zu größeren Dispersitätsänderungen weniger oder nicht geeigneten Serum nicht einzutreten braucht. Denn die Ausflockung stellt ja wohl nur den sekundären physikalisch-optischen Ausdruck der stattgehabten Primärreaktion zwischen Extrakt und Syphilisserum dar. Abgesehen von dieser mangelnden Fähigkeit der Serumglobuline zur Ausflockung ist es aber auch durchaus denkbar, daß das dem aktiven Serum eigenartige und, wie sich aus den Arbeiten von W. Georgi, Sachs, Sachs und Sahlmann, Sachs und F. Georgi¹⁾ ergibt, auf einem thermolabilen Schutzkolloid beruhende Ausbleiben der Ausflockung gelegentlich unter gewissen Umständen auch einmal bei inaktivierten Seren vorkommt, eine Annahme, die neuerdings Nathan und Martin²⁾ zur Erklärung von Ausflockungen, die sie bei Auswertung inaktiver syphilitischer Sera erst bei geringeren Serumkonzentrationen eintreten sahen, herangezogen haben.

Die experimentelle Analyse der Reaktionsverhältnisse zwischen Extrakt und Syphilisserum mittels des Cobragiftes ist aber noch in anderer Hinsicht nicht ohne Interesse, da sie gegenüber den in meiner ersten Arbeit niedergelegten,

1) H. Sachs und F. Georgi, Med. Klinik, 1921, No. 33, S. 987.

2) E. Nathan und H. Martin, Dermat. Zeitschr., Bd. 35, 1922, S. 189.

mittels der Methodik der Wassermannschen Reaktion gewonnenen Resultaten bei der Prüfung mittels der Ausflockungsreaktion zu einer theoretisch nicht uninteressanten Ergänzung und Erweiterung meiner früheren Befunde führt. In meiner ersten Mitteilung hatte ich nämlich zeigen können, daß auch bei einem bereits eine Stunde miteinander digerierten Gemisch von Extrakt und Syphilisserum eine Zerstörung des Extraktes durch nachträglichen Cobragiftzusatz, wenn auch nicht immer, eintritt. Die einstündige Digestion des Extraktes mit dem Serum und die dabei zwischen den beiden Komponenten ablaufenden Reaktionsprozesse vermochten also den Extrakt nicht vor der Zerstörung durch Cobragift zu schützen, sondern das Extrakt-Serumgemisch verlor auch unter diesen Umständen meist völlig seine antikomplementäre Funktion. Daraus ergab sich der Schluß, „daß bei der Wassermannschen Reaktion der eigentlichen Antigen-Antikörperreaktion, d. h. der Reaktion zwischen Extrakt und syphilitischem Serum nicht die Rolle einer festen, d. h. abgeschlossenen und irreversiblen Verbindung oder eines aus der Reaktion des Extraktes mit dem Serum entstehenden Reaktionsproduktes, das nun der Träger der antikomplementären Wirkung würde, vindiziert werden darf. Vielmehr ergibt sich, daß in den selbst längere Zeit miteinander digerierten Extraktserumlösungen beide Körper sich in durchaus lockerem Gemische befinden, und daß erst der Zusatz des komplementhaltigen Meerschweinchenserums zu Reaktionsprozessen zwischen dem Extrakt-Serumgemisch einerseits, dem Meerschweinchenserum andererseits führen muß, als deren Folge die Komplementbindung bzw. antikomplementäre Funktionen resultieren.“ Diese bereits im Jahre 1917 von mir nachgewiesene und ausdrücklich formulierte Spaltbarkeit der Reaktion zwischen alkoholischem Organextrakt und Syphilisserum ist nun im Hinblick auf die neueren Untersuchungen über den Mechanismus der Ausflockung bei der Sachs-Georgischen Reaktion nicht ohne Interesse, und es scheint mir nicht überflüssig, auf diese Untersuchungen hinzuweisen, nachdem die Frage der Spaltbarkeit der Extrakt-

Serumverbindung durch die neueren Untersuchungen von v. Wassermann sowie von Sachs und Sahlmann über die Zusammensetzung des bei der Sachs-Georgischen Reaktion entstehenden Flockenniederschlags und die Möglichkeit der Wiedergewinnung von biologisch-aktiven Extrakt- bzw. Serumbestandteilen aus dieser Flockung wieder aktuell geworden ist. Nun habe ich allerdings bei meinen Versuchen über die Spaltung des Extrakt-Serumgemisches den Gemischen von Extrakt und Serum bereits nach einstündiger Digestion das Cobragift zugesetzt, so daß der Einwand einer noch nicht vollzogenen Reaktion erhoben werden könnte. Demgegenüber muß man aber darauf hinweisen, daß diese Zeit bei Mischung von Extrakt, Syphilisserum und Komplement ja zur Komplementbindung völlig ausreicht. Gerade diese Ueberlegung führte mich ja zu der Annahme, daß erst der Zusatz des Meerschweinchenserums zu Reaktionsprozessen zwischen dem Extrakt-Serumgemisch einerseits, dem Meerschweinchenserum andererseits führen muß, als deren Folge die Komplementbindung bzw. antikomplementäre Funktionen resultieren, so daß also die zum Komplementschwund führende Reaktion zwischen diesen drei Faktoren als einzeitiger Vorgang imponierte. Jedoch schien es notwendig, nun auch das Verhalten von 24 Stunden digerierten und völlig ausgeflockten Extrakt-Serumgemischen gegenüber dem Cobragift zu untersuchen, um so die erwünschte und notwendige Ergänzung der

Tabelle

Mengen der Cobragift- lösung ccm	Ausflockung von Luesserum mit Extrakt nach vorangehender										
	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV		Serum V		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
1 : 250	0,25	—	—	±	+++	—	—	—	+++	—	+++
	0,15	—	+	±	+++	—	—	±	+++	—	+++
	0,1	—	++	±	+++	—	—	±	+++	—	+++
1 : 1250	0,25	—	++	±	+++	—	—	±	+++	—	+++
	0,15	—	++	++	+++	—	+	++	+++	—	+++
	0,1	±	++	+++	+++	—	+	++	+++	—	+++
1 : 7250	0,25	±	+++	+++	+++	—	+	++	+++	+	+++
	0,15	+++	+++	+++	+++	—	++	++	+++	+	+++
	0,1	+++	+++	+++	+++	+	+++	++	+++	++	+++
1 : 37 250	0,25	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
	0,15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
	0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

erwähnten Versuche mittels der Ausflockungsreaktion zu liefern. Einen derartigen Versuch zeigt die nächste Tabelle:

Je 0,25 ccm 6fach verdünnten alkoholischen Rinderherzextraktes werden

in Reihe I 1 Stunde lang im Brutschrank mit absteigenden Mengen Cobragiftlösung digeriert. Sodann erfolgt Zusatz von je 0,5 ccm 10fach verdünnten Luesserums und 24stündige Digestion der Gemische im Brutschrank;

in Reihe II zuerst mit je 0,5 ccm des gleichen 10fach verdünnten Luesserums 24 Stunden im Brutschrank digeriert. Sodann erfolgt zu den ausgeflockten Gemischen Zusatz absteigender Mengen Cobragiftlösung und einstündige Digestion der Gemische im Brutschrank.

Das Ergebnis der Ausflockungsreaktion unter Verwendung einer Anzahl von Sera zeigt die Tabelle III.

Die Tabelle bestätigt zunächst in den Reihen I jeden Serums die bereits aus den früheren Versuchen bekannte Tatsache der Extraktzerstörung durch Cobragift, die bei den einzelnen Sera in verschieden starker Weise zur Geltung kommt. Während die Extraktzerstörung, wie sich aus dem Ausbleiben der Ausflockung ergibt, bei Serum I, III, IV, V, VI, VIII, IX, X und XI, wenn auch in quantitativ verschieden starker Weise, deutlich ausgesprochen ist, ist sie bei den Seren II und VII nur in einer Abschwächung, aber nicht in einer völligen Aufhebung erkennbar. Nicht so prinzipiell übereinstimmend verhalten sich die Ergebnisse der Ausflockungsreaktion in den Reihen II der einzelnen Sera, in

III.

(Reihe I) bzw. nachfolgender (Reihe II) Cobragiftbehandlung

Serum VI		Serum VII		Serum VIII		Serum IX		Serum X		Serum XI	
I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
—	+++	+	+++	—	+++	—	+	—	++	—	—
—	+++	+	+++	—	+++	—	+	—	++	—	—
—	+++	+	+++	—	+++	—	+	—	++	—	—
—	+++	+	+++	—	+++	±	+	—	+++	—	—
—	+++	+	+++	—	+++	+	+	—	+++	—	—
+	+++	++	+++	+	+++	++	++	±	+++	—	—
++	+++	++	+++	++	+++	++	++	±	+++	—	—
++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	—	—
++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	±
++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

denen das Cobragift den bereits 24 Stunden digerierten und völlig ausgeflockten Extrakt-Serungemischen zugesetzt worden war. Bei diesen Reihen läßt sich bei einem größeren Teil der Sera, nämlich bei Serum II, IV, V, VI, VII, VIII und X keinerlei, bei Serum IX eine nur geringfügige Abschwächung der Ausflockung erkennen. Dagegen ist bei den übrigen Seren, nämlich bei Serum I, III und XI, eine völlige Aufhebung der Ausflockung eingetreten. Das Cobragift hat also bei diesen bereits 24 Stunden lang digerierten und völlig ausgeflockten Extrakt-Serungemischen noch die Fähigkeit besessen, eine Aufhebung der Extraktfunktion und dadurch ein Verschwinden der Ausflockung zu bewirken. Dementsprechend vermochten diese Gemische bei nachträglicher Ergänzung zur Wassermannschen Reaktion durch Zusatz von Meer-schweinchenserum und hämolytischem System keine Komplementbindung mehr zu bewirken, wie besondere Versuche zeigten. Dieser Versuch mit der Ausflockungsreaktion ergänzt also in glücklicher Weise den mittels der Methodik der Wassermannschen Reaktion erhobenen Befund, daß einstündige Digestion des Extraktes mit dem Syphilliserum vor dem Cobragiftzusatz nicht den Extrakt vor der Zerstörung zu schützen vermag und bestätigt meine früher entwickelte Anschauung, daß der Reaktion zwischen Extrakt und syphilitischem Serum nicht die Rolle einer festen, d. h. abgeschlossenen und irreversiblen Verbindung oder eines aus dieser Reaktion entstehenden antikomplementär wirkenden Reaktionsproduktes vindiziert werden darf. Daß diese Versuchsergebnisse mit den von v. Wassermann sowie Sachs und Sahlmann über die Zusammensetzung des bei der Sachs-Georgi-Reaktion entstehenden Flockenniederschlages und die Möglichkeit der Spaltung und der Wiedergewinnung biologisch aktiver Extrakt- bzw. Serumbestandteile aus der Sachs-Georgischen Flockung in gutem Einklang stehen, habe ich bereits hervorgehoben.

Aber auch das Ausbleiben der Extraktzerstörung bei dem größeren Teil der bereits ausgeflockten Extrakt-Serungemische erscheint auf Grund der Untersuchungsergebnisse von Sachs

und Sahlmann über den Mechanismus der Ausflockung und die Zusammensetzung des Flockenniederschlages dem Verständnis leicht zugänglich. Sachs und Sahlmann haben nämlich gezeigt, daß im Niederschlag der Ausflockungsreaktion Extrakt- und Serumbestandteile vorhanden sind; „aber die Extraktbestandteile sind augenscheinlich im Niederschlag biologisch larviert und werden erst durch das Erhitzen manifest. Daß aber die Extraktbestandteile im nichterhitzten Niederschlag an der Ausübung ihrer Funktion gehindert sind, kann man wohl nicht anders erklären als durch die Vorstellung, daß die Extraktbestandteile durch Serum-(Globulin-)Komponenten gewissermaßen umhüllt sind.“ Auf Grund dieser Anschauung kann man sich nun leicht vorstellen, daß diese „Umhüllung“ der Extraktbestandteile mit Globulinkomponenten, die bei den verschiedenen Seren um so intensiver sein wird, je größer die bei den einzelnen Sera verschieden starke Fällbarkeit bzw. Neigung zu Dispersitätsänderungen ist, den Extrakt der Einwirkung des Cobragiftes unter Umständen völlig zu entziehen vermag, so daß bei derartigen Sera eine nachträgliche Aufhebung der Ausflockung durch Cobragift nicht mehr eintreten kann.

Zusammenfassung.

1) Die Behandlung von alkoholischem Rinderherzextrakt mit Cobragift beraubt den Extrakt seiner Fähigkeit, mit syphilitischen Sera unter Komplementbindung oder unter Ausflockung zu reagieren.

2) Dabei besteht ein sehr weitgehender Parallelismus zwischen der Aufhebung der Ausflockung und der Komplementbindung durch die Vorbehandlung des Extraktes mit Cobragift.

3) Die gleichsinnige Beeinflussung der Extraktfunktion durch Cobragift gegenüber der Komplementbindungs- und der Ausflockungsreaktion zeigt, daß bei beiden Reaktionen die nämlichen Extraktbestandteile beteiligt und von funktioneller Bedeutung sind, wobei die Zerstörung dieser Extraktbestandteile durch Lecithinasewirkung ein weiterer Beweis für die lipide Natur dieser Substanzen ist.

4) Der Nachweis der Extraktzerstörung durch Cobragift gelingt nicht immer, sondern nur unter besonderen Versuchs-

bedingungen. Maßgebend für das Eintreten oder Ausbleiben der Extraktzerstörung sind im wesentlichen zwei Momente, nämlich :

a) Die biochemische Eigenart des Extraktes insofern, als einmal verschiedene Extrakte sich verschieden stark zerstörbar erwiesen, und andererseits der gleiche Extrakt durch Aenderung des Cholesteringehaltes, also durch eine Aenderung des Mischungsverhältnisses der Lipoide, sich in seiner Empfindlichkeit gegenüber der Cobragiftzerstörung variieren ließ.

b) Die Eigenart der geprüften syphilitischen Sera insofern, als verschiedene, und zwar durch Auswertung auch als gleich stark positiv reagierend befundene Sera bei Prüfung gegenüber dem gleichen Extrakt eine anscheinend ganz verschieden starke Zerstörbarkeit des Extraktes zur Erscheinung brachten.

5) In diesem Phänomen dokumentieren sich wahrscheinlich Verschiedenheiten der Reaktionsaktivität der Sera, die vielleicht im Sinne von Aviditätsdifferenzen der die positive Reaktion vermittelnden Faktoren aufzufassen sind. Den wesentlichen Faktor dieser Aviditätsdifferenzen wird man in der mehr oder weniger großen Fähigkeit der Globuline des Syphiliserums, mit den Extraktlipoiden zu reagieren, also in der individuell verschieden großen Eignung der einzelnen syphilitischen Sera zu Aenderungen ihres Dispersitätsgrades, erblicken dürfen.

6) Bei Vorbehandlung bereits 24 Stunden lang digerierter und völlig ausgeflockter Extraktserungemische mit Cobragift tritt ebenfalls, wenn auch nicht immer, noch eine Aufhebung der Extraktfunktion und ein Verschwinden der Ausflockung ein. Auch vermochten diese Gemische bei nachträglicher Ergänzung zur Wassermannschen Reaktion durch Zusatz von Meerschweinchenserum und hämolytischem System keine Komplementbindung mehr zu bewirken.

7) Daraus ergibt sich, in Bestätigung und Erweiterung früherer eigener Angaben, daß der Reaktion zwischen Extrakt und syphilitischem Serum nicht die Rolle einer festen, d. h. abgeschlossenen und irreversiblen Verbindung oder eines aus dieser Reaktion entstehenden antikomplementär wirkenden Reaktionsproduktes vindiziert werden darf.

Nachdruck verboten.

[Aus der Serobakteriolog. Abteilung der Farbwerke Höchst a. M.
(Leiter: Dr. Joseph).]

**Ueber die Haltbarkeit der Antikörper im Rotlauf- und
Schweineseuchenserum.**

VON **Eugen Haibach**,
approb. Tierarzt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Mai 1922.)

In weiten Kreisen ist die Meinung vertreten, daß der spezifische Gehalt an Antikörpern der Heilsera äußerst labiler Natur sei. Bei der großen Bedeutung, die eine langdauernde Haltbarkeit jedes spezifischen Serums für die Praxis besitzt, mußten Prüfungen über diese Frage von allgemeinem Interesse sein.

Für die antitoxischen Sera (Diphtherie- und Tetanusserum) sind solche Untersuchungen bereits mehrfach ausgeführt worden (Marx, Otto, Boehncke, Hida und Mori, Busson und Löwenstein), dagegen sind über die Haltbarkeit der antibakteriellen Sera keine mir bekannten Versuche angestellt worden. Da nun die Klärung dieser Frage eine große praktische Bedeutung hat, habe ich dieselbe einer eingehenden Bearbeitung unterzogen.

Die ersten Untersuchungen über die Haltbarkeit der antitoxischen Sera wurden von Marx (1) sowie einige Jahre später von Otto (2) ausgeführt. Im Jahre 1911 haben Hida und Mori (3) ihre Untersuchungen über die Haltbarkeit des Diphtherieserums veröffentlicht. Ihre Resultate standen in einem gewissen Widerspruch zu denen von Marx und Otto. Während die beiden letztgenannten Autoren für das unter staatlicher Kontrolle in den Verkehr gebrachte Diphtherieserum, wenn es nicht direkten Schädigungen durch Licht oder Wärme ausgesetzt war, im allgemeinen eine unbegrenzte Haltbarkeit mit ganz geringem Antitoxinverlust feststellten, haben Hida und Mori nach zwei Jahren eine kaum merkliche Abschwächung, die aber bei langjähriger Aufbewahrung des Serums nach und nach zunahm, gefunden. Diese Untersuchungen von Hida und Mori wurden dann von Boehncke widerlegt, der zu denselben Ergebnissen gelangte, wie seine Voruntersucher Marx und Otto. Ueber gleiche Er-

gebnisse einer fast unbegrenzten Haltbarkeit des Diphtherieserums berichten Busson und Löwenstein (4). Nach Boehnckes (5) Angaben tritt selbst nach mehrmonatlicher Einwirkung einer erhöhten Temperatur von 37° und 41° C nur eine sehr allmähliche Schädigung des Antitoxingehalts ein.

Versuchsordnung.

A. Versuche mit abgelagertem Serum.

I. Prüfung des Einflusses der Lagerungsdauer auf den Wertgehalt des Serums.

II. Prüfung der Thermoresistenz der Antikörper.

1. Einfluß konstanter Wärme auf Antikörper durch Einstellen des Serums in den Brutschrank

- a) bei 37° C,
- b) bei 45° C.

2. Einfluß des Aufenthalts im Wasserbade bei 56° C.

3. Einfluß der Kälte auf Antikörper durch Einfrierenlassen des Serums.

III. Prüfung des Serums auf etwaige Verminderung der Antikörper nach Zusatz und Einwirkung von Reinkulturen

- a) des *Penicillium album*,
- b) des sogenannten Wassercoccus,
- c) des Heubazillus (*Bac. subtilis*),
- d) des *Staphylococcus albus*.

B. Versuche mit frisch gewonnenem Serum.

I. Auswertung des frischen Serums (38) nach Einwirkung einer konstanten Wärme

1. von 45° C (Brutschranktemperatur),
2. von 56° C (Wasserbad).

II. Ausprüfung des frischen Serums

1. nach künstlicher, bakterieller Verunreinigung,
2. nach natürlicher Verunreinigung.

III. Feststellung eines Falles von natürlicher Abschwächung des Antikörpergehalts bei einem frisch gewonnenen Rotlaufserum.

Für die nachfolgenden Versuche war die Prüfungsmethode des Staatsinstituts für experimentelle Therapie zu

Frankfurt a. M. als Muster zugrunde gelegt. Von Otto-Hetsch (6) sind in Heft 13 der Arbeiten aus dem Staatsinstitut für experimentelle Therapie und dem Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. die näheren Anleitungen zur Prüfungstechnik gegeben.

Es mußte mir für die auszuführenden Prüfungen zunächst der Besitz eines unveränderlichen Maßstabes, einer Eichungsgröße, die als Vergleichsskala dienen konnte, als Grundlage der Wertbestimmung gewährleistet sein. Es wurde deshalb die letzte Kontrollnummer des Rotlauf- und Schweineseuchenserums (Susserin - Kontr. - No. 332 und Suisepsin - Kontr. - No. 35/36) gegen entsprechende, vom Staatsinstitut bezogene Standardserumproben ausgewertet. Da diese gegenseitige Auswertung keine Differenz ergab, habe ich diese letzten, jetzt im Verkehr befindlichen Kontrollnummern bei den folgenden Prüfungen als Standardsera benutzt.

A. Versuche mit abgelagertem Serum (0,5 Proz. phenolhaltig).

I.

Die Erwägung, daß die nach staatlicher Prüfung für den Verkehr freigegebenen bakteriziden Sera durch jahrelange Aufbewahrung einen Verlust ihres ursprünglich gewährleisteten Antikörpergehalts und folglich auch eine Schwächung ihres Wirkungswertes erfahren könnten, hat mich veranlaßt, eine größere Anzahl von Serumproben verschiedenen Alters auf ihren Gehalt an Antikörpern zu prüfen. Die mir zu dieser Prüfung zur Verfügung stehenden Proben stammten aus den Jahren 1913—1921 und trugen die Kontrollnummer der staatlichen Prüfung. In braunen, gut verschlossenen, staatlich plombierten Fläschchen waren die Proben in den vergangenen Jahren in einem Schranke des Serobakteriologischen Instituts der Farbwerke zu Höchst a. M. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Diesen Beständen wurden die in den Prüfungstabellen verwandten Kontrollnummern wahllos entnommen und auf Sterilität geprüft. Zur genauen Beurteilung der Prüfungsergebnisse halte ich es für angezeigt, die gewonnenen Tabellen ausführlich folgen zu lassen.

27*

Tabelle I.

Prüfung des Rotlaufserums „Höchst“ (Susserin) nach jahrelanger Lagerung.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums (Kontrollnummer)	Tag der amtlichen Prüfung des Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach Tagen							
						2	3	4	5	6	7	8	
1. Versuchsreihe													
31. X. 1921	Ms 992	Kontroll-No. 259	4. X. 13	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 993	259		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 994			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	•	†
	Ms 995	Kontroll-No. 261	20. X. 13	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 996	261		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 997			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 998	Kontroll-No. 262	1. XII. 13	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 999	262		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1000			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1001	Kontroll-No. 267	23. II. 14	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1002	267		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1003			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1004	Kontroll-No. 287,288	5. IV. 16	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1005	287,288		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1006			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	•	†
	Ms 1007	Kontroll-No. 312	26. I. 18	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1008	312		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1009			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	•	†
	Ms 1010	Kontroll-No. 323	11. III. 20	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1011	323		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1012			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Versuchsreihe													
	Ms 1013	Kontroll No. 332 (Standardserum)	13. IV. 21	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1014	332 (Standardserum)		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1015			0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1016			0,008	0,01	0	0	0	0	0	0	•	†
	Ms 1017	Kontrollmaus			0,01	tot nach 48 Std.							
	„ 1018	„			0,01	„ „ 50 „							

Zeichenerklärung: 0 = gesund, 0 = leicht krank, • = schwer krank, † 5 = 5 Tage nach der Infektion eingegangen.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich also deutlich, daß bei der Mehrzahl der geprüften Kontrollproben keine Verminderung der wirksamen Antikörper trotz Aufbewahrung bis zu 8 Jahren zutage getreten ist. Einige Proben (Kontroll-No. 259, 287/288 und 312) besitzen zwar nicht mehr ganz den bei der staatlichen Prüfung verlangten Schutzwert. Der Verlust an Immunitätseinheiten kann bei ihnen aber nur ein ganz

geringer sein, da die Serummenge von 0,01 ccm es vermocht hat, die betreffenden Mäuse beinahe bis zum Abschluß der Prüfungszeit am Leben zu erhalten. Eine besondere Beweiskraft für die Tatsache, daß durch zeitliche Einwirkung eine wesentliche Beeinträchtigung des Antikörpergehalts nicht eintritt, besitzen die 8 Jahre alten Kontrollnummern 261 und 262.

Es dürfte nun von Interesse sein, die gleichen Versuche mit abgelagerten Kontrollproben des Schweineseucheserums anzuführen.

Tabelle II.
Prüfung des Schweineseucheserums nach jahrelanger Lagerung.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums (Kontrollnummer)	Tag der amtlichen Prüfung des Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach Tagen																
						2	3	4	5	6	7	8	9	10								
1. Versuchsreihe																						
11. XI. 1921	Ms 1019	Kontroll-	27. IV. 14	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1020	No. 23/24		0,008	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1021			0,007	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Ms 1022	Kontroll-	10. VIII. 18	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1023	No. 26		0,008	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1024			0,007	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2. Versuchsreihe																						
	Ms 1025	Kontroll-	7. X. 21	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1026	No. 35/36		0,008	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1027	(Stand-		0,007	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	„ 1028	Serum)		0,005	0,01	0	•	†														
	Ms 1029	Kontrollmaus			0,01	tot nach 46 Std.																
	„ 1030	„			0,01	„ „ 43 „																

Wir sehen also, daß das bei der Prüfung verschieden alter Rotlaufserumproben gewonnene Resultat durch die Versuche mit dem Schweineseucheserum bestätigt wird. Die Serumproben des Jahres 1914 und 1918 können hinsichtlich ihrer Schutzkraft der letzten jetzt im Verkehr befindlichen Kontrollnummer 35/36 vollkommen gleichgestellt werden. Es ist dabei zu bemerken, daß sämtliche Proben sich als gut 150fach (150 Immunitätseinheiten im Kubikzentimeter Serum) erwiesen haben.

Aus den Tabellen I und II kann man den Schluß ziehen, daß die im bakteriziden Serum enthaltenen Anti-

körper bei sachgemäßer Aufbewahrung des Serums in einem Zeitraum von 8 Jahren keine nennenswerte Abschwächung aufweisen.

II.

Ein zweiter Faktor, der bei der Prüfung der Antikörper hinsichtlich ihrer Haltbarkeit berücksichtigt werden muß, ist der Einfluß höherer Wärmegrade. Zu diesem Zwecke wurden mehrere Rotlaufserumproben der Kontrollnummer 332 verschieden lang im Brutschrank der Einwirkung einer konstanten Wärme von 37°C und 45°C überlassen. Höhere Temperaturgrade konnten zu den Versuchen nicht herangezogen werden, da entsprechende Vorversuche bewiesen hatten, daß nach drei- bis fünftägiger Einwirkung einer Temperatur von 55°C eine Koagulation des Serums eintrat.

Am 4. November 1921 wurden zwei Susserinproben (je 25 ccm) in braunen, gut verschlossenen Fläschchen und drei Wochen später (25. November 1921) zwei weitere gleich große Proben in einen schon längere Zeit auf 37°C eingestellten Brutschrank gesetzt. Nachdem dann sowohl die erste Prüfung der Proben nach 10 Tagen (s. Tabelle VIII), als auch die zweite Prüfung nach 24 Tagen (s. Tabelle IX) keine Abschwächung des Serums hatten erkennen lassen, wurde die Einwirkung der konstanten Wärme von 37° um ein weiteres erhebliches Zeitmaß von 40 Tagen verlängert. Auch nach Ablauf dieser Zeit waren makroskopisch sichtbare Veränderungen (Trübung, Bodensatz und Eiweißfällung) beim Vergleichen der Versuchsproben mit dem normalen bei Zimmertemperatur aufbewahrten Serum nicht festzustellen. Bei der Prüfung auf Sterilität erwiesen sich alle Proben als keimfrei. Am 10. Januar 1922 wurde alsdann die dritte Wertbestimmung der Serumproben an weißen Mäusen vorgenommen. Ihr Ergebnis ist aus Tabelle III klar zu ersehen.

Es läßt sich nunmehr feststellen, daß durch die 47 und 68 Tage lange Einwirkung der konstanten Wärme von 37°C eine schon recht erhebliche Abnahme des Antikörpergehalts hervorgerufen wurde. Denn selbst die mit der Serumdosis von 0,013 ccm behandelten Mäuse waren schon am dritten Tage der Beobachtungszeit leicht krank; mithin hat das ge-

Tabelle III.

Datum des Ver- suchs	No. des Versuchs- tieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des in- jizier- ten Se- rums	Menge der in- jizier- ten Test- kultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe												
10. I. 1922	Ms 1031	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1032	eingestellt bei	0,013	0,01	0	0	0	•	†			0
	„ 1033	37° C 68 Tage	0,01	0,01	0	0	•	•	†			0
	Ms 1034	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1035	eingestellt bei	0,013	0,01	0	0	0	0	•	†		0
	„ 1036	37° C 47 Tage	0,01	0,01	0	0	0	•	†			0
2. Versuchsreihe												
	Ms 1037	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1038	normal	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1039	(Standard- serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1040		0,008	0,01	0	0	•	†				0
	Ms 1041	Kontrollmaus		0,01	tot nach 46 Std.							
	„ 1042	„		0,01	„ „ 47 „							

prüfte Serum unter dem Einfluß der Wärme mehr als 25 Im-
munitätseinheiten eingebüßt.

Weiterhin läßt sich ersehen, daß die um 21 Tage ver-
schiedene Dauer der Wärmeeinwirkung bei Prüfung des
Wertgehalts in der Tabelle kaum zum Ausdruck kommt.

Nach diesem Ergebnis durfte erwartet werden, daß diese
schädigende Wirkung der Wärme durch noch höhere Tempe-
raturgrade in ungleich kürzerer Zeit sichtbar werden müsse.
Es wurden demgemäß wieder mehrere Proben des Rotlauf-
serums in abgeschmolzenen, 10 ccm fassenden Ampullen 6
und 12 Tage lang im Brutschrank der Einwirkung einer
Temperatur von 45° C überlassen. Sichtbare Veränderungen
traten auch bei dieser Temperatur nicht ein; das Serum blieb
klar und flüssig. Das Ergebnis der alsdann von mir aus-
geführten Prüfung des Serums sei in Tabelle IV zur Be-
urteilung vorgelegt.

Es ergibt sich also erstens, daß ein sechstägiges Einwirken
einer konstanten Temperatur von 45° C genügt hat, um dem
zuvor 100fachen Rotlaufserum einen Verlust von etwa 25 Proz.
seines Antikörpergehalts zuzufügen. Zweitens ist aus der
Tabelle ersichtlich, daß bei zeitlicher Verlängerung der Wärme-

Tabelle IV.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe.												
13. XII. 1921	Ms 1043	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1044	6 Tage bei	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1045	45° C im Brutschrank	0,01	0,01	⊕	•	†					
	Ms 1046	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1047	12 Tage bei	0,013	0,01	0	0	0	0	⊕	⊕	•	
	„ 1048	45° C im Brutschrank	0,01	0,01	⊕	•	†					
2. Versuchsreihe.												
	Ms 1049	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1050	normal	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1051	(Standard-	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1052	Serum)	0,008	0,01	0	⊕	•	†				
	Ms 1053	Kontrollmaus		0,01	tot nach 46 Stunden							
	„ 1054	„		0,01	„ „ 49 „							

einwirkung um das Doppelte ungefähr noch dieselbe Schutzkraft dem Serum innewohnte, wie nach sechstägiger Einwirkung.

Ergänzend zu den beiden letzten Versuchen soll nun noch ergründet werden, ob das Serum durch mehrstündigen Aufenthalt im Wasserbade bei 56° C gleichfalls an Schutzkraft einbüßt. Ich verwendete zu diesem Versuche abermals das Rotlaufserum (Kontrollnummer 332), von dem 6 Proben in kleine, braune, etwa 10 ccm fassende Fläschchen abgefüllt wurden. Zwei dieser Proben wurden nur einmal eine Stunde inaktiviert, zwei weitere an zwei aufeinander folgenden Tagen je eine Stunde und die beiden letzten Proben an drei aufeinander folgenden Tagen je eine Stunde im Wasserbade gelassen. Das Resultat der Prüfung zeigt Tabelle V.

Aus der Tabelle geht hervor, daß bereits nach einstündigem Aufenthalt des Serums im Wasserbade eine Abschwächung des ursprünglichen Titors erkennbar ist. Dieser Verlust an Immunitätseinheiten tritt nach zwei-, bzw. dreimaligem Inaktivieren noch deutlicher in Erscheinung, ohne sich jedoch schon bei der Serumdosis von 0,013 bemerkbar zu machen.

Tabelle V.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach Tagen							
					2	3	4	5	6	7	8	
1. Versuchsreihe.												
12. I. 1922	Ms 1055	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1056	einmal inaktiviert	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1057		0,01	0,01	0	0	0	0	•	†	0	
	Ms 1058	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1059	zweimal inaktiviert	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1060		0,01	0,01	0	0	0	•	†			
	Ms 1061	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1062	dreimal inaktiviert	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1063		0,01	0,01	0	0	•	†				
2. Versuchsreihe.												
	Ms 1064	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1065	normal	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1066	(Standard-Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1067		0,008	0,01	0	0	0	•	†			
	Ms 1068	Kontrollmaus		0,01	tot nach 50 Stunden							
	„ 1069	„		0,01	„ „ 48 „							

Nachdem durch einige Versuche nachgewiesen ist, daß höhere Temperaturgrade die Haltbarkeit der Antikörper ungünstig beeinflussen, soll nun auch nachgeprüft werden, ob das Einwirken von Kältegraden ebenfalls eine ähnliche schädliche Kraft zu entfalten vermag. Zu diesem Zwecke wurden einige Susserinproben (Kontrollnummer 332) im Kühlraum in eine Kältemischung von zerstoßenem Eis und Kochsalz gesetzt und zum Einfrieren gebracht. Eine dieser Proben wurde nach 24 Stunden der Kältemischung wieder entnommen, ganz allmählich zum Auftauen gebracht und ausgeprüft. Das Prüfungsergebnis zeigt Tabelle VI.

Das geprüfte Serum hat also eine 24stündige Temperaturerniedrigung unter 0° C gut ertragen und seine ursprüngliche Schutzkraft in vollem Maße beibehalten. Wenn ich mich nun entschloß, trotz dieses erwarteten klaren Resultats weitere Proben noch länger (6 bzw. 12 Tage) in der öfters erneuerten Kältemischung stehen zu lassen, so war dafür nicht die Erwägung maßgebend, daß mit der Länge der Zeit doch noch

Tabelle VI.

Datum des Ver- suchs	No. des Versuchs- tieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des in- jizier- ten Se- rums	Menge der in- jizier- ten Test- kultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe.												
29. X.	Ms 1070	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
1921	„ 1071	24 Stunden	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1072	eingefroren	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
2. Versuchsreihe.												
	Ms 1073	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1074	normal	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1075	(Standard-	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1076	Serum)	0,008	0,01	0	0	•	†				
	Ms 1077	Kontrollmaus		0,01	tot nach 48 Stunden							
	„ 1078	„		0,01	„	„	51	„				

eine Abschwächung der Antikörper in toto erfolgen könne. Die Anregung dazu bot mir vielmehr eine Arbeit von Tetsuda Ito (8). Tetsuda Ito hat nämlich beobachtet, daß die im Frigo-Apparat von Morgenroth aufbewahrten Sera sich nach ihrem Auftauen allmählich in drei im Farbenton verschiedene Schichten sondern. Es war mithin denkbar, durch ein 6- bzw. 12tägiges Einstellen in die Kältemischung eine ähnliche Schichtung des Serums und vielleicht auch eine Sedimentierung erreichen zu können. In Wirklichkeit aber traten bei meinen Serumproben deutlich nur zwei Schichten in Erscheinung. Ueber die untere Hauptschicht, die den ursprünglichen Farbenton des Serums beibehalten hatte, war eine etwa 0,5 cm hohe, weißgelblich gefärbte Schicht gelagert. Die nun folgende Tabelle soll uns den Antikörpergehalt der beiden getrennt voneinander geprüften Schichten veranschaulichen (siehe Tabelle VII).

Da in dieser Tabelle sämtliche Prüfungen der ersten Versuchsreihe denen der zweiten Versuchsreihe parallel verlaufen, läßt sich folgern, daß 1) in der unteren Schicht des eingefrorenen Serums eine Anreicherung der Antikörper nicht eingetreten ist, und daß 2) in der oberen Schicht der ursprüngliche Gehalt an Schutzkörpern erhalten blieb.

Tabelle VII.

Datum des Ver- suchs	No. des Versuchs- tieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des in- jizier- ten Se- rums	Menge der in- jizier- ten Test- kultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe.												
9. XII. 1921	Ms 1079	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1080	obere Schicht	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1081	des 2 Wochen	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1082	eingefrorenen Serums	0,008	0,01	0	+	+	•	†			
	Ms 1083	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1084	untere Schicht	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1085	des 2 Wochen	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1086	eingefrorenen Serums	0,008	0,01	0	0	+	•	†			
	Ms 1087	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1088	obere Schicht	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1089	des 1 Woche	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1090	eingefrorenen Serums	0,008	0,01	0	0	+	•	†			
	Ms 1091	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1092	untere Schicht	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1093	des 1 Woche	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1094	eingefrorenen Serums	0,008	0,01	0	+	•	†				
2. Versuchsreihe.												
	Ms 1095	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1096	normal (Stan-	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1097	dard-Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1098		0,008	0,01	0	0	+	•	†			
	Ms 1099	Kontrollmaus		0,01	tot nach 48 Stunden							
	„ 1100	„		0,01	„ „ 46 „							

III.

Bei meinen letzten mit abgelagertem Serum angestellten Versuchen soll noch die Frage, ob durch starke bakterielle Verunreinigung eine Wertminderung des Serums hervorgerufen werden kann, Berücksichtigung finden. Um entsprechendes Versuchsmaterial zu gewinnen, wurden einige Rotlaufserumproben der jetzt im Verkehr befindlichen Kontrollnummer 332 künstlich verunreinigt. Und zwar fanden dazu Verwendung Reinkulturen: 1) des *Penicillium album*, 2) des *Wassercoccus*, 3) des *Heubacillus* (*Bacillus subtilis*) und 4) des

Staphylococcus albus. Diese auf Schrägagar 48 Stunden im Brutschrank bei 37° C gewachsenen Kulturen wurden durch 2 ccm Bouillon abgeschwemmt und dann mittels einer Kapillarpipette 2 Tropfen dieser Abschwemmung den Serumproben zugesetzt. Nach 10tägigem Einstellen der Proben in den Brutschrank bei 37° C wurde die Prüfung vorgenommen. Sie ergab folgendes Resultat:

Tabelle VIII.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe.												
14. XI. 1921	Ms 1101	Susserin 332, nach Zusatz von <i>Penicillium album</i>	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1102	Susserin 332, nach Zusatz von Wasserkokken	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1103	Susserin 332, nach Zusatz von Heubazillen	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1104	Susserin 332, nach Zusatz von <i>Staphylococcus albus</i>	0,01	0,01	0	0	0	•	†			
	Ms 1105	Susserin 332, 10 Tage bei 37°	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Versuchsreihe.												
	Ms 1106	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1107	normal	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1108	(Standard-	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1109	Serum)	0,008	0,01	0	0	0	•	†			
	Ms 1110	Kontrollmaus		0,01	tot nach 45 Stunden							
	„ 1111	„		0,01	„ „ 46 „							

Die gleichzeitig mit der Prüfung der Proben vorgenommene Auszählung der in 1 ccm enthaltenen Keime lieferte folgende Zahlen:

Da- tum	Bezeichnung der Serumprobe	Keimzahl in der hergestellten Verdünnung				Keimzahl in 1 ccm
		1 : 100	1 : 10 000	1 : 1 000 000	1 : 100 000 000	
14. XI. 1921	Susserin 332, nach Zusatz von Penicil- lium album	3	.	.	.	300
	Susserin 332, nach Zusatz von Wasser- kokken	.	5	.	.	50 000
	Susserin 332, nach Zusatz von Heu- bazillen	.	.	.	18	1 800 000 000
	Susserin 332, nach Zusatz von Staphy- lokokken	.	.	8	.	8 000 000

Bereits nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank haben die durch Schimmelpilze und Heubazillen verunreinigten Proben eine deutliche Trübung erkennen lassen.

Aus der vorangegangenen Prüfungstabelle ist ersichtlich, daß eine wesentliche Abschwächung des Titers nur bei der durch Staphylokokken verunreinigten Serumprobe eingetreten ist. Das durch Schimmelpilze verunreinigte Serum ist ebenfalls nicht mehr vollwertig, da die Versuchsmäus beim Prüfungs-
abschluß leicht krank war.

Auffallend ist die Tatsache, daß das mit Heubazillen so überaus reich beladene Serum trotz der hohen Keimzahl keine Abschwächung der Schutzkraft erkennen läßt.

Etwa 14 Tage nach dieser ersten Prüfung wurde nochmals eine Nachprüfung des durch Staphylokokken verunreinigten Serums vorgenommen. Dabei ist noch zu bemerken, daß das Serum in der zwischen den beiden Prüfungen gelegenen Zeit weiter im Brutschrank bei 37° C gelassen worden war. Das Ergebnis der Nachprüfung zeigt Tabelle IX.

Auch die Nachprüfung hat abermals die erhebliche Abschwächung des durch Staphylokokken verunreinigten Serums bestätigt, und zwar beträgt der Verlust an Immunitätseinheiten mehr als 25 Proz. Daß diese Einbuße nicht der 28tägigen Einwirkung der Brutschranktemperatur von 37° C zur Last gelegt werden kann, beweist das Prüfungsergebnis des sterilen

Tabelle IX.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach Tagen							
					2	3	4	5	6	7	8	
1. Versuchsreihe.												
2. XII. 1921	Ms 1112	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1113	nach Zusatz	0,013	0,01	0	⊕	⊕	●	†			
	„ 1114	von Staphylokokken	0,01	0,01	⊕	⊕	●	†				
	Ms 1115	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1116	normal,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1117	28 Tage eingestellt bei 37° C	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
2. Versuchsreihe.												
	Ms 1118	Susserin 332,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1119	normal	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1120	(Standard-Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	Ms 1121	Kontrollmaus		0,01	tot nach 48 Stunden							
	„ 1122	„		0,01	„ „ 46 „							

Serums, welches die gleiche Zeit wie das mit Staphylokokken verunreinigte Serum unter diesem Temperatureinfluß gestanden hat.

B. Versuche mit frisch gewonnenem Serum.

Die im zweiten Teil meiner Arbeit zusammengefaßten Versuche mit nicht abgelagertem Serum sollen ergänzend zu denen des ersten Teils ergründen, ob die dem Tierkörper frisch entnommenen Antikörper gegenüber den thermischen und bakteriellen Einflüssen eine ebenso große Empfindlichkeit aufweisen, wie die Antikörper eines abgelagerten Serums. Das zu diesen Versuchen benötigte Serum wurde einem als hochwertig bekannten Rotlaufserumpferde des Serumwerkes der Farbwerke zu Höchst a. M., am 3. I. 1922 entnommen. Die eine Hälfte dieses Serums wurde mit Phenol (0,5 ccm Phenol auf 100 ccm Serum) versetzt, während die andere Hälfte ohne Zusatz blieb. Demgemäß scheiden sich die Versuche auch in solche mit karbolisiertem und in solche mit unversetztem Serum. Bei der Prüfung des Einflusses der bakteriellen Verunreinigung wurde in diesen Versuchen auch die Wirkung einer natürlichen Verunreinigung auf die Haltbarkeit der Anti-

Tabelle X.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injiz. Testkultur	Allgemeinbefinden nach Tagen							
					2	3	4	5	6	7	8	
1. Versuchsreihe.												
A. Prüfung des Einflusses der Brutschranktemperatur von 45° C.												
14. I. 1922	Ms 1123	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1124	ohne Phenol-	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1125	zusatz, 2 Tage bei 45° C im Brutschrank gestanden	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1126	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1127	ohne Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1128	4 Tg. bei 45° C	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1129	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1130	ohne Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1131	6 Tg. bei 45° C	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1132	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1133	mit Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1134	2 Tg. bei 45° C	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1135	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1136	mit Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1137	4 Tg. bei 45° C	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1138	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1139	mit Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1140	6 Tg. bei 45° C	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
B. Prüfung der Wirkung des ein-, zwei- und dreimaligen Inaktivierens bei 56° C.												
	Ms 1141	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1142	ohne Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1143	einmal inaktiviert bei 56° C 1 Stunde	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1144	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1145	ohne Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1146	zweimal inaktiviert je 1 Std.	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1147	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1148	ohne Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1149	dreimal inaktiviert	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1150	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1151	mit Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1152	einmal inaktiviert	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1153	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1154	mit Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1155	zweimal inaktiviert	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1156	Rotlaufser. 38,	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1157	mit Phenol,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1158	dreimal inaktiviert	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle X (Fortsetzung).

Datum des Ver- suchs	No. des Versuchs- tieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des inji- zierten Serums	Menge der injiz. Test- kultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe (Fortsetzung).												
C. Prüfung des Einflusses der künstlich erzeugten bakteriellen Verunreinigung.												
14. I. 1922	Ms 1159 „ 1160	Rotlaufser. 38, ohne Phenol, nach Zusatz von Penicil- lium album	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1161 „ 1162	Rotlaufser. 38, ohne Phenol, nach Zusatz von Wasser- kokken	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1163 „ 1164	Rotlaufser. 38, ohne Phenol, nach Zusatz v. Heubazillen	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1165 „ 1166 „ 1167	Rotlaufser. 38, ohne Phenol, nach Zusatz von Staphylo- kokken	0,02 0,013 0,01	0,01 0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1168 „ 1169	Rotlaufser. 38, ohne Phenol, nach Zusatz von Strepto- kokken	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1170 „ 1171	Rotlaufser. 38, mit Phenol, nach Zusatz von Penicil- lium album	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1172 „ 1173	Rotlaufser. 38, mit Phenol, nach Zusatz von Wasser- kokken	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1174 „ 1175	Rotlaufser. 38, mit Phenol, nach Zusatz v. Heubazillen	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1176 „ 1177 „ 1178	Rotlaufser. 38, mit Phenol, nach Zusatz von Staphylo- kokken	0,02 0,013 0,01	0,01 0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1179 „ 1180	Rotlaufser. 38, mit Phenol, nach Zusatz von Strepto- kokken	0,013 0,01	0,01 0,01	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle X (Fortsetzung).

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injiz. Testkultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
1. Versuchsreihe (Fortsetzung).												
D. Prüfung des Einflusses der natürlichen bakteriellen Verunreinigung.												
14. I. 1922	Ms 1181	Rotlaufser. 38,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1182	ohne Phenol, 1 Tag offen ge- standen	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	Ms 1183	Rotlaufser. 38,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1184	ohne Phenol, 2 Tage offen gestanden	0,01	0,01	0	0	0	+	+	•	†	
	Ms 1185	Rotlaufser. 38,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
	„ 1186	mit Phenol, 1 Tag offen ge- standen	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
Ms 1187	„ 1188	Rotlaufser. 38,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	
		mit Phenol, 2 Tage offen gestanden	0,01	0,01	0	0	+	+	•	†	0	
2. Versuchsreihe (Kontrollen).												
Ms 1189	Rotlaufser. 38,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0		
„ 1190	ohne Zusatz	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0		
„ 1191	von Phenol	0,008	0,01	0	0	+	•	†				
Ms 1192	Rotlaufser. 38,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0		
„ 1193	mit Zusatz	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0		
„ 1194	von Phenol	0,008	0,01	0	0	+	•	†				
Ms 1195	Susserin Kon- troll-No. 332,	0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0		
„ 1196	(Standard- Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0		
„ 1197		0,008	0,01	0	+	•	†					
Ms 1198	Kontrollmaus			0,01	tot nach 43 Std.							
„ 1199	„			0,01	„ „ 47 „							

körper mitberücksichtigt. Diese natürliche Verunreinigung wurde dadurch herbeigeführt, daß einige Serumproben 24 bzw 48 Stunden unter Luftzutritt unverschlossen stehen blieben Im übrigen darf bei der Vorbereitung der Versuchsproben auf die im ersten Teil der Arbeit gemachten Angaben verwiesen werden. Ehe jedoch die Versuche mit dem frisch gewonnenen Serum angestellt werden konnten, mußte dessen Titer mit Hilfe des Standardserums genau eingestellt werden. Diese Wertbestimmung wurde zwei Tage nach der Blutentnahme ausgeführt. Dabei stellte sich heraus, daß das frische

Serum 38 hinsichtlich seines Schutzwertes der letzten als Standardserum benutzten Kontrollnummer 332 vollkommen gleichgestellt werden konnte. Die nun angeschlossenen Versuche sind in ihrem Verlaufe durch vorstehende Tabellen genau illustriert worden (siehe Tabelle X).

Zur vergleichenden Beurteilung der Versuchsergebnisse ist es noch von besonderem Werte, die bei der gleichzeitig mit den Versuchen selbst vorgenommenen Keimzählung der bakteriell verunreinigten Proben gewonnenen Zahlen in einer besonderen Tabelle zusammengestellt zu sehen:

Tabelle XI.

Bezeichnung der Versuchsproben	A. Versuchsproben ohne Phenolzusatz	B. Versuchsproben mit Phenolzusatz
	Keimzahl in 1 ccm Serum	
Rotlaufserum 38 nach Zusatz von Penicillium album	6000	30 000
Rotlaufserum 38 nach Zusatz von Wasserkokken	14 000 dünnere Bodensatz	18 000 dünnere Bodensatz
Rotlaufserum 38 nach Zusatz von Heubazillen	600 000 000 Serum stark getrübt, dicker Bodensatz	62 000 000 Serum stark getrübt, dicker Bodensatz
Rotlaufserum 38 nach Zusatz von Staphylokokken	66 000 000 Serum stark getrübt	1900 Serum klar
Rotlaufserum 38 nach Zusatz von Streptokokken	290 000 Serum klar	200 Serum klar
Rotlaufserum 38 nach 24stündigem Offenstehen	240 000	1400
Rotlaufserum 38 nach 48stündigem Offenstehen	44 000 000 dicker Bodensatz	210 000 dünnere Bodensatz

Diese vorstehenden am 6. I. 1922 verunreinigten und alsdann 8 Tage im Brutschrank bei 37° C belassenen Versuchsproben lassen alle eine recht erhebliche Keimvermehrung feststellen. Aus dieser Tatsache kann man an Hand der Tabelle folgern, daß ein Phenolgehalt des Serums von 0,5 Proz. die Keimvermehrung zwar in gewissem Maße zu hemmen, jedoch nicht vollständig hintanzuhalten vermag.

Was nun die Prüfungsversuche mit frischem Serum (Tabelle X, A, B, C, D) selbst anbelangt, so läßt sich von ihnen sagen, daß sie die im ersten Teil der Arbeit erzielten Ergebnisse vollkommen bestätigt haben. Die schädigende

Wirkung einer konstanten Wärme von 45 bzw. 56° C ist auch bei dem frischen Serum 38 nach gleich langer Einwirkung ungefähr in derselben Stärke zu erkennen. Dabei ist hier zu erwähnen, daß die in Tabelle X unter A und B angestellten Versuche mit unversetztem Serum den gleichartigen Versuchen mit karbolisiertem Serum fast parallel verlaufen.

Die bei der Prüfung des bakteriell verunreinigten frischen Serums (Tabelle X, C und D) erzielten Resultate lassen auch hier wieder die Wertminderung des Serums nach Zusatz von Staphylokokken deutlich hervortreten. Ferner hat die hier zum ersten Male mitberücksichtigte Einwirkung von Streptokokken ebenfalls die Wirksamkeit des frischen Serums geschwächt. Gegenüber der Prüfung des mit *Penicillium album* verunreinigten, abgelagerten Serums (Tabelle VIII), bei der die mit 0,01 ccm Serum behandelte Versuchsmaus beim Prüfungsabschluß leicht krank war, zeigt jetzt die gleiche Prüfung an frischem Serum entsprechend der höheren Keimzahl auch eine höhere Abschwächung, denn die mit der Dosis von 0,01 ccm des unversetzten und des karbolisierten Serums behandelten Mäuse gingen bei der letzteren Prüfung noch vor Abschluß derselben ein. Dabei soll nicht unerwähnt bleiben, daß bei allen Versuchsmäusen, die vor dem Ende der Beobachtungszeit starben, als Todesursache die Rotlaufinfektion einwandfrei festgestellt werden konnte. Als letztes Ergebnis der Tabelle X, D sei hier noch die Tatsache vermerkt, daß die beiden durch 48-stündiges Offenstehenlassen natürlich verunreinigten, frischen Serumproben ebenfalls in ihrer Schutzwirkung zurückgegangen sind.

Eine weitere, letzte Frage, auf die Herr Dr. Joseph meine Aufmerksamkeit lenkte, und die bei der Prüfung der Haltbarkeit der bakteriziden Antikörper nicht unbeachtet bleiben darf, ist folgende: Bleibt der in den ersten Tagen nach der Serumgewinnung durch Prüfung ermittelte Titer des bakteriziden Serums auch in der Folgezeit der nächsten Wochen immer konstant erhalten? Die Klärung dieser Frage, die für die staatliche Prüfung der betreffenden Sera von der größten Bedeutung sein kann, suchte ich durch öfters wiederholte und über einige Wochen ausgedehnte Wertbestimmungen einer größeren Anzahl frisch dem Tierkörper entnommener Rotlauf-

sera zu erzielen. Unter den 12 Rotlaufpferden, deren frisches Serum ich ausprüfte, konnte ich ein Serumpferd (111) ausfindig machen, dessen Serum kurz nach der Entnahme in dauerndem Abfall begriffen war und so vollkommen von dem konstanten Verhalten der übrigen 11 Sera abwich. Die Rückgangsbewegung des Titers, die in kurzer Zeit eine verhältnismäßig sehr große war, soll aus folgender Tabelle ersichtlich sein.

Tabelle XII.
Prüfung des frischen Serums No. 111.

Datum des Versuchs	No. des Versuchstieres	Bezeichnung des geprüften Serums	Menge des injizierten Serums	Menge der injizierten Testkultur	Allgemeinbefinden nach							
					2	3	4	5	6	7	8	Tagen
Prüfung des Serums No. 111, 3 Tage nach der Blutentnahme.												
24. XI. 1921	Ms 1200	Serum 111	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1201		0,013	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1202		0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	•
	Ms 1203	Susserin Kontr.-No. 332 (Standard-Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1204	Kontrollmaus		0,01	tot nach 47 Stunden							
Prüfung des Serums No. 111, 11 Tage nach der Blutentnahme.												
2. XII. 1921	Ms 1205	Serum 111	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1206		0,016	0,01	0	0	0	0	0	0	•	†
	„ 1207		0,013	0,01	0	0	•	†				
	Ms 1208	Susserin Kontr.-No. 332 (Standard-Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1209	Kontrollmaus		0,01	tot nach 50 Stunden							
Prüfung des Serums No. 111, 21 Tage nach der Blutentnahme.												
	Ms 1210	Serum 111	0,025	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	„ 1211		0,02	0,01	0	0	0	0	•	†		
	„ 1212		0,016	0,01	0	0	•	†				
	Ms 1213	Susserin Kontr.-No. 332 (Standard-Serum)	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ms 1214	Kontrollmaus		0,01	tot nach 49 Stunden							

Das frische Serum 111 hat also innerhalb eines Zeitraumes von 3 Wochen einen Rückgang seines Titers von etwa 100 IE. auf 40 IE. erkennen lassen. Auf dieser Höhe blieb dann, wie Nachprüfungen bewiesen, die Wertigkeit des Serums konstant erhalten.

Durch Einsichtnahme in die Prüfungsbücher der sero-bakteriologischen Abteilung konnte ich feststellen, daß diese Abschwächungen der Wertigkeit nur in den ersten Wochen nach der Entnahme aus dem Immuntier zur Beobachtung gelangten.

Nach Ablauf von 4 Wochen treten nach den Erfahrungen von Herrn Dr. Joseph keine oder nur ganz geringe Antikörperverluste ein.

Zusammenfassung.

Aus diesen Ergebnissen kann ich wohl den Schluß ziehen, daß die Haltbarkeit des Rotlauf- und auch des Schweineseuchenserums unter den Verhältnissen der Praxis bei kühler Aufbewahrung eine durchaus zufriedenstellende ist. Die nach staatlicher Kontrolle in den Verkehr gebrachten Rotlauf- und Schweineseuche-Sera (meine Versuche erstrecken sich, wie aus dem Vorstehenden ersichtlich ist, nur auf Fabrikate der Höchster Farbwerke) sind, wenn sie nicht direkten Schädigungen ausgesetzt sind, im allgemeinen unbegrenzt haltbar und weisen nur ganz geringen Antikörperverlust auf.

Nach der preußischen viehseuchenpolizeilichen Anordnung (I A. III g 10052 M. f. L.) § 6, Abs. 3 ist Rotlaufserum, das über ein Jahr alt ist, zu beschlagnahmen und außer Verkehr zu setzen. Sollte diese Anordnung nur aus der Erwägung erlassen sein, daß das Rotlaufserum nach einjähriger Aufbewahrungszeit lediglich durch den Einfluß der Zeitdauer minderwertig wird, so ist diese Anordnung auf Grund meiner Ergebnisse als zu weitgehend anzusehen. Da meine Versuche dargetan haben, daß durch die zeitliche Einwirkung allein keine wesentliche Abschwächung des bakteriziden Serums eintritt, wird also durch Ausführung dieses Erlasses eine große Menge noch vollwertigen Rotlaufserums der Vernichtung preisgegeben. Im Interesse unserer stark bedrängten Volkswirtschaft würde meines Erachtens eine Abänderung dieser Maßnahme in Erwägung zu ziehen sein.

Auf Grund der am Schlusse der Arbeit (B 3) angeführten Versuche mit einem frisch entnommenen Rotlaufserum, das innerhalb kurzer Zeit nach seiner Gewinnung einen erheblichen Rückgang des Titers erkennen läßt, besteht die Forderung zu Recht, daß das zur staatlichen Prüfung einzugebende Serum

vor der Eingabe einer mindestens vierwöchigen Ablagerung zu unterwerfen ist. Nur durch eine derartige Maßnahme kann es vermieden werden, daß Sera in den Verkehr gelangen, deren Antikörpergehalt sich in starker Abschwächung befindet.

Aus meinen Versuchen hat sich ergeben, daß ein Phenolgehalt des Serums von 0,5 Proz. die Keimentwicklung nicht zu verhindern, sondern nur teilweise zu hemmen vermag. Ferner hat sich feststellen lassen, daß einige Bakteriengruppen (Staphylokokken, Streptokokken, Penicillium-Arten) durch ihre Anwesenheit und ihr Wachstum im Serum dessen Schutzkraft schädigend beeinflussen. Nach der staatlichen Prüfungsvorschrift dürfen die in der Veterinärpraxis verwendbaren Sera in 1 ccm bis zu 100 Keime enthalten. In Anbetracht der beiden nachgewiesenen Tatsachen, daß die Keimentwicklung durch 0,5 Proz. Phenol nicht verhindert wird und gewisse Bakteriengruppen eine Verminderung des Antikörpergehalts hervorrufen, erscheint es mir notwendig, um eine nachträgliche Abschwächung des Serums auszuschließen, auch von den für die Veterinärpraxis verwendeten Seris vollständige Keimfreiheit zu fordern. Daß sich eine vollkommene Keimfreiheit ermöglichen läßt, beweisen die von mir untersuchten selbst jahrelang ohne jegliche Vorsichtsmaßregel aufbewahrten Sera der Höchster Farbwerke.

Literatur.

- 1) Marx, E., Mitteilungen aus der prüfungstechnischen Praxis. Festschr. z. 60. Geburtstag von R. Koch, 1903.
- 2) Otto, R., Arch. f. Schiffs- und Tropen-Hyg., Bd. 10, 1906.
- 3) Hida und Mori, Saikingakakuzashi, 1911, No. 184.
- 4) Busson und Löwenstein, Ueber aktive Schutzimpfung bei Diphtherie. Zeitschr. f. d. gesamte experimentelle Medizin, Bd. 11, Heft 5/6.
- 5) Boehncke, K. E., Ueber die Haltbarkeit des Diphtherie- u. Tetanusserums. Arb. aus d. Institut f. experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., 1913, Heft 5.
- 6) Otto, R., und Hetsch, H., Die staatliche Prüfung der Heilsera und des Tuberkulins. Arb. aus d. Institut f. experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., Heft 13, Jena, Gustav Fischer, 1921.
- 7) Marx, E., Die Wertbestimmung des Schweinerotlaufserums. Deutsche tierärztl. Wochenschr., 1901, No. 6.
- 8) Ito, Tetsuda, Ueber die Konzentration der Serumqualitäten durch Gefrieren und über den Einfluß hoher Kältegrade (flüssige Luft) auf die Antikörper. Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 15, No. 2/3.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Allgem. Militärspital und dem Allgem. Staatskrankenhaus zu Belgrad, S. H. S.]

Ueber das Komplement bei Malaria.

Von Dr. **Alex. Radosavljević.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Mai 1922.)

Gelegentlich zahlreicher im Verlauf von Malaria parallel mit der Wassermann-Reaktion angestellten Hecht-Reaktionen ergaben mir letztere auffallend häufig positive Resultate, deren Verwertbarkeit aber sofort entfiel, als die nötige Kontrolle (in der Rubinsteinschen Modifikation der Hecht-Reaktion) herangezogen wurde: der „hämolytische Index“ der Malarikereren war fast durchweg herabgesetzt im Vergleich zum normalen Durchschnittswert. Dies gab mir Veranlassung, an stattgefundene Komplementverminderung zu denken.

Eine damals von **Abrami** und **Senévet**¹⁾ versuchte Erklärung der Pathogenese des malarischen Anfalls drängte ebenfalls zur Erforschung, ob bei einer Krankheitserscheinung, die als anaphylaktischer Natur hingestellt wurde, nicht auch Komplementverbrauch zu beobachten sei, entsprechend der Ansicht **Friedbergers**, daß Komplementverbrauch unbedingt im anaphylaktischen Shock stattfindet²⁾.

Ich untersuchte nun im Sommer der Jahre 1919—1921 bei 40 Malarikern insgesamt 330mal das Blutserum auf seinen Komplementgehalt nach der Methode von **Mandelbaum**³⁾, die ich bei einer Anzahl von Prüfungen nur insofern änderte,

1) Pathogénèse de l'accès palustre. La crise hémoclasique. Causes et conséquences (Bullet. et Mém. Soc. Medic. Hôpit. Paris, 1919, No. 19).

2) Nach Abschluß dieser Arbeit ersehe ich aus **Marc Rubinsteins** *Traité pratique de Sérologie*, Paris 1921, p. 235, daß **Cathoire** und **St. Vincent** eine Abnahme des Komplements im malarischen Anfall gefunden hatten. Diese Publikationen konnte ich leider auch nachträglich nicht zu Gesicht bekommen.

3) Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 29.

daß ich gedrängtere Serumdosen in die Reaktion einführte und zugleich auch höhere Serummengen verwendete (0,5, 0,4, 0,3, 0,25, 0,20, 0,15, 0,10, 0,05, 0,0075 ccm). Das Blut wurde zu den verschiedensten Zeitpunkten in und außerhalb der Anfälle entnommen, das Serum sofort nach der Venäpunktion und eingetretenen Gerinnung verarbeitet. Nach stundenlangem Verweilen des Gesamtblutes im Eisschrank konnte wiederholt eine schnellere Abnahme der komplettierenden Kraft solcher Seren nachgewiesen werden als bei Normalseren.

Die Resultate sind in Tabelle II verzeichnet. Zeichen-erklärung: Die den Komplementtiter ausdrückende Ziffer bedeutet die geringste Serummenge der angewendeten Mengenserie — in ccm unverdünnten Serums ausgedrückt — die noch hämolysierte; demnach hat man zu verstehen, daß die nächst höhere Serummenge eine womöglich stärkere, die nächst niedrigere Serummenge eine schwächere Hämolyse bewirkte, als in der dargestellten Rubrik verzeichnet ist. Der Grad der Hämolyse wurde ausgedrückt in der Abstufung: k = komplett, < k = fast komplett, p = partiell, pp = deutliche Spuren, ppp = kaum angedeutete Hämolyse, ø = keine Hämolyse.

Um Vergleichswerte zu erhalten, wurde gleichzeitig bei einer Anzahl Gesunden sowie bei verschiedenen Erkrankungen anderer Art nach derselben Methode der Komplementgehalt bestimmt. Dieser Vergleich war um so mehr erwünscht, als man der Jahreszeit einen gewissen Einfluß auf den Komplementgehalt zuschrieb und Malariaerkrankungen in unseren Breiten ja hauptsächlich während der warmen Jahreszeit zur Beobachtung gelangen. Es zeigte sich bei diesen Kontrollfällen, wie aus Tabelle I ersichtlich, ein Verhalten, das durchaus dem entspricht, wie es von verschiedenen Seiten mitgeteilt wurde: der Komplementgehalt 10 Gesunder zeigte annähernd normale Durchschnittswerte, mit Ausnahme eines einzigen, der etwas niedriger ist. Bei der Mehrzahl verschiedener, meist fieberloser Erkrankungen sehen wir ebenso fast überall Normalwerte (bei No. 14 und 22 sogar erhöhte Werte), nur bei 3 Fällen (1 tuberkulöse Darmstenose, 1 Epilepsie außerhalb der Anfälle, 1 vorgeschrittene subfebrile Lungentuberkulose) verminderten Komplementgehalt. Bei 4 Wassermann-positiven

Tabelle I.

No. 1	Gesund	0,10	< k
2	„ dreimal, an verschiedenen Tagen	0,06	< k
3	„	0,06	< k
4	„ „ „ „ „	0,06	< k
5	„	0,06	= k
6	„	0,06	= p
7	„	0,06	= k
8	„	0,06	< k
9	„	0,06	= p
10	„	0,06	= p
11	Ca. pulmon. sin.	0,06	< k
12	Icterus catarrhalis	0,06	< k
13	Reconvalesc. post laparotomiam	0,06	= p
14	Epilepsia	0,03	= k
15	Lues II, Wa. +++ +	0,06	< k
16	Ca. ventriculi	0,06	= p
17	Epilepsia	0,125	= p
18	Icterus catarrhalis	0,06	= k
19	Atrophia n. optici (Wa. θ)	0,06	= k
20	Lues cerebri (Wa. +++ +, Sachs-Georgi +++)	0,25	= p
21	Saturnismus chronic.	0,06	< k
22	Arteriosclerosis, Nephrosclerosis	0,03	< k
23	Stenosis oesophagi cicatric. (dreimal)	0,06	< k
	Stenosis oesophagi nach 4 Tagen Chininisierung (Nocht)	0,06	< k
24	Nephritis acuta mercurialis	0,06	< k
25	Angina ulcerosa Vincent	0,06	< k
26	Stenosis intestin. tbc.	0,125	< k
27	Stenosis oesophagi cicatric.	0,06	< k
28	Insuffic. Valv. aortae, Hemiplegia, Wa. θ	0,05	< k
29	Icterus catarrhalis	0,05	< k
30	Neurasthenia, zweimal	0,05	< k
31	Lues III, ignota, Wa. +++ +, Sachs-Georgi +++ +, dreimal	0,50	= θ
32	Enteritis acuta afebr.	0,05	< k
33	Lues cerebri, Liquor-Wa. +++ +	0,50	= θ
34	Lues cerebri, Wa. θ	0,50	= θ
35	Lues III, Wa. +++ +	0,06	< k
36	Tbc. pulm. cavernosa, Febr. hectica (z. Z. der Intermission)	0,06	= k
37	Tbc. pulm. III, subfebril	0,25	= k
38	Pyelitis (Febr. intermittens, auf der Fieberhöhe)	0,10	< k
39	Ty. abdomin. (18. Tag, Febr. remittens)	0,06	= p
	Ty. abdomin. (22. Tag, amphibol. Stad., z. Z. d. Intermission)	0,06	< k
40	Ty. abdomin. (Continua)	0,10	= k
41	Ty. abdomin. (Continua)	0,06	< k
42	Ty. abdomin., Febr. remittens	0,06	< k
	Ty. abdomin., amphibol. Stadium, auf der Fieberhöhe	0,06	= k
43	Paraty. B (+ Malaria)		
	dgl. 8. Tag (Continua, Plasmodien θ)	0,03	= k
	„ 3. Tag der Apyrexie	0,125	= k
	„ 14. Tag der Apyrexie	0,125	= k
	„ im 2. malar. Anfall (Schizont. Vivax + Gamet)	0,25	< k
	„ im Intervalltag	0,125	= k
	„ während der spontanen (ohne Chinin) Apyrexie		
	(Schizont, Vivax +)	0,25	< k
	„ am 10. Tage der Apyrexie (durch Chinin)	0,125	= k
44	Cirrhosis hepatis hypertroph. Hanot	0,03	= k
45	Icterus infectiosus (Bac. paraty. B)	0,03	= k
46	Cirrhosis hepatis hypertroph. Hanot	0,03	< k
47	Icterus catarrhalis	0,03	= k
48	Icterus catarrhalis	0,03	= k
49	Carcinoma hepatis, Icterus	0,03	= k

Luetikern des Tertiärstadiums war das Komplement stark vermindert 3mal, bei einem normal; bei einem Wassermann-negativen Tertiärstadium stark herabgesetzt. Ein Fall von Pyelitis mit Schüttelfrösten und intermittierenden Temperaturen zeigte auf der Fieberhöhe einen verminderten Komplementgehalt. Bei 5 typhösen Erkrankungen fand ich 1mal erhöhten, 1mal verminderten, 3mal normalen Komplementwert. Besonders interessant mit Rücksicht auf die weiteren Ausführungen ist Fall No. 33. Patient hatte früher an Malaria gelitten, war aber schon über ein Jahr anfallsfrei, als er an Paratyphus B erkrankte. Während der Continua hatte sein Serum bei wiederholten Untersuchungen einen etwas erhöhten Komplementgehalt ($0,03 = k$; im Blute Bac. paraty B, keine Plasmodien); in der folgenden 14-tägigen Apyresie sank das Komplement auf $0,125 = k$, und noch mehr, als 2 und 4 Tage später malarische Anfälle (im peripheren Blute Schizont. Vivax) sich einstellten.

Wenn auch der angewandten Methode vielleicht der Einwand gemacht werden könnte, sie sei nicht imstande, das Komplement quantitativ zu bestimmen, so behält sie immerhin ihren relativen Wert gerade bei vergleichenden Untersuchungen.

Ueberblicken wir in Tabelle II die Ziffern, die den Komplementstand in den verschiedensten Phasen und Zeitpunkten einer malarischen Infektion darstellen, so finden wir fast durchgehend ein bedeutsames Zurückbleiben der Werte hinter dem Durchschnittsmaß bei Gesunden und um so mehr hinter den erhöhten Werten, die bei verschiedenen anderen fieberhaften Erkrankungen gefunden wurden¹⁾. Der Komplementtiter zeigt zwar je nach dem Zeitpunkt (in bezug auf den malarischen Anfall und dessen Phasen) seiner Bestimmung Schwankungen, die oft nicht unerheblich sind, immerhin liegt aber im allgemeinen die Komplementkurve unter dem Niveau des normalen Komplementspiegels, um sich zu gewissen Momenten bestimmter Krankheitsphasen (meist innerhalb eines Anfalls) der Norm zu nähern.

1) K. Cori und G. Radnitz, Ueber den Gehalt des menschlichen Blutserums an Komplement und Normalambozeptor für Hammelblutkörperchen. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, Heft 5.

Daß es sich bei diesen Ergebnissen wirklich um Komplementschwund handelt, wurde in vielen Einzelfällen dadurch bewiesen, daß in den Röhrchen, die eine Hemmung der Hämolyse aufwiesen, nach Zusatz von 0,3 ccm 10fach verdünnten frischen Meerschweinchensserums Hämolyse auftrat. Sofort sei aber bemerkt, daß sich hierbei in manchen Fällen ein abweichendes Verhalten herausstellte: so z. B. bei einem Serum, das in keiner Dosis (0,5 bis 0,025 ccm abfallend) hämolysierte, zeigte sich nach Zusatz des Meerschweinchenkomplements Hämolyse in einer Gradation, die umgekehrt proportional war dem Gehalt des betreffenden Röhrchens an Malarikerserum: je mehr Krankenserum in einem Röhrchen, desto schwächer war die nachträgliche Hämolyse. Während also in den meisten Fällen ein Komplementmangel als Ursache der Hämolysehemmung anzunehmen war, mußte in einigen ein antikomplementäres (antireaktives) Verhalten des Malarikerserums die Schuld tragen an dem Ausbleiben der Hämolyse. Solches Verhalten wurde besonders bei trüben Seren beobachtet. In der großen Mehrzahl der Fälle aber ist das Ausbleiben der Hämolyse mit einer normaliter lösenden Serummenge einem Komplementschwund zuzuschreiben, besonders dann, wenn in kurzen, meist halbstündigen Intervallen nicht unbedeutliche Differenzen gefunden wurden.

Die ausgesprochensten Schwankungen finden wir am Tag des malarischen Anfalls. Wenn man genügend häufig Blut entnimmt (wir taten es vor dem zu erwartenden Anfall und während desselben meist halbstündlich bis stündlich, so daß im Laufe eines Anfalls bis zu 20 Blutentnahmen nötig waren), so findet man innerhalb weniger Stunden jähre Stürze der Komplementwerte, so daß man am Tage eines Anfalls zu gewissen Zeitpunkten auf Komplementgehalte stößt, die weit unter dem normalen Komplementwert liegen. Ebenso rasch aber tritt mitunter wieder eine Erholung ein, dem jähen Sturz folgt in einer bis mehreren Stunden eine Regeneration des Komplements. Daraus resultiert eine steilzackige Komplementkurve, deren Vergleich mit der gleichzeitig aufgenommenen Temperaturkurve zeigt, daß erstere gegen die letztere mehr oder weniger verschoben ist: die Komplementkurve ist der Temperaturkurve antepioniert, d. h. das Sinken der Komplement-

Tabelle II.

Protokoll-No.	Plasmodien im peripheren Blut	Komplement vor 1. Anfall	Wieviel Anfälle gingen der 1. Komplementbestimmung voraus?	Komplement im nächsten Intervalltag	Komplement am nächsten Anfallstag				Apyrexie			
					Vor Beginn der Temperatursteigerung	Im Temperaturanstieg	Akme	Temperaturabfall	Nächster anfallsfreier Tag	Spontan oder durch Chinin, Neosalvarsan	Komplement bestimmt am wievielen Tage der Apyrexie	Komplementgehalt
1	Vivax	.	12	spontan	5. 10. 20.	0,125 = k 0,25 = 0 0,25 = 0	
2	Vivax	.	10	.	0,50 = pp	.	.	.	Chinin	3.	0,50 = 0	
3	Vivax	.	6	0,10 < k	0,50 = pp	.	0,50 = 0	0,20 = k	.	.	.	
4	Vivax	.	5	.	0,25 = p	.	.	0,25 = k	.	.	.	
5	Falcipar	.	7	.	.	0,25 = 0	
6	Vivax	.	15	Chinin + 2x Neos. 0,45	15.	0,10 = k	
7	Vivax	.	13	Chinin Chin. + Neos.	14. 24.	0,25 < k 0,10 < k	
8	Falcipar	.	5	spontan	3.	0,25 < k	
9	Falcipar	.	?	spontan Chinin Chin. + Neos.	8. 13. 19.	0,50 = 0 0,50 = ppp 0,50 = 0	
10	Vivax	.	7	Chin. + Neos.	7.	0,10 < k	
11	Vivax	.	4	spontan Chinin "	4. 8. 16.	0,25 < k 0,10 < k 0,05 < k	

12 Falcipar	4	spontan	4.	0,25 = ppp
13 Falcipar	8	spontan Chin. + Neos.	12.	0,25 = ppp
14 Falcipar	10	spontan Chin. + Neos. dgl.	5.	0,25 = p
15 Vivax	3	spontan	13.	0,15 < k
16 Vivax	3	.	.	1	0,5 < k	Chinin	1.	0,20 = k
17 Vivax	10	Chinin	5.	0,15 = k
18 Falcipar	10	.	.	2	0,5 = ppp	.	.	0,5 = pp	Chinin	11.	0,15 = k
19 Vivax	7	Chin. + Neos.	4.	0,15 < k
20 Vivax	3	spontan Chin. + Neos.	5.	0,15 < k
21 Falcipar	4	0,06 < k	Chinin	4.	0,50 = \emptyset
22 Vivax	5	0,5 = \emptyset	Chin. + Neos.	12.	0,10 < k
23 Vivax	4	0,5 = \emptyset	spontan Chin. + Neos.	2.	0,5 = ppp
24 Falcipar	8	Chinin	12.	0,5 = p
25 Falcipar	3	Chin. + Neos.	13.	0,25 < k
26 Falcipar	3	0,03 < k	Chin. + Neos.	10.	0,10 < k
27 Falcipar	4	Chinin	.	.
28 Falcipar	7	Chinin	3.	0,25 = pp
	8	Chinin	6.	0,5 = p
	9	Chin. + Neos.	16.	0,10 = k
		\emptyset	12.	0,125 < k
		Chinin	8.	0,06 = p
		Chinin	8.	0,5 = \emptyset
		Chin. + Neos.	18.	0,5 = k
		\emptyset	26.	0,25 < k
		spontan Chinin Fe, As	.	.
		spontan	2.	0,25 = ppp
		Chinin	12.	0,25 = ppp
		Fe, As	24.	0,10 < k

werte findet vor Beginn des Temperaturanstiegs statt; es kann aber auch der niedrigste Komplementwert auf der Höhe des Anfalls angetroffen werden. Mit dem Abfall der Temperatur, mitunter auch schon in der Akme oder im Temperaturanstieg, tritt dann wieder eine, meist nur teilweise, Regeneration des Komplements ein, die dann am nächsten (Intervall-)Tage noch deutlicher wird. Meist, nicht immer, ist der Komplementstand am Tage nach einem Anfall tiefer als vor dem Anfallstag, was von der Intensität der Regeneration abhängt. Aus einem Anfall geht also das Komplement meist vermindert hervor und zwar als Resultat zweier im Anfall sich widerstrebenden Tendenzen, einer hemmenden (bindenden) und einer fördernden (regenerierenden), von denen die erstere gewöhnlich die Oberhand behält.

Am deutlichsten illustriert das Gesagte das Beispiel einer experimentellen Malaria-Inokulation (Tabelle II, No. 40): bei einer, an unbedeutender Oesophagusstriktur infolge Laugenverätzung leidenden Patientin wurde zunächst in wöchentlichen Intervallen das Komplement bestimmt und 3mal als normal ($0,06 < k$) befunden. Alsdann wurde sie am am 13. IX. subkutan mit 2,5 ccm Blut inokuliert, das von einem Malariker im Anfall (Schizonten und Gameten Vivax) entnommen war. Schon in der Inkubationszeit (am 15., 16., 17. IX.) zeigte sich das Komplement etwas vermindert. Am 20. IX. erfolgte der erste und am 22. IX. der zweite Anfall (im Blute Schizonten Vivax). Am fieberfreien Intervalltag vor dem zweiten Anfall wurde gefunden $0,10 = k$, am Anfallstag selbst finden wir 2 Stunden vor Beginn des Temperaturanstiegs das Komplement enorm erniedrigt ($0,5 = \theta$), worauf mit dem Temperaturanstieg, und noch mehr in der Akme, wieder eine teilweise Regeneration statthat¹⁾, die auch am nächsten Intervalltag anhält. So sehen wir also, daß bei einem Individuum, dessen Blutserum vor der malarischen Infektion normale Komplementwerte aufwies, dieser Wert aus dem zweiten Anfall vermindert hervorgeht als Resultat einer zwei Stunden

1) In der Tabelle sind nur die extremsten Werte notiert, zwischen denen eine ganze Skala liegt, die durch halbstündige Bestimmungen ermittelt wurde.

vor Beginn des Temperaturanstiegs stattgefundenen enormen Depression, die durch die nachträgliche Regeneration nicht ausgeglichen werden konnte. Verfolgen wir diesen Fall weiter, so sehen wir, daß nach einem dritten Anfall das Komplement noch weiter vermindert gefunden wird, und daß es zu dieser Verminderung auf der Höhe des vorangegangenen Anfalls gekommen war.

Aehnlich in Fall No. 32 der Tabelle II. Eine progressive Paralyse, deren Blutserum (wie überhaupt bei den meisten Luetikern) schon vor der therapeutischen Malariainokulation einen subnormalen Komplementwert aufweist, zeigt nach 5 Anfällen, die sich infolge dieser absichtlichen Vivax-Infektion abspielen, eine Verminderung des Komplements auf $0,25 = p$, nach 8 Anfällen auf $0,5 = \theta$.

Dieses Verhalten finden wir bei den meisten übrigen Fällen, so daß man im allgemeinen sagen kann: durch eine Reihe von malarischen Anfällen wird die komplettierende Kraft des Malarikerserums progressiv geschwächt; besonders akzentuiert ist diese Schwächung vor Beginn des Temperaturanstiegs resp. im aufsteigenden Schenkel der Fieberzacke.

Daß sich von diesen Regelmäßigkeiten ab und zu Abweichungen antreffen lassen, darf nicht wundernehmen, wenn man bedenkt, daß wir ja immer nur die Differenz zwischen geschwundenem und regeneriertem Komplement messen und daß jedem Schwund eine Regeneration auf dem Fuß folgt und zu einem gegebenen Zeitpunkte die letztere den ersteren überkompensieren kann. So sehen wir in Fall No. 31 das Komplement, das durch zehn vorausgegangene Anfälle auf $0,20 < k$ gesunken war, vier Stunden vor Beginn des Anfalls wieder sich zu erholen beginnen ($0,10 = k$), anderthalb Stunden später abermals auf $0,20 < k$ sinken, um sich dann im Temperaturanstieg bis auf $0,05 < k$ zu regenerieren, um schließlich wieder abzufallen. Trotzdem also in diesem Falle das Komplement nach elf Anfällen höher gefunden wurde als vor dem elften Anfall, so ergibt sich doch aus einem zufällig erwischtem Momente ($2\frac{1}{2}$ Stunden vor Beginn des Anfalls), daß eine präparoxysmale Depression auch hier stattgefunden hatte, die allerdings durch ausgiebige Regeneration

wieder aufgehoben und sogar überkompensiert wurde. Es hängt also oft vom glücklichen Zufall ab, der sich bei möglichst häufiger Blutentnahme um so öfter einstellen wird, den richtigen Zeitpunkt zu treffen, in welchem sich diese Komplementverminderung erkennen läßt.

Weiter ersieht man aus dem angeführten Beispiel No. 32, wie sich ein durch mehrere Anfälle verringerter Komplementgehalt wieder erhöhen kann nach Chininisierung resp. Neosalvarsan. Es kann diese Regeneration so intensiv sein, daß sogar die Ausgangswerte (vor der malarischen Infektion) übertroffen werden. (Nebenbei sei hier darauf hingewiesen, daß aus diesem Verhalten des Komplements bei einer mit Malariafieber behandelten progressiven Paralyse hervorgeht, wie tiefe Veränderungen im Blutserum bei dieser Behandlungsart vor sich gehen; ob sie in irgendeiner Beziehung stehen zum therapeutischen Erfolg, bleibt dahingestellt; in unserem Falle war eine vorübergehende deutliche Besserung nach dieser Kur unverkennbar.) Auch zahlreiche andere Fälle beweisen diese Regenerierung des Komplements bei Malaria durch Chinin; Neosalvarsan (0,45, 0,60) scheint eine besonders günstige Wirkung in dieser Hinsicht auszuüben. Daß Chinin und Neosalvarsan in den üblichen therapeutischen Dosen an und für sich den Komplementwert nicht zu erhöhen imstande sind (für Neosalvarsan wird sogar, wie in weiterer Ausführung notiert, ein umgekehrtes Verhalten angegeben), geht aus Versuchen hervor, die wir bei Gesunden oder an andersartig Kranken anstellten, wo sich vor, während und nach der Chininisierung resp. Neosalvarsaninjektion der Komplementgehalt als gleichbleibend erwies. Zu bemerken ist, daß sich diese Regenerierung erst nach einer Reihe von Tagen nach der Entfieberung einstellt, oft erst nach einer vorausgehenden weiteren Abnahme der Komplementwerte.

Außer dieser an Anfälle gebundenen Komplementabnahme haben wir aber in mehreren Fällen unternormale Werte konstatieren können auch wo es zu Anfällen noch nicht oder nicht mehr kam: so in Fall No. 40 schon im Inkubationsstadium (im peripheren Blute keine Plasmodien), in Fall No. 8 am 8., und bei No. 19 am 2. Tage der spontanen Apyrexie (trotzdem im Blute ziemlich zahlreiche Schizonten

nachweisbar waren), ebenso in anderen Fällen sei es spontaner sei es durch Chinin (nach Nochtschem Schema) erfolgter Apyrexie. Die bei latenter Malaria bekanntlich bestehende Verschiebung des leukozytären Blutbildes, sowie die von Abrami und Senevet beobachteten hämoklasischen Krisen, die von keinen klinischen Erscheinungen, besonders nicht von „Anfällen“, begleitet sein müssen, drängen zur Ansicht, daß in der Latenz, sowie eine Zeitlang bei Chininisierung, ja auch in der Inkubationsperiode, die im Körper irgendwo steckenden Parasiten, gleichviel ob sie im peripheren Blute nachweisbar sind oder nicht, keineswegs passiv sich verhalten, sondern durch ihre, klinisch sich zwar nicht äußernde, Lebenstätigkeit Umwälzungen im Organismus, speziell im Blute, schaffen, die sich der klinischen Erkennbarkeit entziehen und erst durch Laboratoriumsuntersuchungen sich erkennen lassen, zu denen neben den bisher gebräuchlichen auch noch die Komplementbestimmung zu zählen sein wird.

Ich glaube, daß letztere in diagnostisch unklaren, sowohl fiebernden als auch apyretischen, auf Malaria verdächtigen Fällen, nicht ohne Wert sein dürfte. Da auch bei klinisch latenter Malaria (mit oder ohne Plasmodienbefund im peripheren Blute) abnorm niedrige Komplementwerte gefunden werden, und nach klinischer Heilung der Malaria mittels Chinin die Wiederherstellung normaler Komplementwerte oft erst nach längerer Zeit eintritt, ist anzunehmen, daß, solange normale Werte nicht erreicht werden, im Körper noch irgendwo Plasmodien, besonders Chinin-empfindliche Formen, vorhanden sind, die mittels ihrer spontan oder durch Chininisierung entstandener Zerfallsprodukte das Kolloidgleichgewicht (im Sinne weiterer Ausführungen) des Blutplasmas stören. Für die tatsächliche Heilung der Malaria wäre demnach, neben anderen Kriterien, auch der Nachweis eines normalen Komplementgehalts des Krankenserums erforderlich, und eine spezifische Therapie entsprechend lange fortzusetzen. Der umgekehrte Schluß jedoch ist nicht erlaubt; normale Komplementwerte allein beweisen nicht stattgefundene Heilung; Gameten werden durch Chinin wahrscheinlich nicht beeinflußt und können dabei im Blute neben normalen Komplementwerten sich finden. —

Gleichzeitig mit der Komplementbestimmung wurde bei den meisten Anfällen auch eine Zählung der weißen Blutkörperchen nebst Differentialzählung vorgenommen. Im großen ganzen ergab sich das Resultat, wie es *Abrami* und *Senevet* gefunden haben: dem klinischen Anfall (Beginn des Temperaturanstiegs, Schüttelfrost) geht um eine bis mehrere Stunden eine beträchtliche Leukopenie mit Umkehrung der Leukozytenformel voraus.

Somit hätten wir also den übrigen, bekannten Veränderungen, die im Blute und Gefäßsystem des Malarikers präparoxysmal stattfinden, noch eine gleichzeitige nicht unwichtige Erscheinung hinzuzufügen: den Komplementschwund.

Es ist nun sehr verlockend, alle letztgenannten Tatsachen auf ein und dieselbe Ursache zurückführen zu wollen, als Ausdruck eines präparoxysmal sich abspielenden Prozesses anzusehen. Am naheliegendsten ist es, letzteren in der dem Anfall vorausgehenden Teilung der Plasmodien zu suchen, wodurch in das Blutplasma blutfremde Kolloide (Zerfallsprodukte der Parasiten und der Erythrozyten) geschleudert werden.

Den Mechanismus, wie die präparoxysmale Schizogonie (und sie erfolgt nicht im Beginne des Anfalls, sondern eine bis mehrere Stunden früher, wie *Abrami* und *Senevet* zeigen konnten) zu dem Syndrom des Leukozytensturzes, der Blutdrucksenkung, der Komplementabnahme usw. führt, könnte man sich vom Standpunkte einer immunbiologischen Auffassung als anaphylaktische Erscheinung erklären, da wir hierbei einerseits die zum Zustandekommen derselben nötigen Postulate haben: 1) Erstinjektion (Sensibilisierung) = Inokulation durch Mückenstich oder artifiziell, 2) Inkubationszeit, 3) Reinjektion = Einschwemmung des Antigens in die Blutbahn gelegentlich der Sporulation, — andererseits als wichtige, sowohl den anaphylaktischen Shock als auch den malarischen Anfall charakterisierende Begleiterscheinungen resp. Vorläufer: Leukopenie mit Umkehrung der Leukozytenformel und Komplementverarmung, welche letztere nach *Friedberger*¹⁾ „in

1) *E. Friedberger*, Die Anaphylaxie (*Kraus und Brugsch*, Spezielle Pathologie, Bd. 2, S. 886).

allen Fällen, sowohl bei aktiver als auch bei passiver Anaphylaxie in unmittelbarem Anschluß an die Reinjektion“ erfolgt. — Noch weiter kann man diese Analogie mit der Anaphylaxie ausspinnen: Wie im Experiment ein anaphylaktischer Shock ausbleibt, wenn vollständiger Komplementmangel besteht oder kein passendes Komplement vorhanden ist, so sahen auch wir wiederholt (z. B. Fall No. 19) malarische Anfälle ganz ausbleiben trotz Anwesenheit zahlreicher Schizonten im peripheren Blut bei Kranken, deren Blutserum sehr komplementarm war ($0,5 = \theta$). Vielleicht könnte man manches spontane Aufhören der Anfälle trotz Anwesenheit zahlreicher Schizonten im Blut als Folge der durch vorausgegangene Anfälle und infolge mangelhafter Regeneration verursachten Komplementschwundes erklären. Interessant wäre es zu verfolgen, ob in solch einem geeigneten Falle eine experimentelle Malaria-inokulation nicht nur haftet, sondern auch zu Erkrankung führt.

Was das Verhalten des Komplements beim malarischen Anfall von dem beim experimentellen anaphylaktischen Shock unterscheidet, ist seine sofortige vollständige Regeneration im letzteren Falle, während in ersterem diese Regeneration oft nur unvollkommen ist, so daß es durch wiederholte Anfälle, wie schon hervorgehoben wurde, zu progressiver Komplementverarmung kommt. Hier ist natürlich an die die malarische Erkrankung stets begleitende Affektion des hämatopoëtischen Systems, der Milz, Leber, als Ursache dieses Verhaltens zu denken; hat doch schon Ehrlich auf Komplementverarmung bei tieferen Läsionen der Leber hingewiesen und könnte man bei Malaria das Ergriffensein der Leber (Vergrößerung des Organs, pathologisch gesteigerte Urobilinogenurie, malarische Cirrhose) dafür verantwortlich machen. Das Ausbleiben des antianaphylaktischen Zustandes nach einem malarischen Anfall, das man als Argument gegen diese Auffassung anführen könnte, wäre nicht ohne weiteres stichhaltig, wenn man bedenkt, wie nach Friedberger die Erscheinungen beim experimentellen Shock sehr von quantitativen Verhältnissen und zeitlichen Umständen abhängen.

Entgegen dieser rein immunbiologischen Auffassung des malarischen Anfalls als Spezialfall einer Antigen-Antikörper-

wirkung ließe sich aus den gegebenen Bausteinen auch eine physikalisch-chemische Deutung dieses Geschehens konstruieren: durch die Sporulation gelangen blutfremde Kolloide (Merozoiten oder Zerfallsprodukte der Plasmodien und der roten Blutkörperchen) ins Blutplasma, wodurch dessen Kolloidgleichgewicht gestört wird („Kolloidklasie“), was zu einer „hämoklasischen Krise“ im Sinne Widals führen muß, die sich am sichersten und einfachsten durch Leukozytensturz und Umkehrung der Leukozytenformel erkennen läßt. Nun wurde zwar, meines Wissens, bei dieser Kolloidoklasie keine Komplementverarmung notiert¹⁾, aber man weiß schon lange, daß auch rein physikalische Einwirkungen auf das Blutserum zu Komplementverminderung desselben führen kann und wäre somit die die hämoklasische Krise bei Malaria erklärende Kolloidklasie als zureichender Grund für den Komplementschwund aufzufassen; sowohl die hämoklasische Krise als auch die Komplementverarmung wären demnach koordinierte Erscheinungen, der Ausdruck einer auf physikalisch-chemischen Aenderungen beruhenden Störung des normalen Zustandes des Serums, an welchen seine normalen Funktionen gebunden sind, zu denen auch die komplettierende gehört. In dieser Hinsicht hat ein von mir beobachteter Fall Interesse: Ein in der zweiten Krankheitswoche stehender Typhuskranker (im Blute Bac. typhi) bekam 2 ccm einer 2-proz. Kollargollösung intravenös; 20 Minuten nachher Beginn der hämoklasischen Krise und zugleich mit ihr Komplementverarmung. Vor der Injektion hämolysierte 0,10 komplett, 0,05 partiell; 30 Minuten nach der Injektion hämolysiert 0,20 nur partiell — ein Beweis, daß bei Zufällen hämoklasischer Art, die mit Antigen-Antikörperwirkung nichts zu tun haben, Komplementverbrauch vorkommen kann.

Natürlich stehen sich diese zwei Ansichten nicht unverstöhnbar gegenüber; man kann sich ganz gut denken, daß auch

1) Nach Fertigstellung dieser Arbeit erfuhr ich, daß bei einer durch wiederholte Injektionen von Arsenobenzol erzeugten Kolloidoklasie auch Komplementverarmung konstatiert wurde: Ch. Flandrin, A. Franck et Roberts, Prophylaxie de certains accidents de la thérapeutique par les arsénobenzènes (Bull. et Mém. Soc. médic. des hôpit. de Paris, 1921, No. 30).

im Spezialfalle eines anaphylaktischen Shocks durch den Abbau des reinjizierten Antigens es zu Kolloidklase kommt, mit anderen Worten daß der anaphylaktische Shock eine der mannigfaltigen Entstehungsarten einer Kolloidklase darstellen kann. Auch die Tatsache, daß es mir wiederholt gelang, durch subkutane Injektionen einiger Kubikzentimeter körpereigenen Gesamtblutes oder Blutserums Malariker von ihren Anfällen für einige Zeit zu befreien obwohl in ihrem Blute dieselbe Anzahl von Plasmodien (auch Schizonten) weiter kreiste wie vor dieser Behandlung, läßt sich von beiden angeführten Gesichtspunkten aus verstehen: es handelt sich um Desensibilisation im Sinne immunbiologischer Auffassung, um antikolloidoklasische Therapie im Sinne physikalisch-chemischer Deutung der Erscheinungen.

Schließlich wäre noch an eine dritte Erklärungsweise des Komplementschwundes bei Malaria zu denken analog dem jüngst von Jedlička¹⁾ bei paroxysmaler Hämoglobinurie gefundenen Verhalten, wonach das durch Blutkörperchenzerfall frei werdende Cholesterin als der komplementschwächende Faktor anzusehen sei. Dieser Annahme bei Malaria widersprechen aber unsere diesbezüglichen Befunde: in den verschiedensten Phasen dieser Erkrankung wurde niemals eine Hypercholesterinämie konstatiert, ja es wiesen die meisten Fälle sogar subnormale Cholesterinwerte des Blutes auf. Andererseits wurden gerade in cholesterinreichem Blute (Tabelle I, No. 44–49) öfters erhöhte Komplementwerte notiert. Daß letztere etwa nur vorgetäuscht wären durch einen, die anti-hämolytische Wirkung des Cholesterins überkompensierenden erhöhten Gallensäuregehalt ikterischer Seren, ging aus meinen Kontrollversuchen nicht hervor; die hämolytische Kraft inaktivierter ikterischer Seren war, wie jedes anderen inaktivierten nichtikterischen Serums, gleich Null.

Für die wichtige Frage, ob in einem dem anaphylaktischen in mancher Beziehung ähnlichen Shock, wie es der malarische Anfall ist, der bewiesene Komplementschwund im Sinne einer Beteiligung des Komplements am Zustandekommen dieses

1) J. Jedlička, Význam cholesterinu při paroxysmalni haemoglobinurii. (Časopis lékařů českých, XXII, No. 1).

Shocks (als Komplementbindung durch Antigen-Antikörperwirkung) oder nur als Begleiterscheinung einer durch den Shock bedingten (oder diesen bedingenden) Gleichgewichtsstörung der Plasmakolloide aufzufassen ist, läßt sich der von uns bei Malaria erhobene Befund noch nicht als entscheidend verwerten; es müssen noch weitere Untersuchungen zur Lösung dieses interessanten Problems angestellt werden.

Zusammenfassung.

Bei Malaria ist der Komplementgehalt des Blutserums im allgemeinen herabgesetzt im Vergleich mit Normalserum des Menschen, und noch mehr im Vergleich mit manchen anderen Infektionskrankheiten, wo eine Erhöhung des Komplementgehalts gefunden wird.

Somit kann unter Umständen dieser Befund, neben anderen Kriterien, klinisch differentialdiagnostische Bedeutung haben.

Die Komplementarmut des Malarikerserums ist das Resultat eines präparoxysmal stattfindenden Komplementschwundes; dieser geht Hand in Hand mit der präparoxysmalen hämoklasischen Krise und ist somit aufzufassen als Ausdruck einer Störung des Kolloidgleichgewichts im Blutplasma, welche durch die Einschwemmung von Zerfallsprodukten der Plasmodien und Erythrozyten in die Blutbahn verursacht wird.

Ob die Komplementverarmung durch diese physikalische Zustandsänderung des Serums allein zustande kommt oder auch infolge Komplementbindung durch einen dem malarischen Anfall zugrunde liegenden anaphylaktischen Shock, muß durch weitere Untersuchungen entschieden werden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Schwedischen Staates zu Stockholm, Dr. C. Kling.]

Die Beziehung zwischen Wasserstoffionenkonzentration und Eucupinwirkung auf Diphtheriebazillen.

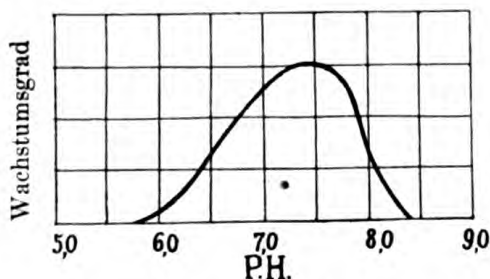
Von **K. G. Dernby** und **H. Davide**.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Mai 1922.)

In einer kürzlich erschienenen Mitteilung von Michaelis und Dernby wurde der Zusammenhang zwischen der Wasserstoffionenkonzentration und den bakteriziden Eigenschaften der Chininderivate am *Staphylococcus aureus* untersucht. In der jetzigen Arbeit wird dieselbe Frage für den Diphtheriebazillus geprüft. Die Arbeiten mit ihm stoßen auf größere Schwierigkeiten als mit dem *Staphylococcus*.

Einmal sind die Diphtheriebazillen viel empfindlicher als jene. Staphylokokken bleiben wochenlang in Kochsalzlösung am Leben, während Diphtheriebazillen sehr schnell darin absterben. Weiterhin sind Diphtheriebazillen viel empfindlicher gegen H- und OH-Ionen. Staphylokokken wachsen in einer Zone von $p_H = 4,0$ bis $9,0$, während Diphtheriebazillen nur von $p_H = 5,7$ bis $8,2$ leben können. Die Abbildung gibt die „Wachstumskurve“ für Diphtheriebazillen an. Dazu kommt noch, daß, während Staphylokokken in nahezu jedem Nährsubstrat wachsen, die Diphtheriebazillen hierin viel anspruchsvoller sind. Wir arbeiteten mit folgendem Nährsubstrat.



Wachstumskurve der Diphtheriebazillen.

Zu 5 kg zerkleinertem Kalbfleisch wurden 10 l Wasserleitungswasser gesetzt und 20 g Hefe und nach 6 Stunden nach Alkalinisierung bis $p_H = 7$ 3 g Trypsin eingerührt, 16 Stunden auf 30 bis 35° gehalten. Die Hefe dient dazu, den Muskelzucker zu vergären, das Trypsin, eine Eiweißspaltung hervorzurufen, gleichzeitig die Filtrierbarkeit zu erleichtern. Am nächsten Tag wird die Mischung 1 Stunde auf 60° erwärmt und durch ein Siebtuch filtriert, dazu 1,5 Proz. Witte-Pepton, 0,5 Proz. NaCl zugesetzt und so viel NaOH, daß p_H zwischen 7,2 und 7,4 liegt, dann kurze Zeit auf 90° erwärmt, durch Papier filtriert auf Flaschen gefüllt und höchstens 20 Minuten bei 105–107° sterilisiert. Betreffs Einzelheiten verweisen wir auf unsere zitierten Arbeiten (Dernby und Davide, 1921; Davide und Dernby, 1921).

Mit diesem Nährboden erhielten wir auch ausgezeichnete Ausbeuten an Toxin. Die angewandten Bazillen waren der Stamm „Kling B“ unseres Laboratoriums, welcher ein kräftiges Toxin bildet. Von Alkaloiden wurden geprüft: Optochin, Eucupin, Eucupinotoxin und Vuzin. Die Methodik war dieselbe wie in der Arbeit von Michaelis und Dernby, jedoch wurde die Alkaloidwirkung nur in Bouillonkultur geprüft, weil die Diphtheriebazillen in reinen Pufferlösungen zu schnell zugrunde gehen.

Die Wirkung dieser Alkaloide auf Diphtheriebazillen wurde bisher von Sommer, W. Pfeiffer, Schaeffer, Braun und Schaeffer geprüft, jedoch ohne Messung von p_H . Die relative Giftigkeit wird von diesen Autoren in der Reihe dargestellt: Chinin, Optochin, Eucupin, Vuzin. Diese Reihenfolge wurde von uns in einer Bouillon mit $p_H = 7,2$ bestätigt.

Tabelle I.

Toxische Wirkungen von Chinaalkaloiden auf Diphtheriebazillen.

Gesät mit 24stünd. Kulturen vom Stamm „Kling B“. Reaktion des Mediums: $p_H = 7,2$. Im Brutschrank bei 37°.

Konzentration	Wachstum nach Zusatz von			
	Optochin	Eucupin	Eucupinotoxin	Vuzin
5:10 000	0	0	0	—
1:10 000	2	0	0	—
5:100 000	3	±	±	0
2:100 000	3	1	±	0
1:100 000	3	3	3	±
Ohne Alkaloid	3	3	3	3

Das Resultat stimmt mit dem für Staphylokokken überein, jedoch scheinen Diphtheriebazillen noch empfindlicher zu sein.

Tabelle II.

Zusammenhang zwischen Eucupinwirkung und Wasserstoffionenkonzentration.

Gesät mit 24stünd. Kulturen vom Stamm „Kling B“. Gezüchtet in „Trypsin“-Bouillon.

No.	p _H	Grad des Wachstums nach 48 St. im Brutschrank bei 37°				
		Kontrolle ohne Alkaloide	Eucupinkonzentration			
			1 : 100 000	2 : 100 000	4 : 100 000	8 : 100 000
1	5,0	0	0	0	0	0
2	5,7	±	±	±	0	0
3	6,3	3	3	3	3	0
4	6,7	4	4	4	2	0
5	7,2	4	4	4	1	0
6	7,6	4	4	1	0	0
7	7,9	4	4	0	0	0
8	8,2	2	2	0	0	0

Tabelle II zeigt ebenfalls eine ausgezeichnete Uebereinstimmung mit den Staphylokokken.

Zusammenfassung.

Auch bei den Diphtheriebazillen nimmt die bakterizide Wirkung der Chininalkaloide mit steigender Alkalität zu; bei p_H 7,9 erzielt man mit einer Konzentration von 2 : 100 000 einen tödlichen Effekt, bei p_H 7,6 erst mit einer Konzentration 4 : 100 000 und erst bei einer Konzentration von 8 : 100 000 wird die Wirkung vom p_H unabhängig.

Das Optimum der Wirkung liegt also bei etwas alkalischerer Reaktion als der des Blutes, jedoch sind die Ausschläge weniger groß als bei den Staphylokokken.

Literatur.

- Braun und Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 37.
 Davide, H., et Dernby, K. G., Compt. rend. Soc. Biol., 1921.
 Dernby, K. G., and Davide, H., Journ. Pathol. and Bacteriol., 1921, Vol. 24, p. 150.
 Michaelis, L., und Dernby, K. G., Diese Zeitschr., Bd. 34, S. 194.
 Pfeiffer, W., Arch. f. Lar. u. Rhin., Bd. 31.
 Schaeffer, H., Biochem. Zeitschr., Bd. 83, 1917, S. 269.
 Sommer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 43.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Schwedischen Staates zu Stockholm, Dr. C. Kling.]

Die Beziehung der Wachstumskurven einiger Mikroorganismen der Dysenterie-Coli-Gruppe zur Wasserstoffionenkonzentration.

Von **K. G. Dernby** und **Carl Näslund**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Mai 1922.)

In der Absicht, für praktische Zwecke Nährsubstrate mit richtig eingestellter Reaktion für die Dysenterie- und Colibazillen zu bereiten, haben wir einige Versuche über die Beziehung zwischen Wasserstoffionenkonzentration und Wachstum der im hiesigen Laboratorium vorrätigen Stämme gemacht.

Bekanntlich hat die alte Methode, die Reaktion eines Nährsubstrats mittels Titration zu bestimmen, den exakteren Bestimmungen der Wasserstoffionenkonzentration mehr und mehr weichen müssen. Seit einigen Jahren ist diese Methode in England und Amerika ganz vorherrschend, in Deutschland aber erst in der letzten Zeit allgemein in Gebrauch genommen worden. Wegen der Details verweisen wir auf die vorzüglichen diesbezüglichen Arbeiten von Michaelis.

Unsere Versuche sind in der Weise ausgeführt, daß zu gewöhnlicher Kalbsbouillon verschiedene Mengen HCl oder NaOH zugesetzt werden, so daß wir Serien von Röhren erhalten, die mit Bouillon von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration ($p_H = 3$ bis $p_H = 9$) gefüllt sind. Jede Serie wird mit der gleichen Menge der betreffenden Bakterien beimpft und das Wachstum nach verschiedenen Zeiten durch Beurteilung der Trübung bestimmt. Wird in ein Diagramm p_H als Abszisse und der Wachstumsgrad als Ordinate eingeführt, so bekommen wir eine „Wachstumskurve“ mit zwei Grenzen, eine im sauren, die andere im alkalischen Gebiet und dazwischen ein Optimum.

Erst glaubte man, daß besonders die Grenzzahl der sauren Seite für jede Bakterienart spezifisch sei, aber diese Ansicht

hat sich als unhaltbar erwiesen. Auch das Optimum ist nicht sicher konstant. Sowohl die Grenzen wie das Optimum können also variieren (siehe z. B. eine Arbeit von *Dernby* und *Siwe* über Diphtheriebazillen), abhängig von einer Menge Faktoren, wie der eingepfhten Bakterienmenge, der Zusammensetzung des Nährsubstrats, des Vorhandenseins von Zucker, Salzen usw. Aber die allgemeine Form der Kurve bleibt doch ein gutes Charakteristikum, so z. B. zeigen Colibazillen, Diphtheriebazillen sowie Pneumokokken ganz verschiedene und typische Kurven (siehe *Dernby*, 1921).

Die Menge der Aussaat spielt, wie schon erwähnt, eine große Rolle. Verwendet man eine sehr kleine Menge von Bakterien, so bekommt man eine enge Kurve, sät man mit reichlicher Menge, so wird die Kurve viel breiter. Wir haben viele diesbezügliche Versuche ausgeführt und teilen als Beispiel einen solchen mit (Tabelle I).

Tabelle I.

Beziehung zwischen Aussaat und Wachstumskurven für den Typhusbazillus. *a* bezeichnet die kleinste ausgesäte Menge Bakterien in 10 ccm Nährbouillon.

Die Beobachtung des Wachstums nach 11 Stunden im Brutschrank bei 36° gemacht.

No.	p _H	Wachstumsgrad. Menge ausgesäter Bakterien			
		a	10 a	100 a	1000 a
1	4,2	—	±	+	++
2	5,1	±	+	++	+++
3	6,0	+	++	++	+++
4	6,6	++	++	++	+++
5	7,2	++	++	++	+++
6	7,7	±	+	+	+++
7	8,1	—	.	+	++
8	8,6	—	.	+	+

In der Beurteilung und Deutung von Wachstumskurven muß man daher sehr vorsichtig sein und besonders nicht zu weitgehende theoretische Schlußfolgerungen ziehen wollen.

Wichtig sind die Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration während des Wachstums. Wenn wir es mit Bakterien zu tun haben, die Zucker vergären können, können wir hier zwei Fälle unterscheiden.

Erstens: das Substrat enthält keinen Zucker; dann sinkt p_H nicht oder sehr unbedeutend. Nach längerer Zeit und bei üppigem Wachstum steigt p_H , wahrscheinlich auf Grund der proteolytischen Wirkungen der Enzyme der autolysierten Bakterien.

Zweitens: das Substrat enthält Zucker. Für die meisten Mikroorganismen sinkt dann p_H zuerst beträchtlich. Die Reaktion kann bisweilen sehr sauer werden, bisweilen so sauer, daß die Bakterien abgetötet oder in ihrem Wachstum gehemmt werden. Wenn die Säurebildung nicht zu groß ist, steigt jedoch p_H nach einiger Zeit wieder.

In der Literatur finden sich bereits viele Angaben über die Beziehung zwischen Wasserstoffionenkonzentration und Wachstum dieser Bakteriengruppen. Wir geben hier die wichtigsten uns bekannten Arbeiten in Tabellenform wieder.

Tabelle II.
Zusammenstellung früherer Arbeiten auf diesem Gebiet.

Namen der Bakterien	Verfasser	Nährsubstrat	pH-Zone		Bemerkungen
			Grenze	Optimum	
B. coli	Michaelis u. Marcora 1912	Laktosebouillon	5,0	—	
	Shohl u. Janney 1917	Harn	4,6—9,6	6,0—7,0	
	Wyeth 1918	Bouillon	4,3	—	
	Clark u. Lubs 1917	„	4,5—9,0	6,0—7,0	
	Cohen u. Clark 1919	„	4,5—9,0	6,0—7,0	
	Dernby 1921	Autolysierte Bouill.	4,4—7,8	6,0—7,0	
	Scheer 1921	Bouillon	4,7	—	
	Adam 1922	Bouillon mit oder ohne Zucker	—	6,4—7,1	Vom Säuglingsdünndarm isoliert Vom Stuhl isoliert
B. typhi	Fennel und Fisher 1919	Agar	4,0—9,6	6,2—7,2	
	Schoenholz u. Meyer 1919 u. 1921	Bouillon	5,0—8,6	6,8—7,0	
	Dernby 1921	Autolysierte Bouill.	6,2—7,6	6,8—7,2	
Paratyphus A	Fennel und Fisher 1919	Agar	4,0—9,6	6,2—7,2	
	Schoenholz u. Meyer 1921	Bouillon	5,0—>8,6	—	
	Dernby 1921	Autolysierte Bouill.	4,5—7,8	6,4—7,0	
Paratyphus B	Fennel und Fisher 1919	Agar	4,0—9,6	6,2—7,2	
	Schoenholz u. Meyer 1921	Bouillon	5,0—>8,6	—	
	Dernby 1921	Autolysierte Bouill.	4,5—8,0	6,4—7,2	
Dysenterie	Fennel und Fisher 1919	Agar	4,8—9,6	6,2—8,4	

Wie aus der Tabelle hervorgeht, haben verschiedene Verfasser auseinandergelagerte Werte bekommen. Besonders wenn man mit festen Nährböden arbeitet, sind exakte p_H -Messungen schwierig auszuführen. Im allgemeinen sind die Wachstumszonen in flüssigen Nährböden enger als in festen.

Als die mustergültigste Arbeit über die Beziehung zwischen p_H und Wachstum ist die von Cohen und Clark (1919) über *Coli* und andere Bakterien anzusehen, wo sowohl experimentell als theoretisch die Begründung der Wachstumskurve gegeben ist.

Neuerdings hat Stickdorn (1922) eine Arbeit veröffentlicht, worin er das Wachstum verschiedener Mikroorganismen, auch der hier studierten, bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration untersucht. Er hat aber die p_H -Veränderungen während des Wachstums nicht beobachtet, und es ist schwierig, seine Angaben in die Tabelle I einzuordnen.

Auch eine ganz neue Arbeit von Adam (1922) und eine von Jonesco-Mihaesti und Popesco (1922) sind noch zu erwähnen.

Die Versuchsprotokolle noch im einzelnen zu erwähnen halten wir für überflüssig, und haben die Resultate in Tabelle III zusammengefaßt.

Tabelle III.

Zusammenfassung der gefundenen Resultate. Beziehung zwischen Wachstum und p_H in Nährbouillon.

Species	p_H -Zone	
	Grenze	Optimum
<i>B. typhi</i>	4,5 - 8,0	6,5 - 7,2
<i>B. paratyphus</i> A	4,5 - 8,5	6,5 - 7,5
B. „ B	4,5 - 8,5	6,5 - 7,5
<i>B. coli communis</i>	4,5 - 9,0	6,0 - 7,0
<i>B. enteritidis</i> Gärtner	5,0 - 8,5	7,0 - 8,0
<i>B. dysenteriae</i> Shiga-Kruse	4,5 - 8,2	6,0 - 7,2
B. „ Flexner	4,5 - 8,2	6,0 - 7,2
B. „ Y (His Russell)	4,5 - 8,2	6,0 - 7,2
B. „ Somme	4,5 - 8,2	6,0 - 7,2

Die Werte für *Coli* und *Paratyphus* stimmen vollkommen mit den von Derby gefundenen (1921) überein. Dagegen hat der hier studierte Typhusstamm eine breitere Wachstumszone als die dort untersuchten, zumal im sauren Gebiet. Im alkalischen wächst jedoch der Typhus viel schlechter als der *Paratyphus*.

Die Grenzwerte, die wir angegeben haben, sind als Minimalwerte zu bezeichnen. Es ist sehr wohl möglich, daß Wachstum auch außerhalb dieser Grenzen eintreten kann.

Die untersuchten Bakterien zerfallen in bezug auf die Wachstumskurve in zwei Gruppen. Einerseits Coli-, Paratyphus und Gärtner, die eine größere Alkalinität vertragen können, andererseits Typhus und Dysenteriebakterien, deren Optimum nach der sauren Seite hin verschoben zu sein scheint.

Jedoch haben sämtliche hier studierte Mikroorganismen eine verhältnismäßig ausgedehnte Wachstumskurve, und unterscheiden sich hierin von anderen wichtigen pathogenen Bakterien, wie Pneumococcus, Diphtheriebazillen usw.

Zusammenfassung.

Das Optimum sämtlicher studierten Spezies scheint also etwa in der Nähe des Neutralpunktes zu liegen. Die Nährsubstrate sollten daher eine initiale Wasserstoffionenkonzentration von $p_H = 7$ bis $p_H = 7,5$ haben. Ist das Nährsubstrat zuckerfrei, so sollte p_H etwa $= 7$ sein, enthält es Zucker, so dürfte p_H höher, etwa auf $7,5-8,0$ gesetzt werden, denn bei Vorhandensein von Zucker wird die Reaktion nach der sauren Seite hin verschoben.

Literatur.

- Adam, A., Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 87, 1922, S. 481.
 Clark, W. M., The Determination of Hydrogen Ions. Baltimore 1920.
 —, and Lubs, H. A., Journ. Bact., Vol. 2, 1917, p. 1.
 Cohen, B., and Clark, W. M., Journ. Bact., Vol. 4, 1919, p. 409.
 Dernby, K. G., Ann. Inst. Pasteur., T. 35, 1921, p. 277.
 —, und Allander, B., Biochem. Zeitschr., Bd. 123, 1921, S. 245.
 —, und Siwe, S., Biochem. Zeitschr., 1922 (im Druck).
 Fennell, E. A., and Fisher, Journ. Inf. Dis., Vol. 25, 1919, p. 451.
 Jonsco-Mihaesti et Popesco, Compt. rend. Soc. Biol., T. 86, 1922, p. 893.
 Michaelis, L., und Marcora, F., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, S. 170.
 Michaelis, L., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, 1921, S. 194.
 Scheer, K., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, S. 36.
 Schoenholz, P., and Meyer, K. F., Journ. Inf. Dis., Vol. 28, 1921, p. 384.
 Schohl, A. T., and Janney, J. H., Journ. Urology., Vol. 1, 1917, p. 211.
 Stieckdorn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1922, S. 576.
 Wyeth, T. J. S., Biochem. Zeitschr., Bd. 12, 1918, S. 382.

Nachdruck verboten.

[Aus der I. Medizinischen Klinik in Wien].

**Beitrag zur Kenntnis und Anwendung einer neuen für
Tuberkulose spezifischen Reaktion mit Pferdeserum
(Busacca-Reaktion).**

Von **U. Sammartino** (Rom).

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Mai 1922.)

Schon im Jahre 1890 hatte Koch¹⁾ gefunden, daß eine subkutane Injektion von 0,001 g Tuberkulin ausschließlich beim Tuberkulösen eine heftige Allgemeinreaktion hervorruft, und den Vorschlag gemacht, diese Injektion zu diagnostischen Zwecken zu benützen. Die wenig ermutigenden Resultate dieser diagnostischen Methode führten besonders in Deutschland zu neuen analogen Versuchen, aber mit kleineren Mengen [Möllers²⁾, Löwenstein³⁾, Ostrowski⁴⁾].

Obwohl diese spätere, sogenannte Methode der 4 gleichen Dosen sich als unschädlich erwies, zeigte sich, daß der positive Ausfall keinen großen praktischen Wert hat, da sich dieser in der Hälfte der Fälle bei Gesunden findet.

Der Wert der diagnostischen Tuberkulininjektion in verkleinerten und täglich wiederholten Dosen bis zum Auftreten der Reaktion wurde von vielen Forschern bestritten [Debore⁵⁾, Combemale⁶⁾ u. a.]. Hutinel⁷⁾ zeigte, daß die subkutane Injektion von künstlichem Serum auffallenderweise eine der Tuberkulinreaktion gleiche fieberhafte Reaktion hervorrufen kann. Andere wieder, wie Landouzy⁸⁾, Cirot⁹⁾, Barde¹⁰⁾,

1) Koch, Berl. klin. Wochenschr., 1882. — Deutsche med. Wochenschr., 1897. — Deutsche med. Wochenschr., 1901 u. 1902. — Verhandlungen der I. internat. Tuberkulosekonferenz, Berlin 1902.

2) Möllers, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 19. — Deutsche med. Wochenschr., 1911. — Arch. f. prakt. Tierheilkunde, Bd. 39, 1913.

3) Löwenstein, Handbuch der pathog. Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 5, 1913.

4) 5) 6) 7) 8) 9) 10) s. J. Gourmont, Précis de bactériologie Collection Ecstut, Paris.

Arloing¹⁾, messen dem Tuberkulin mehr Bedeutung bei. Merieux²⁾, injiziert einem tuberkulösen Meerschweinchen das Serum eines Kranken. Aus dem Auftreten oder Ausbleiben der Temperaturreaktion schließt er auf Vorhandensein oder Fehlen von Tuberkulose.

Als weitere diagnostische Methoden zur Erkennung der Tuberkulose wurden vor allem noch angewandt: die Kutanreaktion von Pirquet³⁾, die Intrakutanreaktion von Mantoux⁴⁾, die klassische Subkutanreaktion und die Ophthalmoreaktion von Wolff-Eisner⁵⁾ und M. Calmette⁶⁾. Aber wenn auch die Art und Weise der diagnostischen Technik variiert wurde, so beruhen doch die genannten Verfahren stets auf der Anwendung von Tuberkulin.

Erst kürzlich stellte sich Busacca⁷⁾ die Frage, ausgehend von der Tatsache, daß die Tuberkulösen besonders empfindlich gegen normales Pferdeserum sind, ob es nicht möglich wäre, diese spezifische Empfindlichkeit der Tuberkulösen zu diagnostischen Zwecken zu benützen. Nachdem durch Vorversuche festgestellt worden war, daß Rinder- und Schweineserum keine konstanten Resultate zeitigten, konnte er nachweisen, daß bei den verschiedenen Formen der Tuberkulose die subkutane Injektion von Pferdeserum, am besten 0,2 ccm, in 24 Stunden eine deutliche Lokalreaktion ohne Allgemeinerscheinungen bedingt. Die Reaktion tritt nie bei Normalen auf, und nach der Statistik der Fälle, die von ihm auf der Klinik von Prof. Finger und im Lupusheim in Wien behandelt worden sind, konnte er sie bei 87 Proz. der positive Fälle erhalten.

Der Verfasser legt seiner Reaktion Wert bei, besonders weil sie, im Gegensatz zur Kutanreaktion von Pirquet⁸⁾, die aktiven Prozesse nachweist.

Nur in besonderen Fällen bei Individuen, die sich mit Pferdefleisch ernähren, und in einigen anderen, die gegen

1) 2) s. J. Gourmont, Précis de bactériologie Collection Ecstut, Paris.

3) 4) 5) 6) s. W. Kolle und H. Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten, 2. Bd. Urban und Schwarzenberg, 1919.

7) Ottilio Busacca, Ueber eine neue intrakutane Reaktion bei Hauttuberkulose. Wiener klin. Wochenschr., 1921, No. 47.

8) Vgl. Kolle und Hetsch, Die exp. Bakt. u. d. Infktkrh., 2. Bd.

Pferdeserum besonders empfindlich sind, tritt eine positive Reaktion ohne Bestehen einer Tuberkulose auf. Busacca¹⁾, der seine Reaktion als eine anaphylaktische auffaßte, konnte sich dabei auf die klassischen Versuche von Besredka²⁾ aus dem Institut Pasteur stützen.

Ausgehend von der klinischen Erfahrung, daß die Tuberkulösen oft in starkem Maße unter den Unzukömmlichkeiten der Serotherapie leiden, wollte Besredka zur Kenntnis dieser besonderen Empfindlichkeit der Tuberkulösen einen Beitrag bringen und stellte sich die Frage, ob diese Empfindlichkeit der gleichen Art sei, wie diejenige der gegen Serum sensibilisierten Organismen.

Um diese Frage zu lösen, machte er Versuche an gegen Serum sensibilisierten und an tuberkulösen Meerschweinchen. Die Versuche zeigten ihm, daß die tuberkulinisierten Meerschweinchen eine größere Empfindlichkeit gegenüber dem Serum haben als die nur sensibilisierten Kontrolltiere und daß sie auch geringeren Serummengen erlagen als diese.

Um sicher zu sein, ob diese Ueberempfindlichkeit zum Bilde der Anaphylaxie gehört, versuchte er die Tiere in den Zustand der Antianaphylaxie zu bringen. Er konnte tatsächlich auf die Art die Ueberempfindlichkeit aufheben. Die Meerschweinchen konnten Serummengen ertragen, von welchen $\frac{1}{100}$ bereits letal gewirkt hätte.

Bei dieser Sachlage haben wir es für nicht uninteressant gehalten, in erster Linie zu untersuchen, ob das Pferdeserum in den in den Konjunktivalsack von vorbehandelten Tieren eingebracht auch imstande ist, eine Ophthalmoreaktion ähnlich der beim Tuberkulinisierten hervorzurufen.

In Anbetracht der geringen Empfindlichkeit des normalen Meerschweinchens gegen Pferdeserum sind wir im Laufe unserer Untersuchungen der Methode von Besredka gefolgt. In dieser ersten Versuchsreihe wurden 25 Meerschweinchen in vier Gruppen verwendet.

1) wurde 5 normalen Meerschweinchen zur Kontrolle Pferdeserum ins Auge getropft; 2) 5 Meerschweinchen, die gegen

1) Ottilio Busacca, l. c.

2) A. Besredka, Anaphylaxie et antianaphylaxie (Médicaments microbiens) — Biblioth. de thérapeut. Gilbert et Carnot — J. B. Baillièrre et fils.

Serum sensibilisiert waren, um zu beobachten, ob dies imstande wäre, die Reaktion hervorzurufen; 3) 5 Meerschweinchen, die mit Tuberkulin behandelt, aber nicht gegen Serum sensibilisiert waren; 4) 10 Meerschweinchen, die sensibilisiert und mit Tuberkulin behandelt worden waren. Zur Sensibilisierung haben wir, dem Vorgehen von Besredka folgend, die Menge von 0,01 ccm nicht erwärmten Pferdeserums injiziert und haben eine Inkubationszeit von 14 Tagen abgewartet, damit das Tier sicher anaphylaktisch wäre.

Die Meerschweinchen wurden durch intraperitoneale Injektion einer Aufschwemmung einer alten menschlichen Tuberkulosekultur aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien tuberkulinisiert. Die Ergebnisse bringen wir in den nachfolgenden Tabellen:

Tabelle I. Ophthalmoreaktion.

I. Bei 5 normalen Kontrollmeerschweinchen.

Datum	No. des Tieres	Gewicht in g	Ophthalmoreaktion	Bemerkungen
20. 4. 1921	1	450	negativ	Es werden einige Tropfen Normal-Pferdeserum aus dem staatl. Seratherapeut. Institut eingetrofft.
"	2	394	"	
"	3	618	"	
"	4	522	"	
"	5	305	"	

II. Bei 5 mit Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen.

No. d. Tieres	Körpergewicht in g	Datum d. Sensibilisierens	Ophthalmoreaktion, l. Auge		Gewicht z. Schluß d. Vers.	Bemerkungen
			Datum	Ausfall		
1861	642	28. 5. 1921	25. 6. 1921	negativ	600	Es wird Normal-Pferdeserum injiziert.
985	363	"	"	"	392	
85	472	"	"	"	509	
260	503	"	"	"	552	
1773	592	"	"	"	620	

III. Bei 5 mit Tuberkulin behandelten und nicht sensibilisierten Meerschweinchen.

No. d. Tieres	Körpergewicht in g	Datum d. Tuberkulininjektion	Zeit nach d. Tuberkulininjektion	Ausfall der Ophthalmoreaktion, r. Auge	Gew. z. Schl. des Vers.	Bemerkungen
1840	277	29. 4. 1921	34 Tage	negativ	230	Tod inf. allg. Tbc.
1014	262	"	"	"	250	
511	292	"	"	?	227	
1833	321	"	"	negativ	264	
212	257	"	"	?	210	

VI. Bei 10 mit Tuberkulin behandelten und mit Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen.

No. d. Tieres	Körpergewicht in g	Datum d. Sensibilisierens u. d. Tuberkulininjektion	Zeit n. d. Sensibilisierung u. d. Tuberkulininjektion	Ausfall der Ophthalmoreaktion, r. Auge	Gew. z. Schl. des Vers.	Bemerkungen
19	738	29. 5. 1921	34 Tage	negativ	674	Fiebern allg. tbc. Drüseninfiltrat.
28	520	"	"	"	427	
1575	603	"	"	"	520	
1272	260	"	"	"	392	
420	420	"	"	"	364	
1670	394	"	"	"	305	
1211	324	"	"	"	273	
559	343	"	"	"	258	
1491	362	"	"	"	300	
622	265	"	"	"	205	

Wie man aus den Tabellen ersieht, ist das in den Konjunktivalsack gebrachte normale Pferdeserum weder imstande eine Lokalreaktion, noch eine allgemeine Reaktion hervorzurufen, und zwar weder bei normalen Meerschweinchen, noch auch bei gegen Pferdeserum sensibilisierten, noch bei bloß mit Tuberkulin behandelten, noch bei sensibilisierten und mit Tuberkulin behandelten Tieren.

Wir haben daher eine zweite Versuchsreihe angestellt, indem wir unter die Conjunctiva palpebralis des äußeren Lidwinkels Pferdeserum in minimalen Mengen injizierten, um keine zu starke Gewebsläsion hervorzurufen.

Die Versuche wurden analog den vorigen durchgeführt.

Tabelle II.

Subkonjunktivale Injektionen mit Pferdeserum.

I. Bei 5 mit Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Datum der Sensibilisierung	Zeit nach der Sensibilisierung	Subkonjunktivale Injektion von Pferdeserum		Gewicht z. Schl. des Versuches	Bemerkungen
				Ort der Injektion	Ausfall		
1	540	2. 6. 1921	30 Tage	innerer Lidwinkel des r. Auges	negativ	552	Die subkonj. Inj. wird mit einer ganz feinen Nadel ausgeführt, um das Trauma möglichst gering zu gestalten.
2	380	dgl.	dgl.	dgl.	"	397	
3	502	"	"	"	"	560	
4	398	"	"	"	"	405	
5	473	"	"	"	"	498	

II. Bei 5 mit Tuberkulin behandelten Meerschweinchen.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Datum d. Tuberkulininjektion	Zeit nach d. Tuberkulininjektion	Subkonjunktivale Injektion von Pferdeserum		Gewicht z. Schluß des Versuches	Bemerkungen
				Ort der Injektion	Ausfall		
6	600	2. 6. 1921	40 Tage	innerer Lidwinkel des r. Auges	positiv	523	Die Tiere überlebten die Injekt. längere Zeit u. bei der Sektion fanden sich Zeichen einer manifesten Tbk. des Perit. und der Organe.
7	570	dgl.	dgl.	dgl.	„	497	
8	485	„	„	„	„	401	
9	520	„	„	„	„	404	
10	396	„	„	„	„	320	

III. Bei 10 mit Pferdeserum sensibilisierten und mit Tuberkulin behandelten Meerschweinchen.

No. des Tieres	Körpergewicht in g	Datum der Sensibilisier. u. d. Tuberkulininjektion	Zeit nach der Sensibilisier. u. d. Tuberkulininjektion	Subkonjunktivale Injektion von Pferdeserum		Gewicht zum Schluß des Versuches	Bemerkungen
				Ort der Injektion	Ausfall		
11	610	2. 6. 1921	40 Tage	innerer Lidwinkel des r. Auges	positiv	525	Der Charakter d. tuberkulösen Infektion ist eindeutig und auch durch die Sektion bestätigt.
12	398	dgl.	dgl.	dgl.	„	352	
13	285	„	„	„	„	210	
14	430	„	„	„	„	370	
15	356	„	„	„	„	310	
16	270	„	„	„	„	218	
17	515	„	„	„	unbest.	428	
18	604	„	„	„	negativ	522	
19	396	„	„	„	„	341	
20	580	„	„	„	—	499	

Aus den Versuchen folgt eindeutig, daß die sensibilisierten Meerschweinchen (1. Gruppe) nach der Injektion von Pferdeserum in die Conjunctiva keine Reaktion aufweisen, während die mit Tuberkulin behandelten durchweg eine positive Reaktion zeigen, die charakterisiert ist durch das Auftreten einer starken diffusen Hyperämie an der Injektionsstelle im äußeren Lidwinkel. Ebenso verhielten sich die sensibilisierten und mit Tuberkulin behandelten Meerschweinchen. Unter 9 Fällen fanden wir 6 positive, 1 unsicheren und 2 negative.

Der Einwand, daß diese starke Hyperämie durch das Trauma der Injektion infolge der besonderen Verhältnisse einer durch das Endstadium der Krankheit alterierten Zirkulation bedingt sei, scheint uns nicht stichhaltig, da die Meerschweinchen mit Absicht mit einer alten menschlichen Kultur

injiziert wurden und einen protrahierten Krankheitsverlauf hatten und diese Reaktion um 15—40 Tage überlebten.

Andererseits werden unsere Beobachtungen durch die neuesten Untersuchungen von Kodama-Ryuzo¹⁾ bestätigt, die wir im Auszug in den Berichten der Ges. f. Physiol. und exp. Pharmakologie gelesen haben, als unsere Arbeit schon abgeschlossen war.

Dieser Verfasser ging von den Beobachtungen von Schulz aus, daß die glatte Muskulatur in der Lunge, im Darm, und in den Blutgefäßen bei sensibilisierten Meerschweinchen eine gesteigerte Erregbarkeit aufweist, und untersuchte die Wirkung des Pferdeserums auf die Muskulatur des Auges. Nachdem er durch subkutane Injektion von 0,01 und 2,5 ccm Serum die Tiere sensibilisiert hatte, beobachtete er nach einigen Wochen, daß das Einträufeln des gleichen Serums in den Konjunktivalsack, sowie die intraorbitale, subkutane oder intravenöse Injektion eine Erweiterung der Pupille, der eine Verengung folgte, bewirkten. Nicht sensibilisierte Tiere zeigen diese Reaktion auch, aber in viel geringerem Ausmaß.

Auf die intraorbitalen Pferdeseruminjektionen erhielt er bei sensibilisierten Tieren eine Hypersekretion der Tränenrüsen und der Harderschen Drüse, vasomotorische Störungen, sowie Hämorrhagien der epibulbären Gefäße und der Retina.

Zusammenfassung.

1) Einträufeln von Pferdeserum in den Conjunktivalsack erzeugt beim normalen Meerschweinchen ebensowenig wie bei dem mit Tuberkulin behandelten Meerschweinchen oder den mit Tuberkulin behandelten und sensibilisierten Meerschweinchen eine der Ophthalmoreaktion nach Tuberkulin ähnliche Reaktion.

2) Die subkonjunktivalen Injektionen von Pferdeserum erzeugen bei den mit Tuberkulin behandelten und bei den sensibilisierten und mit Tuberkulin behandelten Meerschweinchen eine leichte Lokalreaktion.

3) Die Sensibilisierung der Meerschweinchen durch Pferdeserum ist daher zum Auftreten der Reaktion nicht unbedingt erforderlich.

1) Kodama-Ryuzo, Ocular reactions in anaphylaxis (John Mc. Cormick Inst. f. infect. dis., Chicago). Journ. of infect. dis., Vol. 28, 1921, No. 1, p. 48—61.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Akademie für praktische
Medizin zu Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. Bürgers).]

Serologische Studien mit Hilfe des Zeißschen Flüssigkeits- interferometers.

II. Mitteilung.

Von Dr. **W. Bachmann.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. Juni 1922.)

In einer ersten Mitteilung meiner Ergebnisse (1), die bei der interferometrischen Messung serologischer Vorgänge gewonnen worden sind, habe ich angegeben, daß bei der Agglutination von Typhus, Paratyphus B, Pseudodysenterie A- und Pseudodysenterie D-Bazillen durch homologes Immuneserum eine Verminderung der Konzentration in dem Gemisch Immuneserum und Bazillenaufschwemmung nach der Ausflockung der Bakterien eintritt, die um so geringer zu sein scheint, je stärker die Verdünnung des Immuneserums gewählt wird. Bei der Komplementbindung zwischen Typhusbazillenextrakt und Typhusimmuneserum habe ich dagegen eine geringe Vermehrung der Konzentration des Gemisches nach erfolgter Komplementbindung feststellen können. Das gleiche hat sich für einen Teil der syphilitischen Sera bei der ersten Phase der Wassermannschen Reaktion und bei der Flockungsreaktion nach Sachs-Georgi ergeben. Da die erhaltenen Konzentrationsänderungen jedoch durchaus geringfügig sind, so muß man daran denken, daß die gefundenen Ausschläge trotz sorgsamem Arbeitens in kleinen Fehlerquellen der Methodik begründet liegen, so daß eine neue Bearbeitung der Fragestellung auf breiterer Grundlage mit veränderter Versuchsanwendung notwendig erscheint. In dieser Absicht bin ich noch bestärkt worden durch eine Arbeit von Doerr und Berger (2), die mir erst während der Drucklegung meiner ersten Mitteilung über den vorliegenden Gegenstand bekannt geworden ist. Doerr weist hier nach, daß die Reaktion zwischen Eiweiß-Antigen und präzipitierendem Immuneserum in der ersten bis

zur Flockung führenden Phase bei interferometrischer Messung die Refraktion, d. h. die Konzentration des Gemisches Antigen+Immunserum nicht verändert. Die Ansicht von Hirsch und Langenstraß (3), die auf Grund ihrer interferometrischen Messungen zu der Ansicht neigen, daß ein fermentativer Abbau des Antigens durch das homologe Immunserum erfolgt, wodurch eine Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration eintreten soll und dadurch die Flockung, besteht also offenbar nicht zu Recht; denn die geringen Ausschläge, die Doerr bei seinen entsprechenden Versuchen erhalten hat, liegen, wie er beweist, innerhalb der Fehlergrenzen der Methode. Wegen der Einzelheiten verweise ich auf seine Arbeit (2). Auch er hat ebenso, wie ich es bei der ersten Phase der WaR. und bei der Flockungsreaktion nach Sachs-Georgi bereits getan habe, mit einem vereinfachten Verfahren gearbeitet, das darin besteht, den Vorgang der Präzipitation unmittelbar in der Interferometerkammer zu beobachten, ohne Anwendung von Auflösungsmitteln für das Präzipitat, die unnötige Fehlerquellen bedeuten. Während in meiner ersten Mitteilung nur in einem Teil der Fälle, die serologischen Vorgänge unmittelbar in der Flüssigkeitskammer verfolgt worden sind, habe ich meine weiteren Untersuchungen sämtlich in dieser Weise ausgeführt, und zwar habe ich, um den Verdunstungsfehler auf ein möglichst geringes Maß herabzusetzen, den abschließenden Glasdeckel der bis zum Rand gefüllten Cuvetten stets gut paraffiniert, vor jeder Ablesung gut umgeschüttelt und dadurch erreicht, daß ein Verdunstungsfehler bei den meisten Versuchen ausgeschlossen werden kann. In den Fällen, wo trotzdem ein größerer Ausschlag, der die Fehlergrenzen des Interferometers übersteigt, eingetreten ist, habe ich zur Kontrolle die Vergleichsflüssigkeit in der einen Hälfte der Kammer nochmals ausgemessen, mit ihrem ursprünglichen Interferometerwert verglichen und dadurch Konzentrationsänderungen der untersuchten Gemische, die nur vorgetäuscht sind, als solche aufdecken können. Da die Temperatur des Wasserbades, in das die Interferometerkammer eintaucht, auf den Wert der Interferometerzahl von großem Einfluß ist, habe ich für gleichartige Versuchsreihen eine Temperaturkurve angelegt, die es erlaubt, die erhaltenen Interferometerwerte auf eine bestimmte Vergleichstemperatur

zu korrigieren. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die von Hirsch und Langenstraß aufgestellte Behauptung, daß eine Temperaturdifferenz von 1° vernachlässigt werden kann, nicht immer berechtigt ist. Sämtliche Untersuchungen sind in der 0,5 ccm-Kammer ausgeführt, da ein Ausmessen der von mir untersuchten kolloidalen Gemische in der mir noch zur Verfügung stehenden 2 ccm-Kammer nach dem Trübwerden bzw. nach der Ausflockung der betr. Gemenge eine sichere Ablesung nicht mehr erlaubt. Was den subjektiven Beobachtungsfehler bei Ablesung des Interferometerwertes betrifft, so stimme ich mit Doerr überein, daß man in der Lage ist, die zugehörigen Streifen des Interferenzbildes auf ± 1 Trommelteile genau einzustellen. Es gehört jedoch einige Uebung dazu, um diese Vollkommenheit der Ablesung zu erreichen. Aus eigener Erfahrung muß ich sagen, daß ich in den ersten Wochen meiner Untersuchungstätigkeit mit dem Interferometer den Ablesungsfehler höher, etwa ± 3 Trommelteile gefunden habe. Ist man gezwungen, den errechneten Wert eines Flüssigkeitsgemischs mit dem beobachteten zu vergleichen, so kommt der unvermeidliche Fehler des ungenauen Pipettierens hinzu. Ich habe in diesen Fällen stets mit derselben Pipette gearbeitet, also verschiedene Flüssigkeiten, die z. B. zu gleichen Teilen vermischt werden, nacheinander mit derselben Pipette aufgesaugt und dadurch den Fehler beim volumetrischen Arbeiten so weit herabgedrückt, daß der mittlere Messungsfehler mit ± 8 Trommelteilen angegeben werden kann. Beim Arbeiten mit kolloidalen Lösungen kommt nun noch die Möglichkeit der Streifenverwechslung hinzu (4, 5, 6), die besonders groß ist, wenn man Messungen verschiedener kolloidaler Flüssigkeiten miteinander vergleichen will. Verfolgt man jedoch den Ablauf einer Reaktion in dem gleichen Gemisch über längere Zeit hinaus, so wird es doch in den meisten Fällen möglich sein, das richtige Streifenpaar, bzw. den Streifen, an dessen Einstellung man sich gewöhnt hat, zu finden. Gelingt es nicht, so empfiehlt es sich, wenn möglich, die Reaktion in stärkeren Verdünnungen der einzelnen Komponenten zu wiederholen. Das entspricht auch den Befunden von Mark (7), der kolloidale Lösungen von Eiweiß und Gelatine in verschiedenen Konzentrationen mit dem Inter-

ferometer systematisch untersucht und festgestellt hat, daß bei steigender Konzentration der kolloidalen Lösungen das richtige Streifenpaar demjenigen des Vergleichsspektrums immer unähnlicher, das nächst höhere Streifenpaar ihm jedoch immer ähnlicher wird. Da ein Streifenpaar in den Werten bis etwa 1500 20 Trommelteilen entspricht, so wird der mögliche Irrtum der Streifenverwechslung mit 20 Trommelteilen in Rechnung gesetzt werden müssen. Die Resultate von Hirsch und seinen Mitarbeitern, die mannigfache Berechnungen voraussetzen, sind nach Doerr also auch aus diesem Grunde recht zweifelhaft, was von uns in meiner ersten Mitteilung ebenfalls betont worden ist.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit beginnen mit der Interferometrie einer Fermentreaktion, nämlich der Lipasebestimmung nach Michaelis und Rona (8) und der Einwirkung von Speicheldiastase auf Stärkelösung, weiterhin erstrecken sie sich auf die mit sichtbaren Flockungen einhergehenden Immunitätsvorgänge, die Präzipitation von Serum durch entsprechendes Antiserum und die Agglutination von Bakterien. Fernerhin werden untersucht die Komplementbindung von Bakterienextrakten durch Immunserum und die erste Phase der WaR. sowie der Vorgang der Anaphylatoxinbildung aus Bakterien im Reagenzglas. Als Drittes wird die interferometrische Messung der Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke (D.M.) sowie der Dold-schen Trübungsreaktion mitgeteilt.

1. Lipasebestimmung und Wirkung der Speicheldiastase auf Stärkelösung.

Nach dem Vorgang von Doerr (2) habe ich den Ablauf einer Lipolyse durch Serumlipase interferometrisch verfolgt und damit die Lipasebestimmung nach der stalagmometrischen Methode von Michaelis und Rona (8) verglichen. Die Methode ist folgende: 100 ccm Wasser werden mit 1 ccm $\frac{1}{3}$ mol. primären Natriumphosphat und 7 ccm $\frac{1}{3}$ mol. sekundärem Natriumphosphat vermischt. Zu 50 ccm dieses Phosphatregulators wird 1 ccm frisches aktives Menschenserum hinzugefügt. Die Aenderung der Tropfenzahl in der Zeit von 0 bis 60 Minuten ist aus Tabelle I ersichtlich, ebenso der

Tabelle I.

IW.	VFl.	Tropfenzahl	Zeit	Temp.
434	Aqua dest.	112,6	0'	18° C
"	dgl.	—	10'	"
"	"	91,5	25'	"
"	"	86,6	45'	"
"	"	84,5	66'	"
Differenz zwischen Anfangs- und End- wert: 0		28,1		

IW. = Interferometerwert in Trommelteilen.

VFl. = Vergleichsflüssigkeit.

Temp. = Temperatur.

Interferometerwert des Gemisches während des Ablaufs der Reaktion. Die Verminderung der Tropfenzahl beträgt also 28,1, während sich interferometrisch eine Aenderung der Refraktion nicht nachweisen läßt. Es stimmt das mit dem von Doerr mitgeteilten Befund völlig überein; bei der interferometrischen Messung der Einwirkung von Urease auf Harnstoff erhält er dagegen eine beträchtliche Zunahme des Interferometerwertes (in 15 Minuten 211 Trommelteile, in der 2 ccm-Kammer gemessen), während die interferometrische Untersuchung einer Spaltung von Pepton durch Trypsin nur einen geringen Ausschlag ergibt.

Da es nun keineswegs feststeht, daß der Vorgang der Tributyrinspaltung durch die Serumlipase ein echter fermentativer Prozeß ist, so bin ich dazu übergegangen, die Wirkung der Speicheldiastase auf eine heiß gelöste 1-proz. Stärkelösung interferometrisch zu verfolgen. Zur Kontrolle wird die gleiche Stärkelösung ohne Speichelzusatz in der parafinierten Kammer von Zeit zu Zeit gemessen. Aus Tabelle II ist zu entnehmen, daß nach zweistündiger Einwirkung der Speicheldiastase eine Zunahme der Refraktion um 5 Trommelteile, nach 7 Stunden um 9 Trommelteile eingetreten ist, während in der Kontrolle nur eine Zunahme um 2 Trommelteile abgelesen wird, ein Ausschlag, der innerhalb der Fehlergrenzen liegt.

Gleichzeitig ist die Aufspaltung der Stärke in ihre niederen Bausteine dadurch kontrolliert worden, daß das Gemisch zu verschiedenen Zeiten mit Fehlingscher Lösung auf sein Reduktionsvermögen geprüft worden ist. Bereits 10 Minuten nach

Tabelle II.

	IW.	VFl.	Temp.	N. welch. Zeit
9 ccm Stärkelösung + 0,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lös. + 0,5 ccm filtrierter Speichel	521	Aqua dest.	22,4°	0 Min.
	523	dgl.	22,8°	20 "
"	524	"	"	25 "
"	"	"	"	1 Std.
"	526	"	23,7°	2 "
Korrigierter Wert bei 22,4°	528	"	22,4°	2 "
dgl.	530	"	22,4°	7 "
Differenz zwischen Anfangs- und Endwert	+ 9			
Kontrolle:				
9 ccm 1-proz. Stärkelösung + 1 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung	528	Aqua dest.	22,4°	0 Min.
dgl.	"	dgl.	23,1°	1 Std.
"	527	"	23,4°	2 "
"	530	"	22,4°	7 "
Differenz zwischen Anfangs- und Endwert:	+ 2			

Speichelzusatz ist die Fehlingsche Probe deutlich positiv, während die Kontrolle ohne Speichelzusatz, wie zu erwarten, kein Reduktionsvermögen aufweist. Der Zusatz von Lugolscher Lösung zu dem Anfangsgemisch ergibt eine deutliche Violettfärbung, während nach Ablauf der Diastaseeinwirkung ein Farbumschlag nicht mehr zu erkennen ist. Der gefundene Ausschlag (s. Tabelle II) stimmt gut mit dem Befund von Wolff überein (9), der die Wirkung von 0,5 ccm Speichel auf 25 ccm einer 1-proz. Stärkelösung in der 2 ccm-Kammer verfolgt und nach 2 Stunden einen Ausschlag von 10 Trommelteilen erhalten hat. Diesem Werte würde in der 0,5 ccm-Kammer also ein Ausschlag von etwa 6 Trommelteilen entsprechen, da Wolff mit einer stärker verdünnten Speichel-diastase gearbeitet hat.

Es ist nun auffallend, daß die mit dem Interferometer meßbare Refraktionserhöhung bei der Einwirkung von Trypsin auf Pepton verhältnismäßig gering ist und stets erst nach Stunden eintritt, wenigstens in Konzentrationen unter 1 Proz. (10). Auch Obermayer und Pick haben nur in der ersten Zeit der Verdauung eine refraktionserhöhende Wirkung des Trypsins festgestellt, während die chemische Untersuchung

auch noch nach deren Stillstand ein dauerndes Fortschreiten der Spaltungsvorgänge erkennen läßt. Die Refraktionserhöhung in den ersten 24 Stunden der Trypsinverdauung würde demnach nur den hydrolytischen Spaltungsvorgängen entsprechen, nach deren Ablauf aber noch weitere konstitutive Veränderungen eintreten sollen, die refraktometrisch nicht mehr nachzuweisen sind.

2. Präzipitation.

Die ursprüngliche Versuchsanordnung von Hirsch und Langenstraß, die von Doerr etwas verändert übernommen worden ist, besteht in einer indirekten Messung des bei der Flockung auftretenden Präzipitats. Ich führe zum Verständnis ein Versuchsprotokoll von Doerr an:

1) Gemenge von Serum + Antiserum $\bar{a}\bar{a}$ 10 ccm berechnet	1630 IW.
2) Ueberstehende Flüssigkeit nach der Ausflockung	1451 „
3) 1 minus 2 = berechneter Präzipitalwert	179 „
4) 1-proz. Thornitrat	132 „
5) 3 plus 4 = berechnete Präzipitatlösung	311 „
6) Präzipitatlösung beobachtet	306 „
7) Differenz zwischen 5 und 6	-5 „

Doerr hat hier zur Auflösung des Präzipitats Thornitratlösung verwendet, entsprechend seinen Ergebnissen „über kolloidchemische Wirkungen der Salze seltener Erden und ihre Beziehungen zu den Flockungsreaktionen der Antikörper“ (11). Doerr hat diese Methode, die das Präzipitat indirekt mißt, aufgegeben und durch direkte Beobachtung des Gemisches Antigen + Immuserum in der Interferometerkammer ersetzt und den beobachteten mit dem berechneten Wert des Gemisches verglichen. Das Ergebnis von Doerr's Untersuchungen läßt sich dahin zusammenfassen, daß eine Aenderung der Konzentration in dem Gemisch Serum + Antiserum nach erfolgter Ausflockung nicht eintritt. Die erhaltenen Ausschläge liegen sämtlich innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik. Meine eigenen Untersuchungen haben, wie aus Tabelle III ersichtlich, das gleiche Ergebnis gehabt. In einer ersten Versuchsreihe ist Rinder Serum in verschiedenen Verdünnungen mit einem hochwertigen Antiserum versetzt worden, der Interferometerwert des Gemisches zu verschiedenen Zeiten abgelesen und der beobachtete mit dem berechneten verglichen worden

Tabelle III.

	IW.	VFl.	Temp.	Nach welcher Zeit
1) Rinderserum 1:100 mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt	764	Aqua dest.	17,1°	N. erfolgter Flock. ist der IW. der gleiche geblieben
2) Antirinderserum 1:5	2051	dgl.	17,2°	
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	1355	"	"	
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	1357	"	"	
5) Differenz zwisch. 3 u. 4	- 2			
1) Rinderserum 1:500	710	Aqua dest.	17,0°	sofort nach 5 Min. nach 30 Min.
2) Immunserum 1:5	1913	dgl.	"	
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	1308	"	"	
dgl.	"	"	"	
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	1311,5	"	"	
5) Differenz zwischen 3 u. 4	- 3,5			
1) Rinderserum 1:1000	702/3	Aqua dest.	18,0°	sofort nach 5 Min. nach 2 Std.
2) Immunserum 1:5	1973	dgl.	"	
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	1342	"	"	
dgl.	1341/2	"	"	
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	1340	"	"	
5) Differenz zwisch. 3 u. 4	+ 2			

Gegen diese Versuche kann eingewendet werden, daß die Interferometerzahl des fünffach verdünnten Immunserums über 1500 Trommelteile beträgt, so daß der Wert eines Streifen-

Tabelle IV.

	IW.	VFl.	Temp.
1) Schweineserum 1:10	55	1,5 Proz. NaCl	19,0°
2) Immunserum 1:5	782	dgl.	"
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	414	"	"
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	418,5	"	"
5) Differenz zwischen 3 und 4	- 4,5		
1) Schweineserum 1:10	45	1,5 Proz. NaCl	19,5°
2) Antiserum 1:5	731	dgl.	"
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	378	"	"
4) 1 + 2 berechnet	388	"	"
5) Differenz zwischen 3 und 4	- 10	"	"
1) Schweineserum 1:10	43	1,5 Proz. NaCl	19,0°
2) Immunserum 1:5	748	dgl.	"
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	387	"	"
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	395,5	"	"
5) Differenz zwischen 3 und 4	- 8,5		
1) Schweineserum 1:1000	- 477	1,5 Proz. NaCl	19,5°
2) Immunserum 1:5	+ 746	dgl.	"
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	+ 133	"	"
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	+ 134,5		
5) Differenz zwischen 3 und 4	- 1,5		

paares größer ist als bei den unter 1500 liegenden Werten. Ich habe deshalb den gleichen Versuch mit Schweineserum + Schweineantiserum wiederholt, statt destilliertem Wasser jedoch 1,5-proz. Kochsalzlösung als Vergleichsflüssigkeit gewählt. Die Ergebnisse sind aus Tabelle IV zu entnehmen.

Auch hier sind also die Resultate die gleichen; sämtliche Ausschläge liegen innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik. Meine Ergebnisse decken sich also völlig mit den von Doerr mitgeteilten Befunden. Irgendwelche Anzeichen eines fermentativen Abbaues, wie Hirsch und Langenstraß annehmen, sind nicht nachweisbar.

3. Agglutination von Bakterien.

Die nun folgenden Untersuchungen über Agglutination von Bakterien durch homologes Immuneserum sind insofern vereinfacht, als ich nur in 2 Fällen den nach der Ausflockung beobachteten mit dem berechneten Wert des Gemisches Immuneserum + Bazillenaufschwemmung verglichen habe (s. Tabelle V).

Tabelle V.

	IW.	VFl.	Temp.
1) Agglutinierendes Pseudodysenterie D- Immuneserum 1:10	51	0,85 % NaCl	19,8°
2) Bakterienaufschwemmung	181	dgl.	20,0°
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	120	„	20,1°
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	116		
5) Differenz zwischen 3 und 4	+ 4		
1) Agglutinierendes Paratyphus B-Immuneserum 1:50	936	Aqu. dest.	21,5°
2) Bakterienaufschwemmung	1046	dgl.	„
3) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ beobachtet	988	„	„
4) 1 + 2 $\bar{a}\bar{a}$ berechnet	991		
5) Differenz zwischen 3 und 4	- 3		

Da auch hier die Differenz zwischen berechnetem und beobachtetem Wert nur geringfügig und innerhalb der Fehlergrenzen gelegen ist, so ist in den übrigen Untersuchungen nur der beobachtete Wert des Gemisches zu verschiedenen Zeiten vor und nach der Ausflockung angegeben. Da die Agglutininbildung nicht nur von der Konzentration des Immuneserums, sondern auch von der Menge der zugefügten Bakterienaufschwemmung abhängig ist, so sind 2 Versuchsreihen mit absteigender Konzentration des Immuneserums angelegt worden,

in denen einmal 1 Tropfen einer dichten Bakterienaufschwemmung, das andere Mal 0,5 ccm dieser Bakterienaufschwemmung zugefügt worden sind (s. Tabelle VI).

Tabelle VI.

	IW.	VFL.	Temp.	Zeit
No. I. 1) Agglutinierendes Pseudodysenterie A-Immuneserum 1:10 + 1 Tr. Bakterienaufschwemmung Vor der Ausflockung:	573	Aqua dest.	15,2°	0'
	570	dgl.	16,5°	90'
	"	"	16,75°	105'
	"	"	"	2 ^a
	574	"	15,2°	
2) Nach der Ausflockung: Korrigierter Wert	574	"	"	
3) Differenz zwischen 1 u. 2	+ 1			
No. II. 1) Dieselbe Immuneserumverdünnung + 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung Vor der Ausflockung:	1212	Aqua dest.	16,8°	0'
	1208/9	dgl.	17,5°	30'
	1200	"	18,0°	1 ^a
	1197	"	"	2 ^a
	1198	"	17,6°	16 ^a
	1201/02	"	"	
2) Korrigierter Wert nach d. Ausflockung	1201/02			
3) Differenz zwischen 1 u. 2	- 10,5			
No. III. 1) Agglutinierendes Pseudodysen. A-Immuneserum 1:50 + 1 Tr. Bakterienaufschwemmung. Vor der Ausflockung	768	Aqua dest.	16,6°	0'
	"	dgl.	17,0°	35'
	764	"	18,2°	2 ^a
	768	"	16,6°	
2) Nach der Ausflockung Korrigierter Wert	768	"	"	
3) Differenz zwischen 1 u. 2	0			
No. IV. 1) Dieselbe Immuneserumverdünnung + 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung. Vor der Ausflockung	766	Aqua dest.	16,9°	0'
	"	dgl.	17,1°	90'
	763	"	18,2°	2 ^a
	766	"	16,9°	
2) Nach der Ausflockung Korrigierter Wert	766	"	"	
3) Differenz zwisch. 1 u. 2	0			
No. V. 1) Pseudodys. A-Immuneserum 1:100 + 1 Tr. Bakterienaufschwemmung. Vor der Ausflockung	788	Aqua dest.	14,5°	0'
	786	dgl.	15,5°	1 ^a
	781	"	16,8°	2 ^a
	788	"	14,5°	
	788	"	"	
2) Nach der Ausflockung Korrigierter Wert	788	"	"	
3) Differenz zwischen 1 u. 2	0			

Tabelle VI (Fortsetzung).

	IW.	VFl.	Temp.	Zeit	
No. VI. 1) Dieselbe Immunserumverdünnung + 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung	740	Aqua dest.	16,75°	0'	
	739	dgl.	17,5°	1 ^h	
	2) Nach der Ausflockung	734	"	17,8°	2 ^h
	Korrigierter Wert	737	"	16,75°	
3) Differenz zwischen 1 u. 2	- 3				
No. VII. 1) Pseudodysenterie A-Immunserum 1 : 500 + 1 Tr. Bakterienaufschwemmung	698	Aqua dest.	17,0°	0'	
	694	dgl.	18,0°	1 ^h	
	2) Nach der Ausflockung	695	"	18,7°	2 ^h
	Korrigierter Wert	700	"	17,0°	
3) Differenz zwisch. 1 u. 2	+ 2				
No. VIII. 1) Dieselbe Immunserumverdünnung + 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung Vor der Ausflockung	740	Aqua dest.	15,0°	0'	
	736	dgl.	16,6°	75'	
	2) Nach der Ausflockung	734	"	17,6°	2 ^h
	Korrigierter Wert	741/2	"	15,0°	
3) Differenz zwisch. 1 u. 2	+ 1,5				

Diese 2 Versuche zeigen also, daß der beobachtete und berechnete Refraktionswert der Mischung von agglutinierendem Immunserum + homologer Bakterienaufschwemmung eine Differenz aufweist, die innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegt.

Die korrigierten Werte der Tabelle VI sind einer besonderen Temperaturkurve entnommen, die ich aus Ersparnisgründen hier nicht anführen kann und aus der hervorgeht, daß einer Temperaturerhöhung des Gemisches Immunserum + Bakterienaufschwemmung in 1° C eine Verminderung des Interferometerwertes um etwa 3 Trommelteile entspricht. Nach Anbringung dieser Temperaturkorrekturen sind die Differenzen in dem Gemisch Immunserum + Bakterienaufschwemmung sofort und 2 Stunden später nach erfolgter Ausflockung so gering, daß sie als innerhalb der Fehlergrenzen liegend angesehen werden müssen. Eine Ausnahme macht No. 2 der Tabelle VI, wo auch nach Anbringung der Temperaturkorrektur

ein Ausschlag von minus 10,5 Trommelteilen bestehen bleibt. Hier dürfte ein Versuchsfehler vorgelegen haben, der leider nicht mehr aufgeklärt werden kann. Wir müssen also feststellen, daß bei der Agglutination von Bakterienaufschwemmungen durch homologes Immuneserum eine Konzentrationsänderung des Gemischs nach der Ausflockung nicht nachgewiesen werden kann.

4. Komplementbindung und erste Phase der Wassermannschen Reaktion.

In meiner ersten Arbeit habe ich angegeben, daß bei der Komplementbindung von Schüttelextrakten aus Typhusbazillen mit dem homologen Immuneserum nach erfolgter Bindung bei 37° eine geringe Konzentrationszunahme um 7 bzw. 9 Trommelteile erfolgt. Eine Nachprüfung mit einem aus Pseudodysenterie A-Bazillen hergestellten Schüttelextrakt ergibt nun überraschenderweise, daß auch bei nach einer Stunde vollzogener Komplementbindung der Interferometerwert des Gemisches Antigen + Immuneserum + Komplement sich nicht verändert hat. Zum Vergleich ist dasselbe Gemisch mit den nötigen Kontrollen nach Vollzug der Komplementbindung mit hämolytischem System versetzt worden. Alle Röhrchen, in denen abfallende Antigenmengen + Immuneserum + Komplement sich befinden, zeigen deutliche Hemmung der Hämolyse, während die Kontrollen vollkommene Lösung der Blutkörperchen erkennen lassen.

Hauptversuch:

0,5 ccm Pseudodysenterie-A-Immuneserum	0,05 ccm Antigen	0,05 ccm Komplement	Keine Hämolyse
dgl.	0,025 „ „	dgl.	dgl.
„	0,02 „ „	„	„
„	0,01 „ „	„	„
„	0,05 „ „	„	Kompl. Hämolyse
1,0 ccm Pseudodysenterie-A-Immuneserum		„	dgl.
1,0 ccm Normalserum	0,03 „ „	„	„

In Tabelle VII ist der Ausfall der interferometrischen Messung unseres Komplementbindungsversuches abzulesen.

Tabelle VII.

	IW.	VFL.	Temp.	Zeit
1) 0,03 Antigen + 0,5 Immuns Serum + 0,05 Komplement (Gesamtmenge = 1,5 ccm)	952/3	1,5 % NaCl dgl.	20°	0' 30'
2) Nach vollzogener Komplementbindung	952/3	"	"	1 ^b
3) Differenz zwischen 1 und 2	0			

Also auch hier keine interferometrisch meßbare Konzentrationsänderung, obwohl man sie erwarten möchte, wenn man die Komplementbindung sich so vorstellt, daß eine makroskopisch nicht sichtbare Ausflockung dem Adsorptionsvorgang der Komplementfixierung vorausgeht.

Wie verhält sich nun bei der interferometrischen Messung die erste Phase der Wassermannschen Reaktion? Die Ergebnisse unserer ersten Arbeit über diese Frage sind nicht eindeutig ausgefallen. Bei einzelnen Wassermann-positiven Seren wird eine Konzentrationsänderung ganz vermißt, bei einzelnen zeigt sich eine Konzentrationsverminderung und bei der Mehrzahl eine Vermehrung des Refraktionswertes. Die wiederholte Untersuchung in der paraffinierten Interferometerkammer hat nun ergeben, daß auch hier eine interferometrisch meßbare Refraktionsänderung nicht eintritt, wie aus Tabelle VIII ersichtlich. Als erste Untersuchung wird der nach vollzogener Komplementbindung beobachtete mit dem berechneten Interferometerwert des Gemischs Antigen + Syphilitikerserum + Komplement verglichen. Bei den übrigen Untersuchungen ist auch hier nur der beobachtete Wert vor und nach erfolgter Komplementbindung in Vergleich gesetzt.

Unsere neuen Untersuchungen zeigen also einwandfrei, daß auch bei der ersten Phase der Wassermannschen Reaktion eine interferometrisch nachweisbare Änderung der Konzentration nicht eintritt. Die eingetragenen Temperaturkorrekturen sind wiederum einer besonderen Temperaturkurve entnommen.

Tabelle VIII.

	IW.	VFl.	Temp.	Zeit
No. I.	1) 0,5 ccm positives Serum 1:5	713	1,5 % NaCl	19,0°
	2) 0,5 ccm Extraktverdünung + 0,4 ccm Komplement 1:10	1096	dgl.	18,5°
	3) 1 und 2 vor der Komplementbindung	966	"	"
	4) 1 und 2 nach der Komplementbindung	968	"	19,0°
	5) Differenz zwischen 3 u. 4	+ 2		
	6) Berechneter Wert von 3	968		
	7) Differenz zwischen 3 u. 6	- 2		
	8) " " 4 " 6	± 0		
No. II.	1) Pos. Ser. 0,1 + Antigen + 0,4 Komplement. Gesamtmenge 1,5 ccm	2333	Aqua dest.	17,6°
		"	dgl.	"
		"	"	17,25°
	2) Nach der Komplementbindung (korrig. Wert)	2333,5	"	17,5°
3) Differenz zwischen 1 u. 2	+ 0,5			
No. III.	1) Pos. Ser. wie bei No. 2	2323	Aqua dest.	16,5°
		2327	dgl.	"
		"	"	"
	2) Nach der Komplementbindung	"	"	"
3) Differenz zwischen 1 u. 2	+ 4			
No. IV.	1) Pos. Ser. + Antigen + Kompl. wie bei Serum No. 2	2352	Aqua dest.	17,25°
		"	dgl.	"
		"	"	17,75°
	2) Nach der Komplementbindung	2349	"	18,25°
	Korrigierter Wert	2352		
3) Differenz zwischen 1 u. 2	± 0			
No. V.	1) Negativ. Ser. + Antigen + Kompl. wie bei Serum No. 2	2373	Aqua dest.	17,2°
		"	dgl.	"
		nicht ablesbar	"	17,6°
	2) Nach der Komplementbindung	2373	"	17,2°
	3) Differenz zwischen 1 u. 2	± 0		

5. Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke (D. M.) und Doldsche Trübungsreaktion.

In unserer ersten Mitteilung über interferometrische Untersuchungen der Reaktion nach Sachs-Georgi habe ich

ebenso wie bei der Messung der ersten Phase der Wassermannschen Reaktion nicht eindeutige Resultate erhalten. Die Nachprüfung dieser Befunde hat ergeben, daß auch bei dem Ablauf der Flockungsreaktion nach Sachs-Georgi eine Refraktionsänderung in dem Gemisch Antigen + Serumverdünnung nicht festgestellt werden kann. Ich teile als erstes den Ablauf dieser Reaktion bei dem Serum eines Luetikers mit, wo der beobachtete Interferometerwert des Gemisches Extraktverdünnung + Serumverdünnung vor und nach der Ausflockung mit dem berechneten Wert verglichen wird. Die nach Vorschrift hergestellte Extraktverdünnung zeigt gegenüber einer Kochsalzlösung 4:110 den Interferometerwert 1160, die Kochsalzlösung 4:110 gegenüber Aqua destillata den Interferometerwert 2881, eine Zahl, die wegen des steigenden Wertes eines Streifenpaares bei Messungen über 1500 Trommelteilen nach der Eichkurve auf 2658 korrigiert werden muß. Aus Tabelle IX geht nun hervor, daß der so berechnete Wert des Gemisches Extraktverdünnung + Serumverdünnung nur um 2 Trommelteile von dem beobachteten Interferometerwert abweicht, eine Differenz, die also innerhalb der Fehlergrenzen gelegen ist.

Tabelle IX.

	IW.	VFL.	Temp.	
1) Pos. Serum 0,1 ccm + 9 Teile phys. Kochsalzlösung	1357	Aqua dest.	19,5°	beobachtet
2) Extraktverdünnung	1165	NaCl-Lösung 4:110	19,5°	„
3) NaCl-Lösung 4:110	2881	Aqua dest.	19,5°	„
4) Korrigierter Wert von 3	2658	.	.	berechnet
5) Also Extraktverdünnung (2) gegenüber Aqu. dest. = 2 + 4 =	3823	dgl.	.	„
6) 2 Teile von 1 + 1 Teil von 5	2179	.	.	„
7) 2 Teile von 1 + 1 Teil von 5 vor der Ausflockung	2177	„	.	beobachtet
8) Dasselbe nach der Ausflockung 16 ⁿ später	2177	„	.	„
9) Differenz vor und nach der Ausflockung	± 0			
10) Differenz zwischen beobachtetem und berechnetem Wert	— 2			

Bei den weiterhin in Tabelle X mitgeteilten Beobachtungen ist nur der Anfangswert des Gemisches Antigenverdünnung +

Serumverdünnung mit dem nach der Ausflockung beobachteten Interferometerwert verglichen. Auch hier liegen die Ausschläge innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik.

Tabelle X.

	IW.	VFl.	Temp.	Zeit
No. I. 1) Pos. Ser. 1:10 + Extraktverd. vor der Ausflockung	662/61	1,5 ‰ NaCl dgl.	16,5° 16,5°	0' 20 ^b
2) nach der Ausflockung	663,62			
3) Differenz zwischen 1 und 2	+ 1			
No. II. 1) Neg. Ser. 1:10 + Extraktverd. vor der Ausflockung	1324	1,5 ‰ NaCl dgl.	15,0° 15,2°	0' 20 ^b
2) nach der Ausflockung	1322			
3) Differenz zwischen 1 und 2	- 2			
No. III. 1) Neg. Ser. 1:10 + Extraktverd. vor der Ausflockung	749	1,5 ‰ NaCl dgl.	18,0° 18,0°	0' 20 ^b
2) nach der Ausflockung	746/47			
3) Differenz zwischen 1 und 2	- 2,5			

Ganz ähnliche Befunde hat nun die Untersuchung der dritten Modifikation nach Meinicke ergeben, wie aus Tabelle XI ersichtlich. Auch hier nur geringe Differenzen des Interferometerwertes vor und nach der Ausflockung, die als Zeichen einer Konzentrationsänderung infolge der Ausflockung nicht verwertet werden können. Interessant ist die Untersuchung des Serums No. III, wo die Differenz zwischen dem Interferometerwert des Gemisches vor und nach der Ausflockung überraschenderweise — 232 Trommelteile beträgt. Daß hier ein grober Versuchsfehler vorgelegen hat, geht daraus hervor, daß die erneut vorgenommene Messung der als Vergleichsflüssigkeit dienenden Kochsalzlösung eine Refraktionserhöhung dieser Kochsalzlösung um genau 232 Trommelteilen ergibt. Es ist also unbedingt notwendig, bei größeren Ausschlägen stets die Vergleichsflüssigkeit nochmals interferometrisch zu messen, um derartig grobe Versuchsfehler aufzudecken. Um das Tabellenmaterial nicht unnötig zu vergrößern, bringe ich in Tabelle XI nur einige Beispiele aus der beträchtlichen Zahl von interferometrischen Messungen, die für die dritte Modifikation nach Meinicke ausgeführt worden sind.

Tabelle XI.

	IW.	VFl.	Temp.	Zeit	
No. I. 1) Pos. Serum + Extraktverd. vor der Ausflockung	— 283	10 % NaCl dgl.	16,2°	0'	
	2) nach der Ausflockung		— 286	16,2°	16 ^h
	3) Differenz zwischen 1 und 2		— 3		
No. II. 1) Pos. Serum + Extraktverd. vor der Ausflockung	798	7,4 % NaCl dgl.	18,2°	0'	
	2) nach der Ausflockung		796	17,0°	16 ^h
	3) korrigierter Wert		799		
No. III. 1) Pos. Serum + Extraktverd. vor der Ausflockung	403	7,4 % NaCl dgl.	20,0°	0'	
	364		20,0°	6 ^h	
	226		20,0°	16 ^h	
	2) nach der Ausflockung		171	20,0°	24 ^h
	3) Differenz zwischen 2 und 3		— 232!		
4) Vergleichsflüssigkeit in der Kammer	+ 232	„			
5) 3 + 4 = wahre Differenz vor u. nach der Ausflockung	± 0				
No. IV. 1) Neg. Serum + Extraktverd. dgl.	434	7,4 % NaCl dgl.	19,0°	0'	
	2) dgl.		436	18,9°	16 ^h
	3) Differenz zwischen 1 und 2		+ 2		
No. V. 1) Neg. Serum + Extraktverd. dgl.	680	7,4 % NaCl dgl.	17,1°	0'	
	2) dgl.		682	17,5°	16 ^h
	3) Korrigierter Wert		683		
	3) Differenz zwischen 1 und 2	+ 3			

Der Vollständigkeit halber bin ich weiterhin dazu übergegangen, die makroskopische Trübungsreaktion nach Dold interferometrisch zu messen, und bin auch bei dieser einfachen Methode des Luesnachweises zu denselben Resultaten gekommen, wie sie die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke ergeben haben. Sowohl bei dem untersuchten positiven wie negativen Serum ist ein Ausschlag im Sinne einer Konzentrationsänderung des Gemisches nicht erfolgt (Tabelle XII).

Tabelle XII.

	IW.	VFl.	Temp.	Zeit	
No. I. 1) Pos. Serum 0,4 ccm + 2 ccm Extraktverdünnung 1:10	2155	1,5 % NaCl dgl.	17,0°	sofort	
	2) dgl. nach der Trübung		2156	17,0°	3 ^h
	3) Differenz zwischen 1 und 2		+ 1		
No. II. 1) Neg. Serum 0,4 ccm + 2 ccm Extraktverdünnung 1:10	2051	1,5 % NaCl dgl.	17,5°	sofort	
	2) dgl. nach der Trübung		2053	17,5°	3 ^h
	3) Differenz zwischen 1 und 2		+ 2		

6. Anaphylatoxinbildung.

Die Untersuchung der spezifischen Präzipitation von Eiweißantigenen durch homologes Immenserum hat, wie oben gezeigt worden ist, einen mit Hilfe des Flüssigkeitsinterferometers meßbaren Abbau des Antigens durch seine Antikörper nicht ergeben. Doerr hat aus seinen gleichartigen Befunden den Schluß gezogen, daß die von Calcar und Hirsch vertretene Hypothese einer fermentativen Spaltung der Eiweißantigene durch ihre Antikörper jeder tatsächlichen Grundlage entbehrt. „Die bisherigen Anschauungen über das Wesen und den Mechanismus der Immunpräzipitation wie auch der Anaphylaxie bestehen zu Recht.“ So einleuchtend es ist, daß Doerr sich berechtigt glaubt, die bei der Immunpräzipitation gewonnenen Anschauungen auch auf die Anaphylaxie zu übertragen, so wäre es doch wünschenswert auch diesen Vorgang der Anaphylatoxinbildung interferometrisch zu verfolgen. Ich habe diese Lücke durch folgenden Versuch auszufüllen gesucht: eine Schrägagarkultur von *Vibrio Metschnikoff*, 3 Stunden bei 60° abgetötet, wird mit Kochsalzlösung 0,85-proz. gewaschen; zum Bodensatz der zentrifugierten Bakterienaufschwemmungen werden 4 ccm Normalmeerschweinchenserum hinzugefügt und das Gemisch 24 Stunden im Eisschrank gehalten. Das Gemisch wird sofort nach der Vereinigung von Bakterien und Komplement interferometrisch gemessen, ein zweites Mal 24 Stunden später nach erfolgter Anaphylatoxinbildung. Zur Kontrolle wird die überstehende Flüssigkeit des Zentrifugats in die Vena jugularis eingespritzt: typische anaphylaktische Krämpfe. Tod des Tieres in derselben Nacht. Sektionsbefund: mäßige Blähungen der linken Lunge, deutliche Injektion der Mesenterialgefäße. Der Vergleich des Interferometerwertes des injizierten Gemisches sofort nach der Vereinigung von Antigen und Komplement und 24 Stunden später nach erfolgter Anaphylatoxinbildung ergibt keinen interferometrisch meßbaren Ausschlag (siehe Tabelle XIII). Das trübe Gemisch ist unverdünnt nicht meßbar; es ist deshalb vor und nach der Anaphylatoxinbildung eine zehnfache Verdünnung des Kammerinhalts hergestellt worden, die gegen 7,4-proz. Kochsalzlösung ausgemessen worden ist.

Tabelle XIII.

	IW.	VFl.	Temp.	Zeit
1. 10fach verdünntes Antigen + Komplement	190	7,4% NaCl	17°	0 Min.
2. Dasselbe nach Anaphylatoxinbildung	191	„ dgl.	„	24 Std.
3. Differenz zwischen 1 und 2	+ 1			

Hierdurch ist also auch die experimentelle Grundlage dafür erbracht, daß bei der Anaphylatoxinbildung aus Bakterien im Reagenzglas ein fermentativer Abbau des Antigens durch den Antikörper interferometrisch nicht nachweisbar ist.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend müssen wir also sagen, daß weder bei der Präzipitation von Antigeneiweiß noch bei der Agglutination von Bakterien durch homologes Immunserum infolge der Ausflockung eine Konzentrationsänderung in dem Gemisch Antigen + Immunkörper interferometrisch nachweisbar ist. Die Anaphylatoxinbildung aus Bakterien im Reagenzglas zeigt ebenfalls keine meßbare Änderung der Refraktion. Ebenso wenig ergibt die interferometrische Untersuchung der Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke (D.M.) sowie die der Dold'schen Trübungsreaktion eine Änderung des Refraktionswertes. Die hiervon abweichenden Resultate unserer ersten Mitteilung über die Interferometrie serologischer Vorgänge erklären sich durch Fehlerquellen der Methodik, die bei der Nachprüfung und Erweiterung der Fragestellung vermieden worden sind.

Die Untersuchung einer Lipolyse durch das fettspaltende Ferment menschlichen Serums zeigt ebenfalls keine Änderung des Refraktionswertes, obwohl in der Versuchsanordnung von Michaelis und Rona eine deutliche Änderung der Oberflächenspannung festgestellt werden kann. Dagegen gibt die Einwirkung von Speicheldiastase auf Stärkelösung entsprechend den Befunden von Wolff (9) eine deutlich meßbare Zunahme der Refraktion. Aus diesen Befunden können wir nun folgendes schließen:

1) Die Annahme von Calcar und Hirsch, daß bei der Immunpräzipitation ein Antigenabbau erfolgt, ist experimentell mit Hilfe des Zeiß'schen Flüssigkeitsinterferometers nicht nachweisbar. Die von Doerr mitgeteilten Befunde können in vollem Umfange bestätigt werden.

2) Doerr vertritt deshalb die Anschauung, daß es sich bei der Immunpräzipitation und bei der Anaphylaxie wohl um rein physikalische Prozesse handelt, da der interferometrische Nachweis einer hydrolytischen Spaltung von Antigen-eiweiß durch den homologen Antikörper nicht gelingt. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht die Feststellung, daß bei der Einwirkung von echten Fermenten auf entsprechendes Substrat ein deutlicher Ausschlag im Sinne einer Refraktionserhöhung durch das Interferometer nachweisbar ist. Dieser Ausschlag ist bei der Wirkung von Urease auf Harnstoff sehr erheblich, bei der von Trypsin auf Peptonlösung in den ersten 24 Stunden gering, aber noch meßbar, um nach dieser Zeit zum Stillstand zu kommen; auch die Einwirkung von Speicheldiastase auf Stärkelösung ergibt eine deutliche Retraktionserhöhung nach Ablauf der Reaktion. Bei der Einwirkung von Serumlipase auf Tributyrin ist dagegen eine Aenderung der Refraktion nicht feststellbar. Da es aber keineswegs sicher ist, daß es sich hier um eine echte Fermentwirkung handelt, so kann das Fehlen jeder Refraktionsänderung nicht zu dem Schlusse führen, daß eben auch die Immunpräzipitation ein fermentativer Vorgang ist, bei dem eine Aenderung der Refraktion während des Ablaufs der Reaktion vermißt wird. Vielmehr spricht der negative Ausfall der interferometrischen Untersuchung der Lipolyse dafür, daß es sich hier nicht um eine mit hydrolytischer Spaltung des Tributyrins einhergehende echte Fermentwirkung handelt.

3) Das gleiche gilt nun auch für die übrigen von uns untersuchten serologischen Vorgänge (Agglutination von Bakterien, Komplementbindung, erste Phase der Wassermannschen Reaktion, Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke, Doldische Trübungsreaktion und Anaphylatoxinbildung in vitro). Auch hier ist ein Antigenabbau mit Hilfe des Zeißschen Flüssigkeitsinterferometers bei Benutzung der 0,5 ccm-Kammer nicht nachweisbar. Allerdings besteht die Möglichkeit, daß bei diesen Vorgängen chemische Aenderungen „konstitutiver Art“ sich abspielen, wie Obermayer und Pick (13) aus ihren refraktrometrischen Untersuchungen über die Trypsinverdauung geschlossen haben, die jedoch mit Hilfe des Zeißschen Flüssigkeitsinterferometers nicht nachweisbar sind. Der un-

mittelbare Beweis jedoch für die Richtigkeit dieser Anschauung bei den von uns untersuchten Immunitätsvorgängen ist bisher nicht erbracht. Wir möchten deshalb auch für diese Immunitätsreaktionen die von Doerr für die Immunpräzipitation und für die Anaphylaxie vertretene Ansicht übernehmen, „daß ihre Deutung als rein physikalische Prozesse durch die Resultate der Interferometrie bedeutend an Boden gewinnt“.

Literaturverzeichnis.

- 1) Bachmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1922, Heft 6.
- 2) Doerr und Berger, Biochem. Zeitschr., Bd. 123, 1921, Heft 1/4.
- 3) Hirsch, Fermentforschung, Bd. 2, 1919, Heft 4. — Langenstraß, Fermentforschung, Bd. 3, 1919, Heft 1.
- 4) Löwe, zitiert nach Doerr s. 2) S. 154.
- 5) s. 3)
- 6) s. 3)
- 7) Mark, Chemikerzeitung, 1912, No. 36, S. 357.
- 8) Michaelis und Rona, Bochem. Zeitschr., 1911, No. 31, S. 343.
- 9) Wolff, Chemikerzeitung, 1915, No. 18, S. 105.
- 10) Obermayer und Pick, Beitr. zur chem. Phys. u. Path., Bd. 7. 1915, S. 331.
- 11) Doerr, Kolloidzeitschr., Bd. 27, 1920, Heft 6.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der med. Akademie
Osaka, Japan.]

Beitrag zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums.

Von Prof. Dr. Y. Fukuhara.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Juni 1922.)

I.

Schon vor 5 Jahren¹⁾ schlug ich auf Grund der seit 1916 vorgenommenen Untersuchungen vor, bei allen Ruhrseren neben den antiinfektiösen Prüfungen den Antitoxingehalt gegenüber Shigabazillentoxyne zu bestimmen und das von mir begründete antitoxische Standardserumverfahren einzuführen.

1) Vortrag gehalten auf der 25. Versammlung der Jap. Hygienischen Gesellschaft (April 1917).

Seitdem ist die Prüfung der vom Seruminstitut zu Osaka (Leiter: Prof. A. Sata) in den Handel gebrachten Ruhrsera mittels meiner Standardeinheit ausgeführt worden. Ich habe eine ausführliche Mitteilung der seither beobachteten Ergebnisse in der Mitteilung der Mediz. Gesellschaft zu Osaka¹⁾ und deren abgekürzte Beschreibung in „The Journal of Immunology“²⁾ veröffentlicht, wobei ich in der Tabelle V meine 3-jährigen (1916—1918) Erfahrungen über die Schwankungen der letalen Dosis und der Limes-Tod-Dosis von Gift „No. 9“ übersichtlich dargestellt hatte.

Die Bestimmung des Antitoxingehaltes gegenüber Shigabazillentoxin erfolgt nach der von uns ausgearbeiteten Methodik in Versuchen an Kaninchen mit intravenöser Injektion von Toxin-Serumgemischen.

Sachs und Georgi³⁾ haben in ihrer Arbeit mitgeteilt, daß weiße Mäuse zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterieserums geeignet seien. Daß Sachs die intravenöse Applikationsweise zum Dysenteriestudium eingeführt hat, ist ein Fortschritt. Da die Sachs'sche Arbeit in praktischer Hinsicht großen Wert zu haben schien, habe ich es unternommen, die Brauchbarkeit von Mäusen zur Bemessung des Dysenterieserums zu untersuchen und zu prüfen, ob meine Standardeinheit bei Mäusen ebenso genau eingestellt werden kann wie bei Kaninchen.

II.

Die von mir als Standard aufgefaßte Immunitätseinheit⁴⁾ stellt diejenige Menge Antitoxin dar, welche von einem bestimmten, damals zur Verfügung stehenden Gift das 100fache der Dosis letalis so absättigt, daß nach intravenöser Injektion dieses Gemisches bei Kaninchen keine Krankheitssymptome eintreten.

Zur Wertbestimmung eines zu prüfenden Serums stellt man zuerst die Limes-Tod-Dosis fest. Als Limes-Tod-Dosis wird diejenige Menge Gift bezeichnet, die bei Hinzufügen von 1 Immunitätseinheit eben den Tod des Kaninchens innerhalb 4 Tagen (früher innerhalb 4 bis 5 Tagen) herbeiführt. Man

1) Bd. 18, Heft 6.

2) 1919, No. 5.

3) Medizin. Klinik, 1918, No. 25.

4) Genaueres siehe meine frühere Arbeit.

mischt mit der Dosis verschiedene Verdünnungen des Serums, eine Stunde (jetzt eine halbe Stunde) bei 37° C gehalten, und spritzt sie dann Kaninchen intravenös ein. Auf diese Weise ermittelt man die Mindestmenge von Serum, welche eben den Tod der Tiere innerhalb 4 Tagen hervorruft. Die Injektionen an Kaninchen erfolgten stets in die Ohrvenen, und zwar in einem Gesamtvolumen von 4 ccm.

Die Injektion an Mäusen erfolgte in einem Gesamtvolumen von 0,5 ccm in die Schwanzvenen, wie es Sachs und Georgi beschrieben. Es sei noch bemerkt, daß die zur Verfügung gestandenen Mäuse sogenannte japanische Tanzmäuse waren.

Es wurden geprüft

- 1) die letale Dosis an Kaninchen und Mäusen,
- 2) die Limes-Tod-Dosis an Kaninchen und die Prüfungsdosis (nicht Limes-Tod-Dosis) gegenüber $\frac{1}{10}$ Antitoxineinheit an Mäusen.

Als Dysenterietoxine kann entweder Bouillongift oder Trockengift dienen. Bei den folgenden Versuchen verwendeten wir Trockengift „D“ und „E“.

Diese Versuche wurden durch Dr. S. Goto mit etwa 150 Kaninchen und 200 Mäusen ausgeführt. Aus Gründen der Raumersparnis unterlasse ich die Wiedergabe des größten Teils der Protokolle. Die Ergebnisse werden in den Tabellen I und II übersichtlich dargestellt.

Tabelle I.

Uebersicht über die Ergebnisse der Versuche zur Prüfung der einfachen letalen Dosis von Gift „D“ und „E“ an Kaninchen und Mäusen.

Gift	Dosis letalis minima	
	an Kaninchen iv.	an Mäusen iv.
Trockengift „D“	0,004 g	ca. 0,00039 g
„ „E“	ca. 0,0046 „	0,0045 „

Tabelle II.

Uebersicht über die Ergebnisse der Versuche zur Bestimmung der Limes-Tod-Dosis.

Gift	Limes-Tod-Dosis für Kaninchen	Prüfungsdosis für Mäuse (mit ein Zehntel Antitoxineinheit bemessen)
Trockengift „D“	0,028	0,003
„ „E“	0,29	0,024

Aus der Tabelle I ergibt sich, daß die tödliche Dosis beider Gifte bei Kaninchen und Mäusen nicht sehr verschieden ist. Die Giftempfänglichkeit der Mäuse, auf Körpergewicht berechnet, ist daher etwa 100mal niedriger als diejenige der Kaninchen.

Bei Mäusen kann man ohne weiteres die Limes-Tod-Dosis nicht bestimmen, denn das Gesamtvolumen der Injektionsflüssigkeit ist nur bis 0,5 ccm gestattet. Infolgedessen bestimmten wir bei Mäusen nicht die Limes-Tod-Dosis, sondern die indirekte Tod-Dosis gegenüber $\frac{1}{10}$ der Antitoxineinheit (s. Tabelle II). Diese Tod-Dosis wird als die Prüfungsdosis zur Serumbemessung verwendet. Um zu zeigen, auf welche Weise die Prüfungsdosis für Mäuse bestimmt wird, lassen wir hier ein Versuchsbeispiel folgen:

Je zwei weiße Mäuse erhalten $\frac{1}{10}$ der Antitoxineinheit und absteigende Mengen Dysenterietoxin „E“. Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Menge des Giftes	Datum	Ergebnisse	Menge des Giftes	Datum	Ergebnisse
0,001	15. Febr. 1922	0	0,018	25. Febr. 1922	0
"	" " "	† 5	"	" " "	0
0,002	" " "	0	0,02	7. " "	† 2
"	" " "	0	"	" " "	† 3
0,004	" " "	0	"	27. " "	0
"	" " "	† 5	"	" " "	0
0,006	13. " "	0	"	28. " "	† 2
"	" " "	† 2	"	" " "	0
0,008	" " "	0	0,021	4. März "	0
"	" " "	0	"	" " "	0
0,009	20. " "	0	0,022	25. Febr. "	† 2
"	" " "	0	"	" " "	† 5
0,01	7. " "	† 4	0,023	9. März "	† 2
"	" " "	† 4	"	" " "	0
"	20. " "	0	0,024	25. Febr. "	† 2
"	" " "	† 3	"	" " "	† 2
"	22. " "	0	"	11. März "	† 2
"	" " "	0	"	" " "	† 2
0,012	20. " "	† 3	0,03	7. Febr. "	† 2
"	" " "	0	"	" " "	† 3
0,014	" " "	0	0,04	3. " "	† 2
"	" " "	0	"	" " "	† 2
0,016	" " "	0	"	" " "	† 2
"	" " "	† 2	"	" " "	† 2

In dieser und den folgenden Tabellen bedeuten: 1, 2, usw., Tod nach 1, 2, usw. Tagen. 0 = überlebt. kr. = krank. Erh. = Erholung.

III.

Mit einer auf die oben erwähnte Weise festgestellten Prüfungsdosis für Mäuse werden nun verschiedene Verdünnungen eines zu prüfenden Serums gemischt, eine halbe Stunde stehen gelassen und dann Mäusen intravenös eingespritzt. Auf diese Weise findet man die Mindestmenge, welche gerade den Tod der Tiere innerhalb von 4 Tagen hervorruft. Das folgende Protokoll zeigt ein Beispiel (Tabelle IV). Aus der Tabelle IV geht hervor, daß wir mit $\frac{1}{100}$ ccm Serummenge an die Grenze der für die Tiere in 4 Tagen tödlichen Wirkung gelangen. Da wir mit einem Zehntelsystem gearbeitet haben, müssen wir die in üblicher Weise gewonnene Zahl durch 10 dividieren: $1,0 \text{ ccm} \div 0,01 \text{ ccm} \div 10 = 10$. Das Serum „No. 84“ enthält also 10 Antitoxineinheiten pro ccm.

Wir haben gleichzeitig das Serum „84“ durch Kaninchenversuche bemessen und hierbei die gleichen Resultate wie bei den Mäuseversuchen erhalten (Tabelle V). Wie die Tabelle V zeigt, enthält das Serum „84“ 10 Antitoxineinheiten pro 1,0 ccm.

Tabelle IV.

Wertbestimmung des Dysenterieserums „No. 84“ an Mäusen.

Giftmenge: 0,0024 Gift „E“, d. h. Prüfungsdosis für $\frac{1}{10}$ Antitoxineinheit.

Serummenge	Ergebnisse	Serummenge	Ergebnisse
$\frac{1}{60}$ ccm	0	$\frac{1}{150}$ ccm	† 2
„	† 2	„	† 2
$\frac{1}{80}$ ccm	0	$\frac{1}{200}$ ccm	† 4
„	0	„	† 4
$\frac{1}{100}$ ccm	† 2	$\frac{1}{250}$ ccm	† 2
„	† 3	„	† 2

Tabelle V.

Wertbestimmung des Dysenterieserums „84“ an Kaninchen.

Giftmenge: 0,29 Gift „E“, d. h. Limes Tod-Dosis.

Serummenge	Ergebnisse	Serummenge	Ergebnisse
$\frac{1}{6}$ ccm	0	$\frac{1}{15}$ ccm	† 2
„	† 5	„	† 2
$\frac{1}{8}$ ccm	0	„	† 3
„	kr. Erh.	$\frac{1}{20}$ ccm	† 4
$\frac{1}{10}$ ccm	† 2	„	† 4
„	0	$\frac{1}{25}$ ccm	† 2
„	† 4	„	† 2

IV.

Die Frage, wieviel Antitoxineinheiten ein Kubikzentimeter des in den Handel zu bringenden Dysenterieserums mindestens enthalten muß, ist noch nicht gelöst.

In meinem Institut wurden die hier in Japan in den Handel gebrachten Dysenteriesera von Zeit zu Zeit untersucht. Wir fanden, daß bei den Kaninchenversuchen mittels meines Standardmaßes der Antitoxingehalt der Sera zwischen 3 und 42 AE. liegt. Solche minderwertigen Sera, welche nur auf 3 bis 10 AE. ausgewertet wurden, bezogen sich auf polyvalente Sera. Bei den Seris, die ausschließlich mit Kulturen der Shigabazillen hergestellt waren, betrug der Antitoxingehalt 20 und noch mehr Antitoxineinheiten.

Auf Grund obiger Erfahrungen könnte man 20 AE. in einem Kubikzentimeter Dysenterieserum als Mindestmaß gelten lassen.

Zusammenfassung.

1) Zur Prüfung des Dysenteriegiftes und zur Wertbemessung des Dysenterieserums sind Mäuse insofern auch geeignet, als man das Toxin bzw. die Toxin-Antitoxinmischung den Tieren intravenös spritzt. Die Befunde von Sachs und Georgi sind also bestätigt.

2) Die Giftempfänglichkeit der Mäuse auf Körpergewicht berechnet, ist etwa 100mal niedriger als die der Kaninchen.

3) Unter Verwendung meines Standardserums kann man auch das Dysenterieserum auf seinen Antitoxingehalt durch Prüfung an Mäusen kontrollieren. Man muß dabei mit der $\frac{1}{10}$ -Antitoxineinheit meines Standardserums arbeiten.

4) Nach unseren bisherigen Erfahrungen in Japan könnte man vielleicht 20 Antitoxineinheiten in einem Kubikzentimeter Dysenterieheilsersums als Mindestmaß gelten lassen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorio de Investigaciones de la Secretaria de Sanidad de la Republica de Cuba in Habana.]

Vergleichende Blutuntersuchungen an Meerschweinchen bei experimenteller Infektion mit Gelbfieber und Weilscher Krankheit.

Von Professor Dr. **W. H. Hoffmann**, Habana,
Marine-Generaloberarzt a. D.

Mit 19 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Juni 1922.)

Im April 1920 erhielt das hiesige Laboratorium von Noguchi einen Stamm von *Leptospira icteroides*, als Stamm „Mérida“ bezeichnet, den er in Yukutan aus einem Fall von menschlichem Gelbfieber gewonnen hatte. Die *Leptospira* wurde hier auf Meerschweinchen übertragen und seit mehr als zwei Jahren im Meerschweinchen durch zahlreiche Generationen fortgezüchtet. Eine genaue Beschreibung der klinischen Erscheinungen ist von Lebredo in der *Revista de Medicina y Cirugia de la Habana* vom 25. Februar 1921 gegeben¹⁾. Auch ich habe diese Beobachtungen an über 200 Meerschweinchen bestätigen können und immer wieder die gleichen sehr ausgesprochenen und unverkennbaren Krankheitserscheinungen gesehen.

Im Januar 1921 gelang uns im hiesigen Laboratorium die Züchtung einer *Leptospira icterohaemorrhagiae* s. *icterogenes* aus gesunden Ratten des Schlachthofes von Habana²⁾. Auch hiermit wurden Meerschweinchen infiziert und die Krankheit durch viele Generationen von Tier zu Tier weiter übertragen. Es war uns nicht möglich, irgendeinen Unterschied dieser

1) Lebredo, Mario G., *Leptospirosis experimental con un strain de Noguchi. I. Leptospirosis icteroides provocada en curieles* (*Revista de Medicina y a Cirugia de la Habana*, 1921, Febrero 25).

2) Guiteras, Lebredo y W. H. Hoffmann, *Leptospira icterohaemorrhagiae en la Habana* (*Sanidad y Beneficencia*, Tomo 26, No. 2, pag. 39, Habana, Agosto de 1921).

Erkrankungen von denjenigen zu erkennen, die uns von der Icteroidesinfektion der Meerschweinchen so wohl bekannt war. Das gleiche muß ich von den anatomischen Veränderungen sagen, die ebenfalls schon von Lebrado für die *L. icteroides* sehr genau beschrieben sind, und die auch mir aus mehr als 200 eigenen Autopsien völlig geläufig waren.

Bei dieser völligen Uebereinstimmung der beiden experimentellen Infektionen in klinischer und pathologisch-anatomischer Hinsicht habe ich eine genaue histologische Untersuchung aller Organe in zwei großen Reihen von Tieren vorgenommen, die mit den beiden Leptospiren infiziert waren. Wiederum fand ich eine vollständige Uebereinstimmung in beiden Reihen, wie ich im Dezember 1921 auf dem Medizinischen Nationalkongreß in Habana vorgetragen und demonstriert habe.

Ich habe mich seit 20 Jahren mit Untersuchungen über die Blutveränderungen bei Infektionskrankheiten und die Nutzanwendung dieser Verfahren für die Differentialdiagnose beschäftigt, und ich sehe in der Blutuntersuchung eines der wertvollsten und einfachsten klinischen Hilfsmittel bei der Diagnose dieser Krankheiten, auf die ich in keinem Falle verzichten möchte. Es schien mir daher angezeigt und der erforderlichen Zeit und Mühe wert, eine genaue vergleichende Blutuntersuchung der Blutveränderungen bei den beiden experimentellen Infektionen vorzunehmen. Um zu einem endgültigen Urteil zu kommen, hielt ich es für zweckmäßig, Tag für Tag während des ganzen Verlaufes der Krankheit bei einer größeren Anzahl von Meerschweinchen mit den beiden Infektionen einen Blutbefund aufzunehmen. Ich hatte zunächst einige Zweifel, ob es möglich sein würde, bei den kleinen Versuchstieren so oft das Blut in geeigneter Weise zu entnehmen, aber bald sah ich, daß von dieser Seite keinerlei Schwierigkeiten im Wege standen. Ich habe stets mit Leichtigkeit und in völlig einwandfreier Weise das Blut für die Untersuchungen aus der Ohrvene entnehmen können.

Ich will zunächst kurz die Krankengeschichten der für die Versuche gebrauchten Meerschweinchen wiedergeben. Ich habe noch eine Reihe von Einzeluntersuchungen an anderen Meerschweinchen vorgenommen, aber für diese Arbeit nicht

benutzt, weil sich die Untersuchungen nicht über den ganzen Krankheitsverlauf erstreckten; auch alle diese Einzeluntersuchungen stehen aber mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit in völligem Einklang. Die ausführlichen Kurven von sämtlichen Tieren sind beigelegt.

A. Tiere, die mit *Leptospira icteroides* Mérida infiziert sind.

Meerschweinchen 242.

Am 19. Februar intraperitoneal mit 4 cem Reinkultur von *Leptospira icteroides* infiziert. Am 25. Februar Icterus, der am 27. und 28. noch ausgesprochen ist. Am 2. März durch Herzpunktion getötet. Autopsie ergibt typische Herde in den Lungen. Infektion zweifellos.

Meerschweinchen 257.

Am 8. März intraperitoneal infiziert mit Lebernierenbrei von No. 250, welcher zahlreiche Leptospiren enthielt (+++). Am 11. März hohes Fieber. Am 12. März Icterus. Gestorben am 14. Zeigt alle typischen Veränderungen in den Organen.

Meerschweinchen 258.

Am 8. März intraperitoneal mit Lebernierenbrei von No. 250 infiziert (Leptospiren +++). Erkrankt mit Fieber und Gelbsucht. Am 17. März Tod unter Erstickungserscheinungen. Bei der Autopsie zahlreiche typische Herde in den Lungen und Muskeldegeneration.

Meerschweinchen 259.

Am 8. März intraperitoneal mit Lebernierenbrei vom Meerschweinchen 250 infiziert (Leptospiren +++). Erkrankt typisch mit hohem Fieber; am 12. und 13. sehr ausgesprochene Gelbsucht. Tod am 14. März unter Erstickungserscheinungen. Zeigt in allen inneren Organen die typischen pathologisch-anatomischen Veränderungen. Lebernierenbrei reich an Leptospiren (+++).

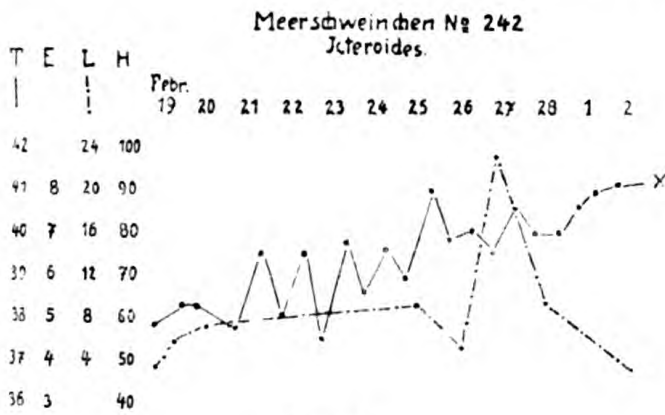
Meerschweinchen 268.

Am 14. März intraperitoneal mit Lebernierenbrei von No. 259 infiziert, der reich an Leptospiren ist (+++). Am 19. März nach typischem Temperatursturz gestorben. Typische Veränderungen an allen inneren Organen.

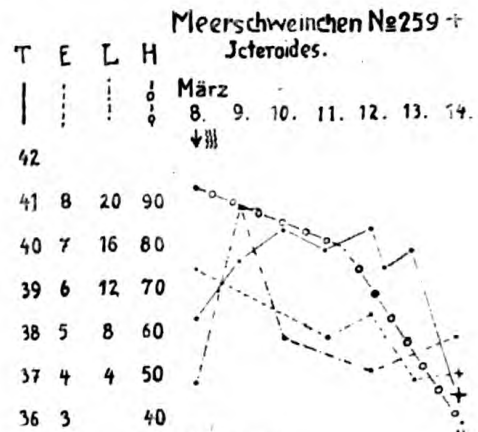
Meerschweinchen 269.

Am 14. März intraperitoneal mit Lebernierenbrei von No. 257 infiziert. Typisches Fieber. Am 18. März Gelbsucht. Am 23. Fieberabfall und Tod unter Erstickungserscheinungen. Bei der Autopsie die typischen Organveränderungen, besonders in den Lungen.

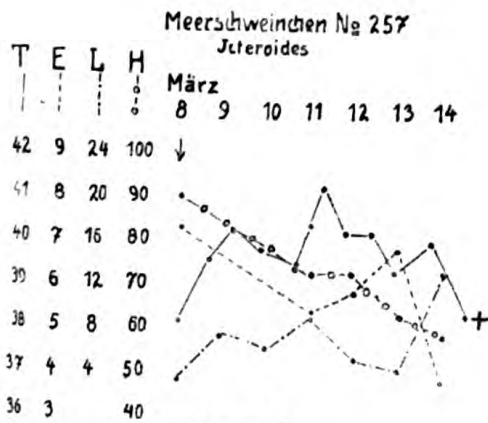
Vergleichende Blutuntersuchungen an Meerschweinchen usw. 491



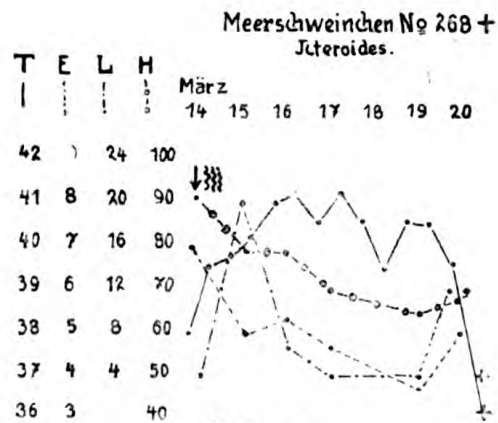
Kurve 1.



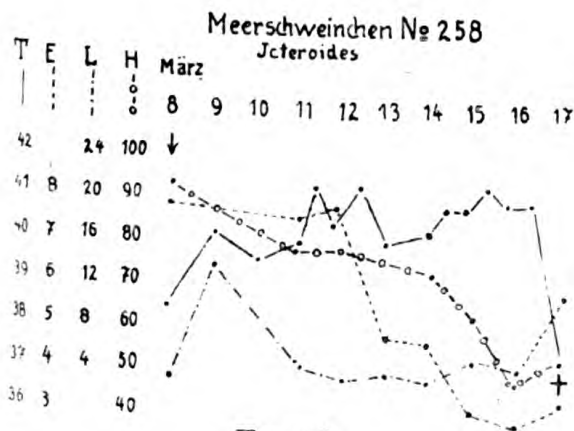
Kurve 4.



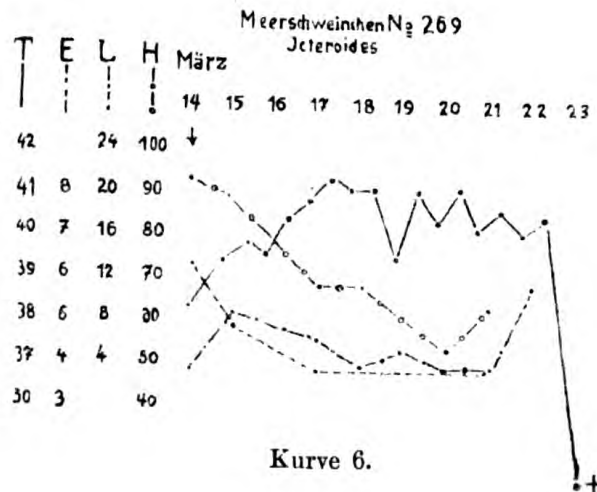
Kurve 2.



Kurve 5.



Kurve 3.



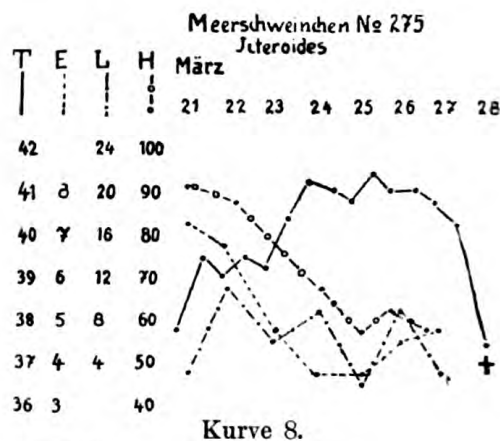
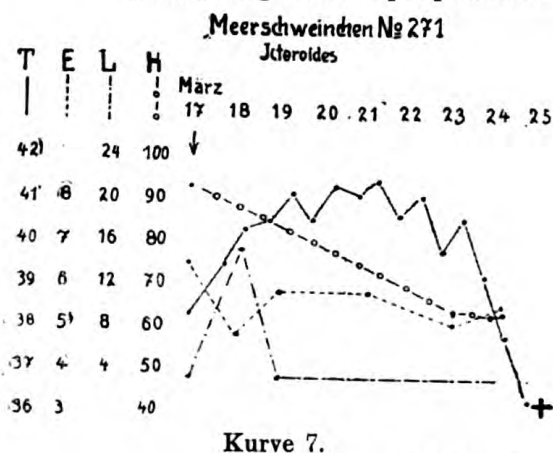
Kurve 6.

Meerschweinchen 271.

Am 17. März intraperitoneal mit Lebernierenbrei von No. 258 infiziert, das an sicherer Infektion zugrunde gegangen war. Erkrankt mit typischem Fieber und leichtem Ikterus. Gewichtsverlust von 280 auf 185 g. Nach typischem Temperaturabfall Tod am 24. März. Die Autopsie ergibt die für Leptospirainfektionen eigentümlichen Veränderungen.

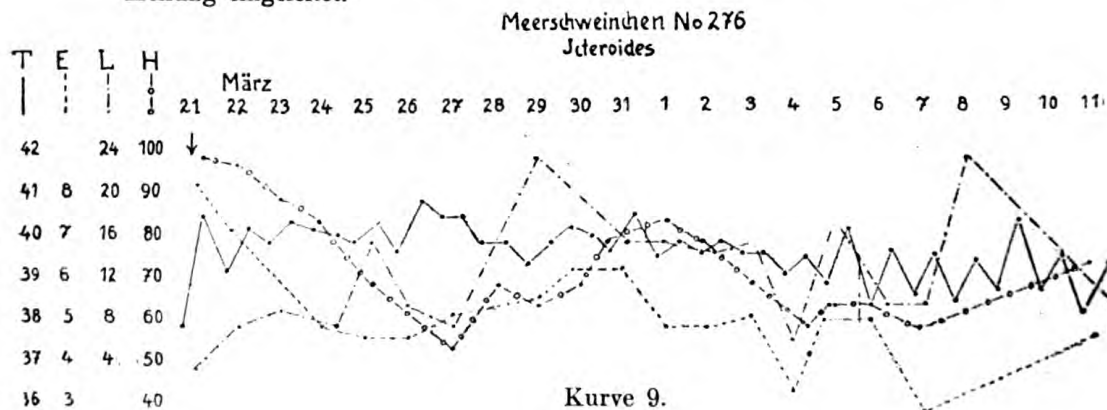
Meerschweinchen 275.

Am 21. März intraperitoneal mit 2 ccm Lebernierenbrei von Meerschweinchen 268 infiziert, das an einer schweren Infektion zugrunde gegangen war. Erkrankt mit hohem Fieber und leichtem Ikterus. Starb unter zunehmender Schwäche am 28. März. Bei der Autopsie typische Veränderungen der Leptospirainfektion.



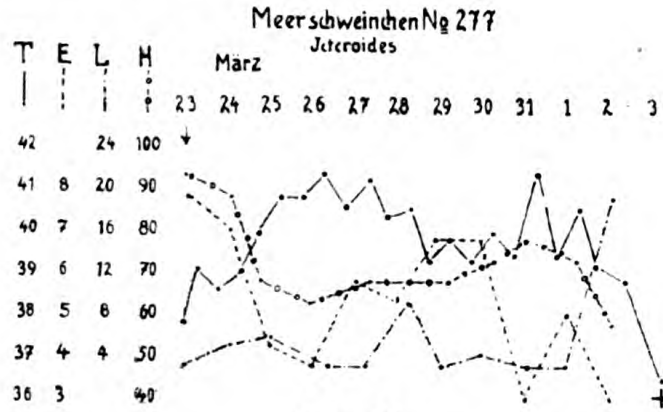
Meerschweinchen 276.

Infektion wie No. 275. Erkrankte mit hohem Fieber und Gelbsucht. Am 27. März trat Besserung ein, gleichzeitig mit einer hohen Leukozytose im Blut. Am 31. neue Krankheitserscheinungen, Schmerzen, Gelbsucht, die am 3. April sich bessern. Am 6. Gelbsucht und Schmerzen. Wiederum entwickelt sich eine hohe Leukozytose, und damit wird die endgültige Heilung eingeleitet.



Meerschweinchen 277.

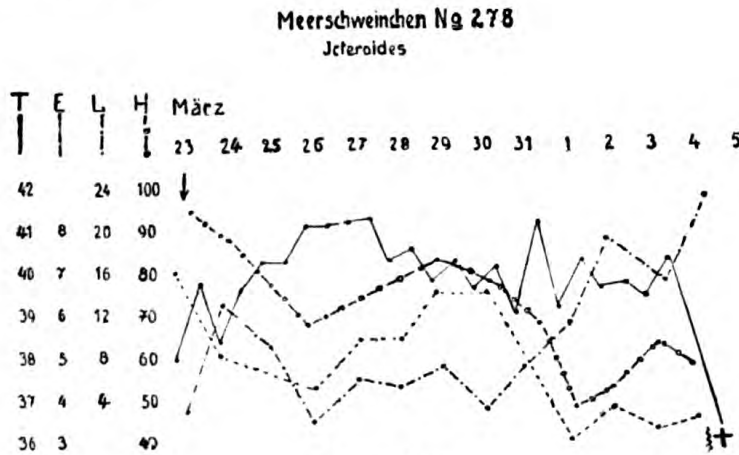
Am 23. März mit Lebernierenbrei von No. 269 infiziert, das einer sicheren Infektion erlegen war. Am 28. März trat Leukozytose auf und das Fieber sinkt. Am 31. März wiederum schwere Krankheitserscheinungen und Gelbsucht. Am 2. April hohe Leukozytose, aber Kollaps und Tod. Bei der Autopsie typische Veränderungen an den Organen mit Leptospirenbefund im Organbrei.



Kurve 10.

Meerschweinchen 278.

Am 28. März infiziert wie No. 277. Erkrankt mit hohem Fieber, das am 29. abfällt, unter gleichzeitigem Anstieg der Leukozytenzahl. Am 31. Icterus und neuer Fieberanstieg. Tod am 4. April, mit Blutaustritt aus der Nase. Autopsie zeigt die typischen Organveränderungen. Im Organbrei Leptospiren.



Kurve 11.

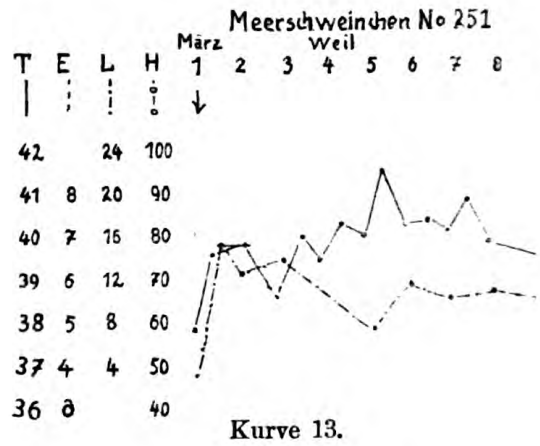
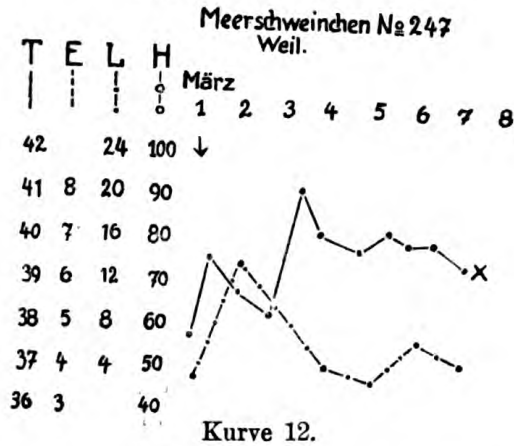
B. Meerschweinchen, die mit Leptospire der Weilschen Krankheit infiziert sind.

Meerschweinchen 247.

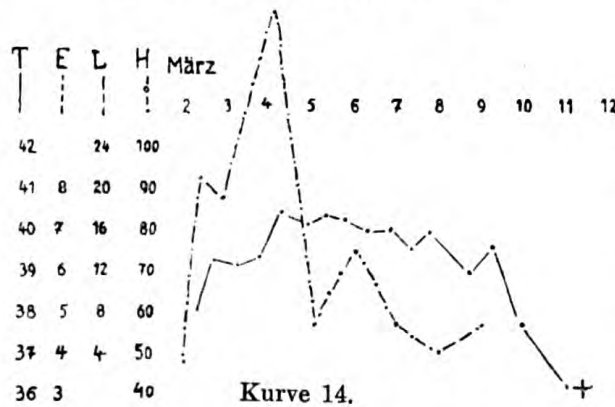
Am 1. März intraperitoneal infiziert mit Leberbrei von Meerschweinchen 245, der zahlreiche Leptospiren enthält (+++). Erkrankt schwer mit starker Gelbsucht. Am 7. März durch Herzpunktion getötet. Die Autopsie zeigt typische Organveränderungen, besonders in den Lungen.

Meerschweinchen 251.

Am 1. März intraperitoneal infiziert wie No. 247. Es entwickelte sich Gelbsucht, die am 9. März besonders deutlich war. Das Tier wird durch Herzpunktion getötet. In den Organen finden sich die Zeichen einer leichten Infektion.



Meerschweinchen No. 253. Weil.



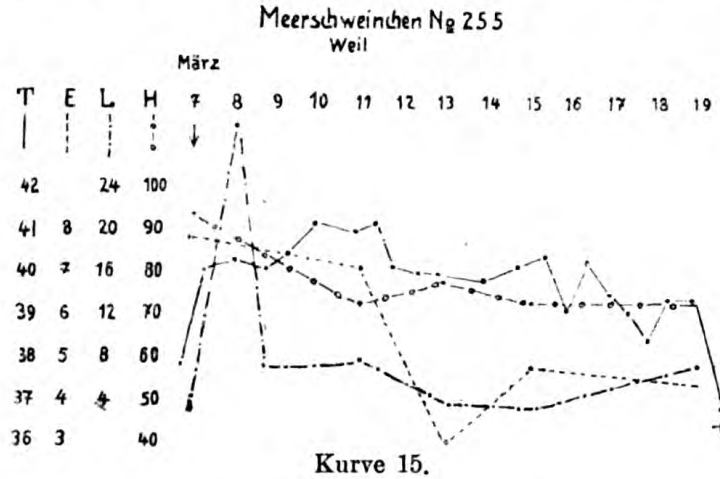
Meerschweinchen 253.

Das Tier hat schon früher eine Weilinfection durchgemacht und muß deshalb als immun angesehen werden; es ist außerdem sehr groß und aus diesem Grunde weniger empfänglich. Am 2. März intraperitoneal infiziert mit Lebernierenbrei von

No. 246 (Leptospiren +++). Schon in den ersten Tagen entwickelt sich eine kräftige Leukozytose. Trotzdem einige Tage Fieber bestand, kommt es zur Heilung.

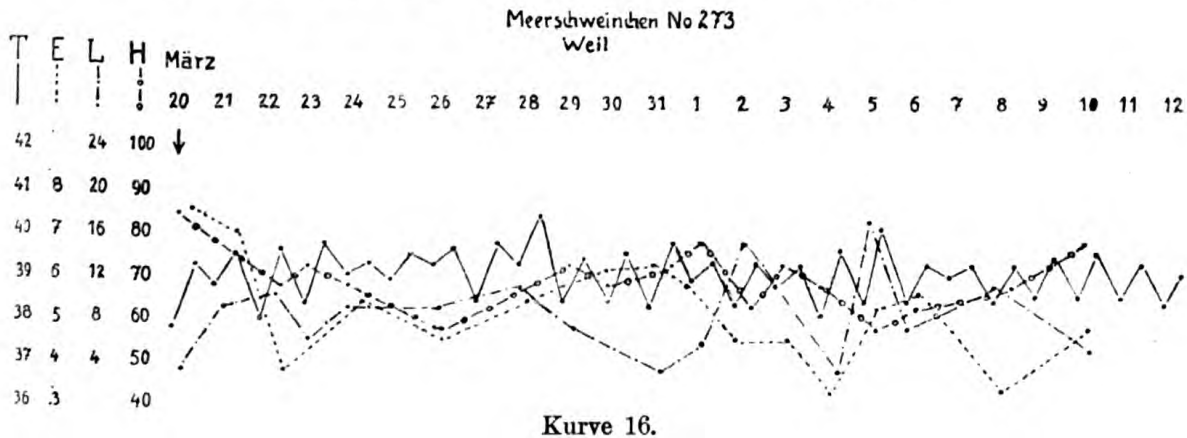
Meerschweinchen 255.

Am 7. März mit Lebernierenbrei von No. 247 intraperitoneal infiziert. Erkrankt mit typischem Fieber und Ikterus. Gewichtsverlust von 480 auf 340 g. Starb am 19. März mit Blutausfluß aus der Nase. Die Autopsie ergibt typische Veränderungen an den Organen, besonders in den Lungen.



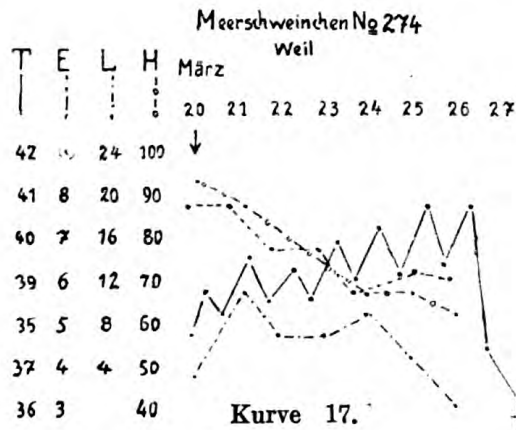
Meerschweinchen 273.

Am 20. März intraperitoneal mit Lebernierenbrei von No. 255 infiziert (Leptospiren +). Erkrankt mit hohem Fieber. Starker Gewichtsverlust. Wurde nach mehrmaligem Ansteigen der Leukozytenzahl geheilt.



Meerschweinchen 274.

Wurde am 20. März intraperitoneal mit Organbrei von No. 255 infiziert, welches eine sichere Infektion hatte. Erkrankt unter Fieber. Zeigte am 12. März Ikterus. Darauf entwickelte sich eine hohe Leukozytose, welche Temperaturabfall und Besserung der Blutzusammensetzung zur



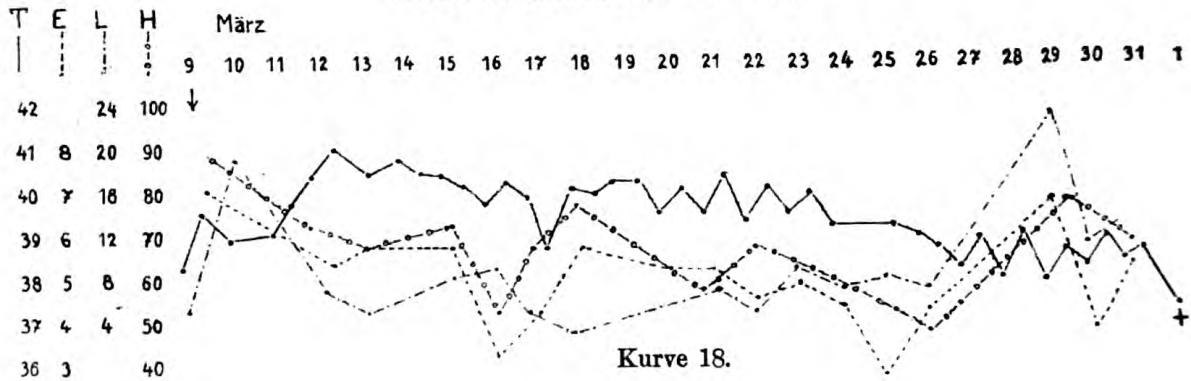
Folgehat. Das Fieber steigt noch einmal an, und wiederum entwickelt sich eine Leukozytose, und damit setzt die Genesung ein.

Meerschweinchen 262.

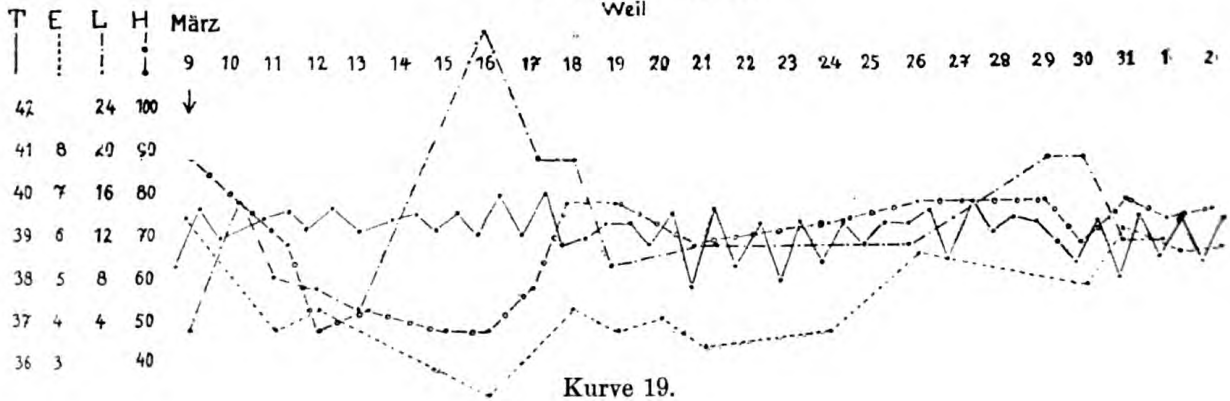
Am 9. März mit Organemulsion von No. 251 intraperitoneal infiziert. Erkrankt mit hohem Fieber, Ikterus und Blutungen. Am 16. März Leukozytose und Fieberabfall. Neuer Fieberanfall, sehr ausge-

sprochener Ikterus und Gewichtsverlust von 400 auf 255 g. Erneute Leukozytose führt wiederum zum Fieberabfall. Ein dritter Fieberanfall am 28., begleitet von Ikterus. Unter zunehmender Schwäche tritt der Tod ein. Die Autopsie ergibt an den Organen die sicheren Zeichen der Leptospirainfektion, besonders an den Lungen und den Muskeln.

Meerschweinchen No. 262. Weil.



Meerschweinchen No 261
Weil



Bei allen diesen Tieren wurden regelmäßig neben der Beobachtung des Fieberverlaufes und der sonstigen Krankheitserscheinungen möglichst täglich eine Feststellung der Zahl der weißen und roten Blutkörperchen sowie des Hämoglobingehaltes vorgenommen.

Ich schicke voraus, daß es mir nicht möglich gewesen ist, irgendeinen Unterschied in den verschiedenen Blutveränderungen bei beiden experimentellen Infektionen festzustellen, und ich gebe daher im folgenden eine gemeinsame Beschreibung für die beiden Leptospireninfektionen.

Leukozyten.

Regelmäßig folgte auf die Einspritzung des infektiösen Materials innerhalb 24 Stunden eine kräftige Vermehrung der Leukozyten, welche fast immer deutlich erkennbar war, gewöhnlich bis 12—16 000 anstieg und häufig höhere Werte, bis 30—40 000, erreichte. Nur bei der Einspritzung von Reinkulturen der *Leptospira icteroides* (Fall No. 242), die wohl weit weniger reich an Spirochäten waren als der Organbrei, erfolgte der Anstieg der Leukozyten ganz allmählich und erreichte erst nach 8 Tagen eine beträchtliche Höhe (24 000).

Der erste Leukozytenanstieg ist vorübergehend, und meist sinkt die Zahl schon in 1—2 Tagen schon wieder auf 8000 ab. Meist zeigt sich, der Leukozytose entsprechend, ein vorübergehender Rückgang der Fieberhöhe. In den nächsten Tagen bleibt die Leukozytenzahl niedrig, zwischen 4—8000, während die Krankheitserscheinungen immer schwerer werden, und die Fieberkurve sich zwischen 40 und 41° bewegt.

Erst wenn die Krankheit ihrem tödlichen Ende entgegengeht, wenn die Kräfte des Körpers anfangen zu erlahmen, tritt eine neue Reaktion der Leukozyten auf, deren Zahl plötzlich wieder ansteigt bis zu 16—20 000. In vielen Fällen scheint diese Reaktion zu spät zu kommen. Sie ist dann nicht imstande, den tödlichen Ausgang aufzuhalten. Es tritt Temperatursturz und Kollaps ein und die Tiere sterben (No. 257, 258, 259, 268, 269).

In anderen Fällen zeigte sich, daß die hohen Leukozytenzahlen scheinbar einen lebensrettenden Einfluß auf den Krankheitsverlauf ausüben (No. 273, 276, 277, 278, 261, 262). Es kommt nicht zum tödlichen Ausgang, sondern das Fieber geht

zurück und ebenso die Allgemeinerscheinungen. Auch bei der Unempfänglichkeit der immunen Tiere sowie bei der natürlichen Widerstandsfähigkeit der größeren Meerschweinchen ist der Einfluß der Leukozytentätigkeit unverkennbar.

Aber es scheint doch nicht, als ob durch die Leukozytenreaktion auf diese Weise stets ohne weiteres und auf einen Schlag eine völlige Heilung zustande kommt in dem Sinne, daß einfach alle Leptospiren auf einmal vernichtet würden; und damit zeigt sich, daß die Leptospirillose den allgemeinen Charakter der Spirochätenkrankheiten in den Immunitätsverhältnissen zu wahren scheinen. Offenbar kommt es häufig vor, daß einige Spirochäten der Zerstörung durch die Leukozyten entgehen, und diese sind es, welche dann später den Anlaß zu den Rückfällen geben. Die Zahl der Spirochäten scheint beim Rückfall nicht immer sehr groß zu sein, aber daß sie tatsächlich vorhanden sind, habe ich durch unmittelbare Dunkelfelduntersuchung in den Fällen 277 und 278 nachgewiesen. Ich stimme daher nicht uneingeschränkt jenen Forschern bei, welche der Ansicht sind, daß die Relapse bei der Weilschen Krankheit nicht als echte Rückfälle aufzufassen sind, sondern als Nachfieber, hervorgerufen durch den massenhaften und plötzlichen Zerfall der Spirochäten in den Organen infolge kräftiger Antikörperbildung. Bei diesen Rückfällen wiederholt sich nun dasselbe Bild, wie beim ersten Anfall. Das Fieber steigt wieder an, sobald die Zahl der Leukozyten wieder abgenommen hat; auch die anderen Krankheitserscheinungen treten auf, und die Lebensgefahr wird wieder dringend. Im letzten Augenblick treten dann oft wieder helfend die Leukozyten auf, und zwar in weit größerer Zahl als bei der ersten Krise. Aber die Nummern 277 und 278 sind Beispiele dafür, daß auch jetzt noch die Spirochäten das Übergewicht über die Schutzkräfte des Körpers, soweit sie in den Leukozyten verkörpert sind, gewinnen können; die Folge ist dann der tödliche Ausgang.

Andere Fälle zeigen, daß wiederholte Steigerungen der Leukozytenzahl schließlich die wiederholten Rückfälle der Krankheit siegreich überwinden können (No. 261, 276, 273). Aber auch tödliche Ausgänge kommen trotz guter Leukozytenreaktion nach mehrmaligen Anfällen noch vor.

Wenn ich im Vorhergehenden die zeitlichen Beziehungen zwischen der Leukozytenzahl und der Fieberbewegung mit Anstieg und Abfall beschrieben habe, so weiß ich sehr wohl, daß man daraus nicht ohne weiteres auf einen ursächlichen Zusammenhang der beiden Erscheinungen schließen kann. Ob die Leukozyten unmittelbar auf die Zerstörung der Spirochäten einwirken, im Sinne einer Phagozytose, ob sie sich vielleicht bei der Bildung von spezifischen Abwehrstoffen und Toxinen beteiligen, die gegen die Spirochäten gerichtet sind, ob sie schließlich nur eine passive Rolle spielen und nur die Beseitigung der schon abgetöteten oder abgestorbenen Spirochäten zu übernehmen haben, das sind Fragen, welche noch der Lösung durch geeignete Tierversuche harren. Aber es ist möglich, daß auch meine Beobachtungen einen Beitrag für das Verständnis dieser für die Immunitätswissenschaft so wichtigen Verhältnisse zu liefern vermögen.

Sicher ist jedenfalls, daß gesetzmäßige Beziehungen zwischen dem Verhalten der Leukozyten und der Infektion bei den Leptospirillosen sehr deutlich in Erscheinung treten, so daß man gerade in diesen leicht ausführbaren Versuchen ein bequemes Hilfsmittel für die Erforschung dieser Fragen unter willkürlich gewählten Bedingungen hat.

Ich habe weiter Differentialzählungen der Leukozyten ausgeführt; allerdings nicht in allen hier beschriebenen Fällen, aber in einer genügend großen Zahl, um zu erkennen, daß ein Unterschied zwischen beiden Infektionen auch in dieser Richtung für mich nicht zu bemerken war. Zur Zeit des Leukozytenanstieges tritt eine ausgesprochene relative Vermehrung der Lymphozyten bis auf 60 oder 70 Proz. ein; meist findet sich dann auch eine leichte Vermehrung der Eosinophilen, bis auf 5 oder selbst 10 Proz. Die Auszählung der verschiedenen Kernformen nach Arneith ergab keine auffälligen Veränderungen.

Es ist leicht ersichtlich, daß die Leukozytenveränderungen in den beiden Fällen der Leptospireninfektionen des Meerschweinchens den Besonderheiten der Weilschen Krankheit des Menschen entsprechen; vom menschlichen Gelbfieber sind die Veränderungen scheinbar wesentlich und grundsätzlich verschieden.

Gerinnungsfähigkeit.

Ich habe auch beobachtet, daß die Gerinnungsfähigkeit des Blutes unter dem Einfluß der Leptospireninfektion wesentlich verändert wird. Ich habe dabei nicht mit genauen Methoden gearbeitet, sondern mich darauf beschränkt, den Grad der Gerinnungsfähigkeit schätzungsweise zu bestimmen, indem ich die verschiedenen Abstufungen von der völligen Flüssigkeit des gesunden Blutes bis zur unmittelbaren völligen Gerinnung im Augenblick des Austrittes aus den Blutgefäßen mit den Zahlen 10—0 bezeichnete. Bei den geimpften Tieren sank die Flüssigkeit mit dem Fieber sehr schnell auf 6 oder 4, und zur Zeit des tödlichen Ausganges der Krankheit war sie meist auf 1 oder 0 gesunken. Ich halte die Beobachtung der plötzlichen Gerinnung des Blutes zur Zeit des Todes für ein wertvolles Zeichen zur Stütze der Diagnose auf Leptospireninfektion, und zwar wiederum völlig unterschiedslos bei *Leptospira icterohaemorrhagiae* wie bei *Leptospira icteroides*. Ich glaube, daß andererseits ein sehr flüssiges Blut von normalem Aussehen mit Erfolg gegen die Annahme einer Leptospiren-erkrankung herangezogen werden kann. Mir ist nicht bekannt, daß bei der Weilschen Krankheit des Menschen oder beim menschlichen Gelbfieber ähnliche Beobachtungen mitgeteilt sind.

Rote Blutkörperchen und Hämoglobin.

Auch die Zusammensetzung des Blutes in bezug auf rote Blutkörperchen und Hämoglobin wird in hohem Maße durch die Infektion mit Leptospiren beeinflußt.

In allen Fällen tritt unmittelbar nach der Einspritzung des infektiösen Materials ein jäher Abfall der Zahl der roten Blutkörperchen ein, und zwar von 8—7 Millionen auf 4—3 Millionen innerhalb von wenigen Tagen (No. 258, 259, 273, 261).

Die Erklärung für dieses so plötzliche Verschwinden der roten Zellen des Blutes habe ich in meinen schon früher veröffentlichten histologischen Untersuchungen gefunden, durch welche ich feststellen konnte, daß die roten Zellen in ungeheuren Mengen in der Milz und ähnlich in den Lymphdrüsen von den Endothelien aufgenommen und phagozytiert werden, in denen sie oft in großer Menge angetroffen werden,

teilweise schon aufgelöst, so daß ihre Form kaum noch zu erkennen ist, sondern nur die leuchtendrote Eosinfärbung des Hämoglobins den richtigen Hinweis gibt.

Mit dem Abfall des Fiebers und der Besserung der Krankheitserscheinungen erfolgt meist sehr rasch eine Wiederherstellung und Vermehrung der roten Blutkörperchen (No. 273, 276, 277, 278, 261 und 262).

Bei günstigem Verlauf der Krankheit nähert sich die Zahl der roten Blutkörperchen bei der Genesung wieder der normalen Zahl (No. 261, 276, 273).

Sehr vorgeschrittene Anämie scheint auf die Prognose der Krankheit einen ungünstigen Einfluß zu haben (No. 258, 277, 278).

Der Verlauf des Hämoglobingehaltes gestaltet sich ganz ähnlich wie derjenige der roten Blutkörperchen.

Unmittelbar nach dem Einspritzen des infektiösen Materials sinkt der Hämoglobingehalt von 100 auf 70 Proz. in einigen Tagen, und mit dem Fortschreiten des Fiebers schnell weiter auf 50—40 Proz. (No. 258, 259, 269).

Sehr niedrige Werte von Hämoglobin scheinen auf einen ungünstigen Ausgang der Krankheit hinzuzeigen (No. 278, 269, 258, 259).

Wenn man die Ergebnisse der Untersuchung der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehalts mit den Verhältnissen bei der Weilschen Krankheit des Menschen und beim Gelbfieber vergleicht, so zeigt sich sofort, daß auch hier wieder eine auffallende Aehnlichkeit und Uebereinstimmung der experimentellen Erkrankung der Meerschweinchen und dem Verhalten des Blutes bei der Weilschen Krankheit des Menschen vorliegt, bei welcher in den letzten Jahren verschiedentlich eingehende Untersuchungen vorgenommen sind. Auch mit den von anderer Seite an Meerschweinchen vorgenommenen Blutuntersuchungen stimmen unsere Ergebnisse übrigens überein.

Wesentlich verschieden dagegen sind wiederum die Untersuchungsergebnisse von dem Zustande des Blutes bei menschlichem Gelbfieber, von dem von erfahrenen älteren Untersuchern übereinstimmend berichtet wird, daß die Zahl der roten Blutkörperchen und der Hämoglobingehalt durch die Infektion nicht wesentlich verschlechtert werden. Obwohl wir

vielleicht heute mit besseren Untersuchungsverfahren arbeiten, kann dieser älteren Erfahrung hervorragender ärztlicher Beobachter doch nicht ohne weiteres ihre Bedeutung abgesprochen werden.

Zusammenfassung.

1) Blutuntersuchungen, die bei zwei großen Reihen von Meerschweinchen vorgenommen wurden, von denen die einen mit einer in Habana aus Ratten gezüchteten *Leptospira* der Weilschen Krankheit infiziert waren, die anderen mit einer von Noguchi bei einem Gelbfieberfall in Mérida isolierten *Leptospira icteroides*, zeigten in beiden Reihen völlig übereinstimmende Ergebnisse.

2) Die Veränderungen sind im wesentlichen eine schubweise auftretende Vermehrung der Leukozyten, entsprechend der Höhe der Krankheitserscheinungen, verbunden mit relativer Lymphozytose und leichter Eosinophilie, vermehrte Gerinnungsfähigkeit des Blutes während der Erkrankung, sehr schnelle Abnahme der roten Blutkörperchen und des Hämoglobingehalts, ebenfalls periodisch entsprechend der Schwere der Krankheitserscheinungen.

3) Die Blutuntersuchung hat, in Uebereinstimmung mit früheren histologischen Untersuchungen, keinen Anhalt ergeben, um die beiden im Versuch benutzten *Leptospiren* voneinander zu unterscheiden.

4) Die Blutveränderungen, wie sie hier festgestellt sind, entsprechen denjenigen, die bei der Weilschen Krankheit des Menschen beschrieben sind, ebenso denjenigen, die von anderen Forschern bei der experimentellen Weilschen Krankheit der Versuchstiere gefunden sind. Sie zeigen einen Typ, der im allgemeinen für Spirochätenkrankheiten charakteristisch ist. Sie zeigen aber wesentliche und grundsätzliche Verschiedenheiten vom Blutbefund beim Gelbfieber des Menschen.

5) Meine Blutuntersuchungen ebenso wie meine früheren histologischen Untersuchungen bieten keine Stütze für die ätiologische Bedeutung der von mir benutzten *Leptospira icteroides* „Merida“ als Erreger des Gelbfiebers des Menschen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität in Budapest
(Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).]

Ueber die agglutinierende Wirkung der Serumfraktionen.

Von **Stefan Went.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Juni 1922.)

I.

Nach den bisherigen Forschungen scheint es überhaupt nicht festgestellt zu sein, an welche Eiweißbestandteile die agglutinierenden Stoffe des Immunserums gebunden sind; es wurden diesbezüglich besonders die Albumin- und Globulinfraktionen untersucht, doch ergaben die bisherigen Versuche nichts weniger, als einheitliche Resultate, was mich dazu bewog, diesbezüglich Versuche anzustellen.

Hofmeister konnte mit seiner Aussalzungsmethode nicht nur das Globulin vom Albumin trennen, sondern es gelang ihm selbst das Globulin in verschiedene Fraktionen zu zerlegen. Dieser Aussalzungsmethode folgend stellte Pick (1) fest, daß die Typhus- und Cholera Bazillen agglutinierenden Immunkörper stets mit den Serumglobulinen ausfallen; Typhusbazillen agglutinierende Immunkörper des Pferdeserums gehören zu den Pseudoglobulinen, Cholera- und Typhusbazillen agglutinierende Immunkörper des Ziegen-, Meerschweinchen- und Kaninchenserums aber zu den Euglobulinen.

Widal und Sicard (2) bestreiten zwar nicht, daß die Agglutinine zu den Serumglobulinen gehören, doch konnten sie feststellen, daß auch in der Albuminfraktion von hochwertigen agglutinierenden Seris Spuren des Agglutinins nachweisbar sind.

Nach Winterberg (3) kann man mit neutralen Salzen die Typhusagglutinine mehr oder weniger vollständig aussalzen, woraus sich folgern ließe, daß sich diese mit den Serumglobulinen gleichartig verhalten; zugleich stellte er fest, daß zwischen den Resultaten der einzelnen Aussalzungsmethoden stets Unterschiede vorhanden sind.

Der mit Ammoniumsulfat hergestellte Niederschlag enthält nach Landsteiner (4) die Hauptmasse der Agglutinine, obgleich die agglutinierende Wirkung sich auch seitens der Albumine äußert. Zwischen dem Agglutiningehalt der Pseudoglobuline und Euglobuline besteht aber kein wesentlicher Unterschied.

Wolff (5) erklärte die Auffassung, als wären die Immunkörper an bestimmte Fraktionen des Serumeiweißes gebunden, für einen Irrtum. Die Immunkörper fallen auf rein mechanischem Wege mit bestimmten Eiweißfraktionen aus, und zwar mit dem Fibringlobulin $\frac{1}{5}$, mit dem Euglobulin + Fibringlobulin $\frac{1}{8}$ Teil, mit den Gesamtglobulinen ca. die Hälfte derselben. Der in Lösung gebliebene Teil war deshalb unwirksam, weil die Salze die in der Lösung befindlichen Immunkörper zerlegten.

Pfeiffer und Proskauer (6), die die Bakteriolyse untersuchten, salzten mit Magnesiumsulfat die Globuline aus, fanden aber keinen wesentlichen Unterschied zwischen der Wirkung der zwei Fraktionen; da aber auch solche Sera eine Immunwirkung ausüben können, deren Albumine und Globuline durch Fermente zerlegt wurden — halten es die genannten Autoren nicht für wahrscheinlich, daß die Immunkörper zu einer der beiden Fraktionen gehörten. Weiterhin stellten sie fest, daß der in Lösung gebliebene Teil der dialysierten Sera wirksamer ist als der Niederschlag.

Nach Ehrlich und Brieger (7) können die Fällungsmethoden nicht geeignet sein, mit ihrer Hilfe auf die chemische Natur der Antikörper schließen zu können, und zwar darum, weil die Antikörper während der Ausflockung des Eiweißes durch letztere wahrscheinlich auf mechanischem Wege mitgerissen werden.

Vor kurzer Zeit brachte Schierge (8) diesbezügliche Angaben. Nach seiner Meinung sind die Agglutinine nicht an bestimmte Fraktionen gebunden, weshalb man hier nicht von einer chemischen Bindung, sondern viel mehr von einem physikalischen, namentlich Adsorptionsvorgang sprechen kann. Die Unterschiede zwischen dem Agglutiningehalt der einzelnen Fraktionen werden durch den verschieden intensiven Ablauf der Adsorption bedingt.

Wie wir sehen, wurden Picks Behauptungen mehrfach bezweifelt; daß sie sich in der Serologie trotzdem aufrecht erhielten, kann vielleicht damit erklärt werden, daß die Untersuchungen Picks unter allen anderen die ausführlichsten sind.

Nun gehe ich zu meinen eigenen Untersuchungen über.

Zu meinen Versuchen benutzte ich ein Paratyphus A- und B Kaninchen-Immunserum, deren Titer 1 : 12000, beziehungsweise 1 : 17000 betrug. Die Sera hatte ich 36 Stunden lang gegen dest. Wasser dialysiert (Hülsen von R. Schoeps a. S.), so lange, bis sich die Flüssigkeit in den Hülsen auf das Doppelte vermehrte. Der in der Hülse gewonnene Niederschlag wurde mittels Zentrifugierens und dest. Wassers 3mal gewaschen, dann in phys. NaCl und 1-proz. Na₂CO₃-Lösung gelöst (5 Teile NaCl + 1 Teil Na₂CO₃). Die abpipettierte Flüssigkeitsmenge wurde stets genau ersetzt. Die Agglutinationsergebnisse waren folgende:

Albumin des Paraty. A	aggl. Serum	agglutiniert	1 : 10 000
Globulin	„	„	1 : 120
Albumin	„	B	1 : 12 000
Globulin	„	„	1 : 100

Der Ursache dieses unerwarteten Resultates nachforschend, hoffte ich selbe in den gebrauchten Hülsen aufzufinden — und tatsächlich, als ich zu 1 ccm des in Lösung gebliebenen dialysierten Serums 5 ccm 275/n Salzsäure gab, bildete sich darin noch ein reichlicher Niederschlag.

Es ist bekannt, daß zur Ausfällung der Globuline sich auch HCl eignet, obgleich — wie Forssman bemerkt — nicht in jeder Konzentration. Sachs empfiehlt die 5fache Menge von 275/n HCl als die zu diesem Zwecke geeignetste. Das Verhalten des mittels Dialysierung und mit HCl gewonnenen Niederschlages untersuchend, stellte ich Agglutinationsproben an mit folgendem Ergebnis:

- 1) Der in Lösung gebliebene Teil des dialysierten und dann mit HCl behandelten Paraty. A-Serums agglutiniert bis zur Verdünnung 1 : 8400.
- 2) Der in Lösung gebliebene Teil des dialysierten Paraty. A-Serums mit HCl behandelt; die Lösung des so gewonnenen Niederschlages agglutiniert bis zur Verdünnung 1 : 40.
- 3) Der in Lösung gebliebene Teil des dialysierten und mit HCl behandelten Paraty. B-Serums agglutiniert bis zur Verdünnung 1 : 11 500.
- 4) Der aus dem in Lösung gebliebene Teil des dialysierten Paraty. B-Serums mittels HCl-Behandlung gewonnene Niederschlag agglutiniert bis zur Verdünnung 1 : 40.
- 5) Der in Lösung gebliebene Teil des nicht dialysierten Paraty. A-Serums agglutiniert nach Behandlung mit HCl bis zur Verdünnung 1 : 9500.
- 6) Der im nicht dialysierten Paraty. A-Serum durch HCl-Zugabe gewonnene Niederschlag agglutiniert bis zur Verdünnung 1 : 100.
- 7) Der in Lösung gebliebene Teil des nicht dialysierten Paraty. B-Serums agglutiniert nach Behandlung mit HCl bis zur Verdünnung 1 : 12 500.
- 8) Der aus dem nicht dialysierten Paraty. B-Serum nach HCl-Zusatz gewonnene Niederschlag agglutiniert überhaupt nicht.

Wie man sieht, ist die agglutinierende Wirkung des durch HCl gewonnenen Niederschlages ebenso gering, wie die des mittels Dialysierung hergestellten. Dagegen zeigte der in Lösung gebliebene Teil auch diesmal eine bedeutende agglutinierende Wirkung; daß aber die Agglutinine an die Serumalbumine gebunden wären, dürfen wir daraus nicht schließen.

Wir können nur annehmen, daß wegen unvollständiger Dialysierung der größte Teil der Globuline in Lösung blieb, oder aber, daß der nach HCl-Fällung noch in Lösung gebliebene Teil infolge seines Gehalts an H-Ionen eine Säureagglutination zeigte.

Aus diesem Grunde dialysierte ich das Serum Paraty. A 3 Tage hindurch gegen fließendes Wasser, bis in den Hülzen die Flüssigkeit sich auf das 5-fache vermehrte. Hierdurch wurde es möglich, zu untersuchen, ob eine Verminderung des Titers des in Lösung gebliebenen Teiles — welcher auf diese Weise vollständig dialysiert wurde — vorhanden ist. Der Niederschlag wurde auszentrifugiert, 3mal mit dest. Wasser gewaschen, dann in phys. NaCl- und 1-proz. Na_2CO_3 -Lösung (5 Teile NaCl + 1 Teil Na_2CO_3) gelöst. Dasselbe führte ich mit dem Serum Paraty. B aus.

Die Resultate waren folgende:

Tabelle I.

	Serum	Agglutinationstiter des in Lösung gebliebenen Teiles	Agglutinationstiter des nach 3-tägiger Dialysierung gewonnenen Niederschlages
I.	Paraty. A	1 : 8000	1 : 400
II.	„ „	1 : 9500	1 : 300
III.	„ „	1 : 8000	1 : 400
IV.	„ „	1 : 11 500	—
V.	„ „	1 : 10 500	1 : 40
VI.	„ „	1 : 12 000	—
VII.	„ „	1 : 8000	1 : 300
VIII.	Paraty. B	1 : 13 000	—
IX.	„ „	1 : 7500	1 : 300
X.	„ „	1 : 9500	1 : 80
XI.	„ „	1 : 11 000	1 : 80
XII.	„ „	1 : 9500	1 : 150
XIII.	„ „	1 : 9000	1 : 100
XIV.	„ „	1 : 12 000	1 : 40

Zur Erforschung der angenommenen Säureagglutination vermengte ich 1 ccm der Typhus-Paraty. A- und B-Sera mit 5 ccm 275/n HCl¹⁾, und den in Lösung gebliebenen Teil neutralisierte ich mit 1-proz. Na_2CO_3 , nachdem ich die der 5 ccm

1) Das Typhusserum wurde vor 10 Jahren bereitet, Agglutinationstiter 1 : 5200; die Sera Paraty. A und B sind dieselben, die ich bei meinen vorherigen Untersuchungen benützte.

Salzsäure entsprechende Na_2CO_3 -Menge genau austritierte. Den Niederschlag löste ich in physiologischer NaCl-Lösung.

Tabelle II.

	Serum	Agglutinationstiter des in Lösung gebliebenen neutralisierten Teiles	Agglutinationstiter des mittels Salzsäure gewonnenen Niederschlages
I.	Ty.	1 : 3000	1 : 550
II.	„	1 : 3500	1 : 400
Agglutinationstiter ohne Neutralisierung			
III.	„	1 : 3500	1 : 100
IV.	Paraty. A	1 : 10 000	1 : 200
V.	„ „	1 : 10 500	1 : 200
Titer ohne Neutralisierung			
VI.	„ „	1 : 11 000	1 : 20
VII.	Paraty. B	1 : 14 000	—
VIII.	„ „	1 : 11 000	1 : 200
Titer ohne Neutralisierung			
IX.	„ „	1 : 11 500	1 : 100

Man ersieht hieraus, daß weder die dauernde Dialysierung des Serums, noch die Eliminierung der Säurereaktion das Ergebnis der Untersuchung beeinflußte.

Eine dritte Methode zwecks Ausfällung der Globuline ist die Durchleitung von Kohlensäure. Landsteiner und Müller empfehlen diese Methode nicht, weil die Kohlensäure schwer dosierbar ist; ich versuchte es dennoch auch mit diesem Verfahren.

Ich benutzte dazu das Serum Paraty. A; 1 ccm desselben wurde auf das 4 fache mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und 1 Stunde hindurch in die Lösung Kohlenäure geleitet. Auf diese Weise bekam ich eine bedeutende Menge eines feinen Niederschlages, welchen ich mit destilliertem Wasser 2mal wusch und in entsprechender Menge physiologischer NaCl-Lösung löste. Gleichzeitig behandelte ich auf ähnliche Weise ein sehr altes, schon unwirksames Flexner-Agglutinin-Serum und stellte mit den gewonnenen Serumfraktionen Agglutinationsproben ein.

Tabelle III.

	Serum	Agglutinationstiter des nach Kohlensäurebehandlung in Lösung gebliebenen Teiles	Agglutinationstiter des nach Kohlensäurebehandlung ausgefallenen Teiles
I.	Paraty. A	1 : 12 000	—
II.	„ „	1 : 11 000	—
III.	„ „	1 : 11 500	—
IV.	„ „	1 : 9000	1 : 200
V.	„ „	1 : 8000	1 : 200

Es zeigte weder die Albumin- noch die Globulinfraction des Flexner-Serums eine agglutinierende Wirkung.

Wie man sieht, enthielt bei dem Serum Paraty. A wieder der in Lösung gebliebene Teil die Agglutinine. Das unwirksame Flexner-Serum — mit Kohlensäure behandelt — zeigt in keiner Fraktion agglutinierende Wirkung, was beweist, daß die CO_2 -Behandlung unfähig ist, einem unwirksamen Serum agglutinierende Eigenschaften zu verleihen, daß ferner die CO_2 -Behandlung für das Agglutinationsvermögen des Serums indifferent ist.

Es ist zweifellos, daß diese drei Methoden zur Ausfällung der Serumglobuline geeignet sind (Cohnheim); man muß jedoch in Betracht ziehen, daß alle Forscher, die die agglutinierende Wirkung der Serumfraktionen untersuchten, größtenteils nicht diesen Methoden folgten, sondern die verschiedenen Aussalzungsverfahren benutzten. Aus den ausführlichen Untersuchungen Winterbergs sehen wir (s. Literatur), daß nach Zugabe von Ammonium-Magnesium- oder Natriumsulfat das Serum einen reichlichen Niederschlag gibt, der nach Auflösung agglutinierende Wirkung besitzt, wogegen dem in Lösung gebliebenen Teil eine solche Wirkung nicht eigen ist.

In meinen Versuchen hielt ich mich an Winterbergs Methoden. Zuerst behandelte ich die Sera (Paraty. A und B, sowie auch ein frisch bereitetes Ty.-Aggl.-Serum, dessen Titer 1 : 6000 war) mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Zu je 2 ccm der Sera setzte ich das Salz in Substanz und in Ueberschuß zu, und ließ das Ganze 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen. Es bildete sich ein reichlicher Niederschlag, welchen ich nach Zentrifugieren zweimal mit gesättigter $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung wusch und in physiologischer NaCl-Lösung auflöste. Dann dialysierte ich beide Fraktionen zwecks Eliminierung der Salze 3 Tage hindurch gegen fließenden Wassers.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

	Serum	Agglutinationstiter des in Lösung gebliebenen Teiles nach Behandlung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Agglutinationstiter der durch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ausgefallten Globuline
I.	Ty	1 : 80	1 : 5300
II.	"	1 : 20	1 : 6000
III.	"	—	1 : 6000
IV.	"	1 : 200	1 : 4000
V.	"	1 : 100	1 : 5000
VI.	Paraty. A	—	1 : 10 500
VII.	" "	1 : 80	1 : 10 000
VIII.	" "	1 : 10	1 : 11 500
IX.	" "	—	1 : 11 500
X.	" "	—	1 : 11 500
XI.	Paraty. B	—	1 : 12 000
XII.	" "	—	1 : 14 000
XIII.	" "	—	1 : 14 000
XIV.	" "	—	1 : 11 000
XV.	" "	1 : 10	1 : 11 000

Wie wir sehen, veränderten sich diesmal die Resultate: der Niederschlag agglutinierte, der in Lösung gebliebene Teil dagegen nicht.

Nun schritt ich zur Untersuchung der agglutinierenden Wirkung der mit MgSO_4 gewonnenen Serumbestandteile.

Die Sera wurden nach der Methode Winterbergs behandelt; diesmal benützte ich Paraty. A und Ty. agglutinierende Sera. Zu je 2 ccm Serums gab ich in Substanz und bis zur Uebersättigung Magnesiumsulfat und ließ das Ganze 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen. Den Niederschlag wusch ich 2mal mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung, löste ihn durch Zugabe von destilliertem Wasser, dann dialysierte ich beide Fraktionen 3 Tage lang hindurch gegen fließendes Wasser. Die Globuline fallen aus ihrer Lösung wieder aus, aber mitunter entstand auch in dem nach MgSO_4 -Behandlung in Lösung gebliebenen Teil ein Niederschlag. Dieser letztere löste sich nur in einer Mischung von $\text{NaCl} + 1$ Proz. Na_2CO_3 (5 Teile $\text{NaCl} + 1$ Teil Na_2CO_3), wogegen sich der mittels MgSO_4 gewonnene Niederschlag in phys. NaCl allein löste. Der nach Zugabe von MgSO_4 in Lösung gebliebene Teil gab nach Zusatz von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in jedem Falle reichlichen Niederschlag. Nun untersuchte ich die folgenden Teile des Serums:

- 1) den nach MgSO_4 -Zugabe gewonnenen Niederschlag,
- 2) den nach Zugabe von MgSO_4 in Lösung gebliebenen Teil,
- 3) den durch 3tägiges Dialysieren gewonnenen Niederschlag aus dem nach Mg_2SO_4 -Zugabe in Lösung gebliebenen Teil,
- 4) den Niederschlag, welchen ich aus dem nach MgSO_4 -Zusatz in Lösung gebliebenen Teil mittels $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Behandlung erhielt (3mal mit

gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und in phys. NaCl-Lösung aufgelöst),

5) jenen Teil der nach $MgSO_4$ -Behandlung in Lösung gebliebenen Fraktion, welcher trotz Zugabe von $(NH_4)_2SO_4$ keine Ausfällung zeigte.

Die agglutinierende Wirkung der einzelnen Fraktionen war folgende:

Tabelle V.

	Serum	$MgSO_4$ - Niederschlag	Mit $MgSO_4$ in Lösung geblie- bener Teil	Nach $MgSO_4$ - Behandlung mit Dialysierung ge- wonnener Niederschlag	$(NH_4)_2SO_4$ - Niederschlag	Nach $MgSO_4$ - und $(NH_4)_2SO_4$ - Behandlung in Lösung geblie- bener Teil
Agglutinationstiter						
I.	Ty.	1:2800	1:2000	kein Niederschl.	1:700	—
II.	„	1:2300	1:2700	dgl.	1:1500	—
III.	„	1:3200	1:1500	„	1:900	1:10
IV.	„	1:2700	1:2400	ger. Niederschl.;	1:1600	—
				aggl. nicht		
V.	„	1:3000	1:2400	dgl.	1:2000	—
VI.	Paraty. A	1:5000	1:2500	„	1:1500	1:80
VII.	dgl.	1:5900	1:2500	kein Niederschl.	1:2500	—
VIII.	„	1:5000	1:1700	ger. Niederschl.;	1:1500	1:20
				aggl. nicht		
IX.	„	1:6500	1:1200	kein Niederschl.	1:900	—
X.	„	1:5000	1:2500	dgl.	1:1500	—

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich vor allem, daß beide Fraktionen des Serums bis zu einer hohen Verdünnung agglutinieren. Die zweite interessante Erscheinung ist, daß der nach $MgSO_4$ -Behandlung in Lösung gebliebene Teil mitunter nach Dialysierung noch einen Niederschlag gab (2mal bei Ty, und 2mal bei Paraty. A-Immuserum), dieser aber hatte keine agglutinierende Wirkung. Die dritte auffallende Tatsache ist, daß in dem, nach $MgSO_4$ -Behandlung in Lösung gebliebenen Teil mittels $(NH_4)_2SO_4$ ein reichlicher Niederschlag entstand, welcher sämtliche Agglutinine des in Lösung gebliebenen Teiles enthielt.

Bevor wir nun diese Versuchsergebnisse besprechen, wollen wir noch die Ergebnisse, die ich durch Aussalzung der Globuline mittels Na_2SO_4 erhielt, betrachten.

Bei diesen Untersuchungen habe ich ein Paraty. B-Serum von einem Titer 1:14 000 gebraucht. Die Aussalzung bewerkstelligte ich nach der

Vorschrift von Winterberg: Zu 2 ccm des Serums Paraty. B gab ich im Ueberschuß Na_2SO_4 in Substanz und ließ es 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen. Nachher zentrifugierte ich den entstandenen Niederschlag aus, wusch letzteren mit gesättigter Na_2SO_4 -Lösung 2mal, löste sodann in destilliertem Wasser und dialysierte sowohl diesen, wie auch den in Lösung gebliebenen Teil 3 Tage lang hindurch gegen fließendes Wasser. In dem nach Zusatz von Na_2SO_4 in Lösung gebliebenen Teil entstand nach der Dialysierung einmal auch bei diesem Versuche ein Niederschlag. Die ausgesalzene Globuline sind selbstverständlicherweise nach der Dialysierung wieder ausgefallen; diesen Niederschlag wusch ich 2mal mit destilliertem Wasser und löste ihn in physiologischer NaCl -Lösung. Der nach Na_2SO_4 -Behandlung in Lösung gebliebene Teil gab mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in jedem einzelnen Falle einen Niederschlag. Die einzelnen Teile verhielten sich, wie folgt:

Tabelle VI.

Serum	Na_2SO_4 -Niederschlag	Mit Na_2SO_4 in Lösung gebliebener Teil	Nach Na_2SO_4 -Behandlung mit Dialysierung gewonnener Niederschlag	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Niederschlag	Nach Na_2SO_4 - u. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Behandlung in Lösung gebliebener Teil
Agglutinationstiter					
I. Paraty. B	1 : 7500	1 : 3000	kein Niederschl.	1 : 2000	1 : 40
II. " "	1 : 8000	1 : 2500	" "	1 : 2000	—
III. " "	1 : 7000	1 : 3000	ger. Niederschl.; aggl. nicht	1 : 2000	1 : 40
IV. " "	1 : 6000	1 : 4000	kein Niederschl.	1 : 3500	—
V. " "	1 : 6000	1 : 4500	" "	1 : 4500	—

Die Ergebnisse sind sonach dieselben, wie die in der Tabelle V niedergelegten; beide mit Na_2SO_4 getrennten Serumbestandteile agglutinierten; in dem in Lösung gebliebenen Teil kann sich nach der Dialysierung auch ein Niederschlag bilden; endlich erzeugt in dem in Lösung gebliebenen Teil $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ eine Fällung, welche sämtliche Agglutinine des in Lösung gebliebenen Teiles enthält.

Die Erklärung der letzteren Erscheinung macht keine Schwierigkeit: MgSO_4 und Na_2SO_4 fällt die Agglutinine nur unvollständig aus, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dagegen vollständig. Wir haben also keine Ursache, unter den Aussalzungsverfahren wesentliche Unterschiede anzunehmen. Allerdings ist es eine bemerkenswerte Tatsache, daß nach Zugabe von MgSO_4 und Na_2SO_4 im gegebenen Falle aus dem in Lösung gebliebenen Teile auch nach der Dialysierung Niederschläge zustande kommen, wogegen dieselbe Erscheinung nach Ammoniumsulfat-

Aussalzung nicht bemerkt wurde. Hieraus könnte man vielleicht darauf schließen, daß unter den Aussalzungsmethoden doch insofern eine qualitative Differenz besteht, als in einem Falle nach der Dialysierung ein Niederschlag noch einmal gewonnen werden kann, wogegen mittels Ammoniumsulfat letztere Substanzen schon gelegentlich der Aussalzung ausgefällt wurden. — Meinerseits halte ich es nicht für statthaft, aus dieser Erscheinung solche Folgerungen zu ziehen. Das Zustandekommen eines Niederschlages in dem nach Dialysierung in Lösung gebliebenen Teile — wie es aus Tabelle V und VI ersichtlich ist — geschieht überhaupt nicht mit Regelmäßigkeit; wenn wir die durch die Dialysierungshülsen gegebenen Fehlerquellen in Betracht nehmen, haben wir die Erscheinung erklärt. Die Tatsache aber, daß der nach Dialysierung ausgefallene Teil keine agglutinierende Wirkung besaß, liefert uns wichtige Anhaltspunkte. Namentlich wenn wir dieses Ergebnis mit den Ergebnissen der Tabelle I vergleichen, wird es klar, daß der mittels Dialysierung gewonnene Niederschlag nicht mit jenem identisch sein kann, den ich mit den Aussalzungsmethoden erhielt. Es ist also zweifellos, daß die agglutinierende Wirkung der durch verschiedene Methoden gewonnenen Serumfraktionen keine gleiche ist. Von diesem Standpunkte aus betrachtet und auf Grund der oben erhaltenen Resultate können wir die angewandten Methoden in drei Gruppen teilen.

Durch die zur I. Gruppe gehörenden Methoden erhalten wir Niederschläge, die keine agglutinierende Wirkung haben, wogegen der in Lösung gebliebene Teil einen hohen agglutinierenden Titer zeigt. Hierher wäre die Dialysierung, die Kohlensäure- und Salzsäuremethode zu rechnen.

Bei der Anwendung der Methoden der II. Gruppe zeigen beide Fraktionen des Serums eine wesentliche agglutinierende Wirkung. Hierher gehört die Aussalzungsmethode mittels Magnesiumsulfat und Natriumsulfat.

In die III. Gruppe gehört die Aussalzungsmethode mit Ammoniumsulfat, bei welcher der Niederschlag agglutiniert, der in Lösung gebliebene Teil dagegen nicht.

Was nun die eigentliche agglutinierende Wirkung der mittels verschiedener Methoden gewonnenen Serumbestand-

teile betrifft, so besteht zwischen den mit den Methoden der Gruppe II und III gewonnenen Serumbestandteilen kein wesentlicher Unterschied; anders verhält sich die Sache bei jenen Serumfraktionen, welche mit der Methode der I. Gruppe getrennt wurden. Hier zeigte nämlich der Niederschlag eine minimale oder gar keine Agglutinationswirkung, wogegen der in Lösung gebliebene Teil sich durch eine bedeutende Wirkung auszeichnet; die zweierlei Niederschläge sind also nicht identisch. Der Unterschied wird noch auffallender, wenn wir die Versuchsergebnisse der Tabelle V und VI betrachten; da sehen wir, daß der in Lösung gebliebene Teil des ausgesalzten Serums nach der Dialysierung mitunter einen Niederschlag gab, der sich ebenso verhielt, wie der aus nicht ausgesalzten Seris durch Dialysierung gewonnene; aus derselben Fraktion aber fiel nach Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ein Niederschlag aus, der die darin anwesenden sämtlichen Agglutinine enthielt.

Daß der mittels beliebiger Methoden gewonnene Niederschlag den Globulinen entsprach, ist kaum zu bezweifeln; doch muß gleichzeitig festgestellt werden, daß die Agglutinine mit den Globulinen nicht in jedem Falle ausscheiden. Die unmittelbare Ursache des Ausscheidens der Agglutinine ist also nicht allein darin zu suchen, daß das Serum solchen Methoden unterworfen wurde, durch welche die Globuline ausfielen. Zweifellos spielen hier gewisse physikalische Faktoren eine unmittelbare und ausschlaggebende Rolle und erweisen sich die verschiedenen Methoden nur deshalb jeweilig als geeignete oder ungeeignete, weil dieselben zum Verlauf dieser physikalischen Vorgänge günstige bzw. ungünstige Umstände schaffen. — Der vollständige oder unvollständige Verlauf dieses Vorganges hängt aber wahrscheinlich von gewissen, bisher nicht in Betracht genommenen Faktoren ab.

II.

Was ist also das ausschlaggebende und unmittelbare Moment, das beim Ausfallen der Agglutinine die Hauptrolle spielt?

Oben hatte ich auf gewisse physikochemische Faktoren hingewiesen, von welchen besonders einer unbedingt verdient, untersucht zu werden, und das wäre die Adsorption.

Bei Anwendung der Globulin-Ausfällungsmethoden entsteht in den Seris ein Niederschlag; es ergibt sich hieraus von selbst die Annahme, daß dieser Niederschlag als Adsorbent die Globuline mit sich reißt. Zur Entscheidung dieser Frage müßte man in einer Lösung, die Agglutinine enthält, ohne Verwendung von Chemikalien einen indifferenten Niederschlag erzeugen können, oder aber einen indifferenten Niederschlag einer solchen Lösung zuführen. Handelt es sich tatsächlich um einen Adsorptionsvorgang, so müssen die Lösungen dieser Niederschläge — auch nach wiederholter Waschung der letzteren — eine agglutinierende Wirkung ausüben.

Zu diesem Zwecke habe ich folgende Versuche durchgeführt:

1) Zu 2 ccm 1:200 verdünntem Pferdeserums gab ich 0,2 ccm Paraty. A agglutinierendes Serum (Titer 1:12 000); beide mischte ich und setzte zu dieser Mischung 0,2 ccm Pferdeeiweiß präzipitierendes Kaninchenserum hinzu. Nach 24 Stunden zentrifugierte ich die trüb gewordene Flüssigkeit, wusch das Sediment 3mal mit dest. Wasser und löste es sodann in 1,2 ccm phys. NaCl + 0,8 ccm 1-proz. Na₂CO₃-Lösung. Nachher stellte ich sowohl mit der abpipettierten Serummischung, wie mit dem aufgelösten Präzipitat Agglutinationsproben an. Dasselbe wurde mit dem Immunserum Paraty. B (Titer 14 000) ausgeführt. Zur Kontrolle wurde eingestellt: Zu 2 ccm 1:200 verdünnten Pferdeserums setzte ich 0,2 ccm normalen Kaninchenserums (dieses letztere hatte keine agglutinierende Wirkung), diese Mischung versetzte ich mit 0,2 ccm eines Pferdeeiweiß präzipitierenden Kaninchenserums. Nach 24 Stunden zentrifugierte ich das trübe gewordene Serungemisch, wusch das Sediment 3mal mit dest. Wasser und löste es in 1,2 ccm phys. NaCl + 0,8 ccm 1-proz. Na₂CO₃-Lösung. Nachher stellte ich mit der abpipettierten Serummischung und mit dem aufgelösten Präzipitat Agglutinationsproben ein.

Tabelle VII.

Serum	Agglutinationstiter der vom Sediment abpipettierten Serummischung	Agglutinationstiter des aufgelösten Präzipitates
Paraty. A	1:9000	1:300
Paraty. B	1:12 500	1:160
Kontroll-Ser.		

Wie zu ersehen, hatte das Präzipitat einen Teil der Agglutinine mit sich gerissen. Es ist aber eine bekannte Tatsache, daß Präzipitate in hohem Grade geeignet sind, im selben Medium anwesende Stoffe mit sich zu reißen; eben

deshalb wollte ich die Ausscheidung der Agglutinine durch die Oberflächenadsorption auch auf andere Art beweisen. — Dazu bediente ich mich des nachfolgenden Versuches:

2) Zu 2 ccm norm. Kaninchenserum (welches keine aggl. Wirkung besaß) gab ich 1 ccm gesättigte Ammoniumsulfatlösung. Nach 24 Stunden zentrifugierte ich den entstandenen Niederschlag aus, löste ihn in dest. Wasser und dialysierte 3 Tage hindurch gegen fließenden Wassers. Einen Teil des nach Dialysierung gewonnenen Niederschlages brachte ich mit 1 ccm Paraty. B-Serum zusammen (Titer 1:14 000), den anderen Teil vermischte ich mit 1 ccm Typhusserum (Titer 1:6000). (Die zwei Immunsera verdünnte ich 2fach mit dest. Wasser, um die Salzkonzentration zu vermindern). Beide ließ ich nach wiederholtem Schütteln 24 Stunden lang stehen; nach Verlauf dieser Zeit zentrifugierte ich den Niederschlag aus den agglutinierten Seris aus, wusch 3mal mittels dest. Wassers und löste ihn dann in phys. NaCl + 1-proz. Na₂CO₃-Lösung. Nun stellte ich sowohl mit diesen Lösungen wie auch mit den abpipettierten Seris Agglutinationsproben ein:

Tabelle VIII.

	Serum	Agglutinationstiter der Serum Mischung	Agglutinationstiter des aufgelösten Niederschlages
I.	Ty.	1: 5 500	1: 32
II.	Paraty. B	1: 10 000	1: 40

Ein gewisser Grad von Ausscheidung der Agglutinine ist also auch bei diesem zweiten Versuch bemerkbar.

Die Art des Ausscheidens war in beiden Fällen allerdings ein Adsorptionsvorgang und — wie es sich im Nachstehenden noch zeigen soll — haben wir keine Ursache, zu bezweifeln, daß die im ersten Teile angeführten Versuche mit letzteren übereinstimmen. Daß die Adsorption der Agglutinine in diesem Falle nicht so intensiv war, dürfte sich damit erklären, daß bei der Anwendung der Aussalzungsverfahren sich innerhalb der Flüssigkeit große Mengen des Niederschlages bildeten, deren große Oberfläche eine intensivere Adsorptionswirkung ausübte.

Bei dem einen der letzteren Versuche war der Niederschlag stets gering, beim andern wurde ein außerhalb des Serums entstandener Niederschlag dem Immunserum zugeführt; im ersteren Falle erklärt sonach die kleine Menge des Niederschlages, im zweiten die Art des Niederschlages (d. i. die grobe Verteilung) die verminderte Adsorption.

Es spielen also bei der Fällung der Agglutinine physikochemische bzw. kolloidchemische Vorgänge eine Rolle. Das Agglutinin fällt bei Verwendung bestimmter Globulinausfällungsmethoden nicht deshalb aus, weil es selbst zu den Globulinen gehört, sondern weil sich im Serum ein Niederschlag bildete. Die chemische Struktur dieses Niederschlages spielt in dieser Beziehung überhaupt keine wichtige Rolle. Wenn sonst die Bedingungen zur Adsorption der Agglutinine gegeben sind, so kann jene nicht durch die chemische Struktur des Niederschlages verhindert werden.

Welches sind nun die Bedingungen der Agglutininadsorption? Auch müssen wir weiterhin fragen, warum nur ausgesalzene Niederschläge die Agglutinine adsorbierten, während die mittels Salzsäure, Kohlensäure oder Dialysierung entstandene Fällung diese Erscheinung nicht zeigt?

Es sind uns jene Untersuchungen von Eisenberg, Volk, Landsteiner, Jagič und Biltz bekannt, welche die Bindung der Agglutinine durch Bakterien auf kolloidchemische, namentlich auf Adsorptionsvorgänge zurückführen; unser heutiges Wissen über das Agglutinationsphänomen schließt diese Möglichkeit überhaupt nicht aus. Abgesehen davon, daß diese Ansicht von zahlreichen positiven Versuchen gestützt wird, fand auch die schwierige Frage der Spezifität ihre Erklärung.

Wenden wir nun unsere Aufmerksamkeit jener Tatsache zu, daß das Agglutinationsphänomen nur in salzhaltigem Medium zustande kommt. Warum bei der Agglutination die Gegenwart von Salzen notwendig ist, läßt sich auf zweierlei Art erklären: ihre Gegenwart dürfte entweder bei der Ausflockung der Bakterien, oder bei der Adsorption der Agglutinine notwendig sein. Zweifellos ist bei der Ausflockung der Bakterien die Gegenwart von Salzen nötig; dagegen wurde mehrfach behauptet, daß die Adsorption der Agglutinine auch in einem Medium ohne Salzgehalt zustande kommen könne. Zwar hielt Lange diese letztere Behauptung für nicht völlig berechtigt, doch können wir sie akzeptieren mit der Voraussetzung, daß eine Adsorption in salzhaltigem Medium jedenfalls viel intensiver ist, als in solchem ohne Salz. Was nun das saure Medium betrifft, so können wir auf jene bekannte

Tatsache hinweisen, daß eben schwache Säuren zur Abtrennung der Agglutinine von den Bakterien geeignet sind.

Wenn wir jetzt die Adsorption der Agglutinine durch Bakterien mit der Adsorption seitens des Niederschlages vergleichen, so können wir zwischen beiden Vorgängen weitgehende Analogien wahrnehmen. Namentlich verhält sich der Agglutinin adsorbierende Niederschlag ebenso wie die Agglutinine adsorbierenden Bakterien. Eben deshalb adsorbierte jener Niederschlag, den ich mittels Dialysierung erhielt, der also in einem salzlosen Medium entstand, die Agglutinine nicht, und dasselbe sahen wir gelegentlich der Salzsäure- und Kohlensäure-Fällungsmethoden, wo der Niederschlag in sauer reagierendem Medium zustande kam. Dieser Umstand erklärt also nicht nur die obigen negativen Resultate, sondern beweist auch, daß es sich beim Ausscheiden der Agglutinine tatsächlich um eine Adsorption handelt. Die Versuchsergebnisse wurden aber andere, sobald ich mich den Aussalzungsmethoden zuwandte. Das salzhaltige Medium, welches zur Adsorption der Agglutinine durch Bakterien am günstigsten ist, ermöglichte auch diesmal eine intensive Adsorption, wodurch der Niederschlag agglutinierende Eigenschaften erhielt.

Als Beweis des Gesagten mögen jene Adsorptionsversuche dienen, die ich mit feinverteilten, daher zur Adsorption besonders geeigneten, indifferenten Substanzen teils in salzhaltigen, teils in salzlosen und sauren Medien ausführte.

A. Versuche mit Kaolin.

1) Zu 2 ccm mit NaCl 1:6 verdünntem Paraty. B-Serum setzte ich 0,1 g Kaolin hinzu und ließ die Mischung 2 Stunden lang unter wiederholtem Schütteln stehen. Nach Verlauf dieser Zeit zentrifugierte ich das Kaolin aus, wusch es 3mal mit dest. Wasser, suspendierte es in 2 ccm 100/n NaOH-Lösung und setzte es für 1 Stunde in ein Wasserbad von 65° C¹). Jetzt entfernte ich das Kaolin aus der Lösung, neutralisierte letztere mittels 10/n HCl und stellte sowohl mit ihr, wie auch mit dem vom Kaolin abpipettierten Serum Agglutinationsproben ein. Dasselbe führte ich mit Ty.-Serum aus.

1) Dieses Verfahren dient zur Abtrennung der adsorbierten Agglutinine.

Tabelle IX.

	Serum	Agglutinationstiter des vom Kaolin abpipettierten Serums	Agglutinationstiter der nach der NaOH-Behandlung von Kaolin gewonnenen Flüssigkeit
I.	Paraty. B	1 : 12 000	1 : 200
II.	Ty.	1 : 5000	1 : 18

(Titer des Paraty. B-Serums 1 : 14 000, des Ty.-Serums 1 : 6000.)

Diesen Versuch stellte ich auch mit Paraty. A-Serum (Titer 1 : 12 000) ein, jedoch mit dem Unterschied, daß ich dabei eine viel höhere Serumverdünnung benützte. Ich nahm 2 ccm 1 : 1000 verdünntes Paraty. A-Serum, dazu kam 0,1 g Kaolin usw. — Die Ergebnisse waren folgende: Agglutinationstiter des vom Kaolin abpipettierten Serums = 0. Agglutinationstiter der nach NaOH-Behandlung aus dem Kaolin gewonnenen Flüssigkeit = 0.

2) 1 ccm Paraty. B- und Ty.-Aggl.-Serum wurde mit 1 ccm 10/n HCl und 0,1 g Kaolin versetzt. Weitere Versuchsanordnung wie oben.

Tabelle X.

	Serum	Agglutinationstiter des vom Kaolin abpipettierten Serums	Agglutinationstiter der nach NaOH-Behandlung vom Kaolin gewonnenen Flüssigkeit
I.	Paraty. B	1 : 13 000	1 : 24
II.	Ty.	1 : 6000	—

(Titer des Serums Paraty. B 1 : 14 000, des Ty.-Serums 1 : 6000.)

Der Versuch wurde auch mit 1 : 1000 verdünntem Paraty. A-Serum angestellt:

Agglutinationstiter des vom Kaolin abpipettierten Serums 1 : 1500.

Agglutinationstiter der nach NaOH-Behandlung aus dem Kaolin gewonnenen Flüssigkeit = 0.

3) 1 ccm eines mit NaCl 1 : 5 verdünnten Paraty. B-Serums dialysierte ich 3 Tage hindurch gegen fließendes Wasser, bis sich die in den Hüllen befindliche Flüssigkeit auf das Doppelte vermehrte. Die eine Hälfte des dialysierten Serums diente zur Kontrolle, die andere wurde mit 0,05 g Kaolin versetzt; beide standen 2 Stunden lang, wurden inzwischen mehrmals geschüttelt. Nachher zentrifugierte ich das Kaolin aus, wusch es 3mal mit destilliertem Wasser, suspendierte es in 2 ccm 100/n NaOH-Lösung und setzte es für 1 Stunde in ein Wasserbad von 65° C; dann entfernte ich das Kaolin aus der Lösung, neutralisierte letztere, und stellte sowohl mit ihr, wie mit dem von Kaolin abpipettierten Serum Agglutinationsproben ein. In das zum Kontrollversuch dienende dialysierte Serum gab ich einige NaCl-Kristalle. — Einen ganz ähnlichen Versuch stellte ich auch mit Ty.-Serum an.

Tabelle XI.

	Serum	Agglutinationstiter des von Kaolin abpipettierten Serums	Agglutinationstiter der nach NaOH-Behandlung aus Kaolin gewonnenen Flüssigkeit	Agglutinationstiter des Kontrollserums
I.	Paraty. B	1 : 10 500	—	1 : 10 500
II.	Ty.	1 : 6000	—	1 : 6000

Versuche mit 1 : 1000 verdünntem Paraty. A-Serum ergaben:
 Agglutinationstiter des vom Kaolin abpipettierten Serums = 1 : 1000.
 Agglutinationstiter der nach NaOH-Behandlung des Kaolins gewonnenen Flüssigkeit = 0.

Fassen wir nun die gewonnenen Resultate zusammen. Zweifellos spielt die Reaktion, bzw. der Salzgehalt des Mediums bei der Adsorption eine wichtige Rolle. Beim 1. Versuch enthielt die aus dem Kaolin nach dem Abtrennungsvorgang gewonnene Flüssigkeit in jedem Falle Agglutinine; dagegen wurde dies bei dem Versuch 2 nur einmal beobachtet; bei dem Versuch 3 überhaupt nicht. — Bemerkenswert sind außerdem die Versuche mit hochverdünntem Paraty. A-Serum. Beim Versuch 1 besaß das vom Kaolin abpipettierte Serum überhaupt keine Agglutinine; wogegen bei dem Versuch 2 und 3 das Gegenteil zu beobachten war. Dieses Verhalten weist darauf hin, daß im salzhaltigen Medium (Versuch I) die gesamten Agglutinine adsorbiert wurden, im sauren und salzhaltigen Medium (Versuch 2 und 3) dagegen dies nicht der Fall war. Es ist allerdings auffallend, daß bei dem mit Paraty. A-Serum ausgeführten Versuche die aus dem Kaolin durch NaOH-Behandlung gewonnene Flüssigkeit nicht agglutinierte; diesbezüglich aber muß man bemerken, daß die Abscheidungstechnik der Agglutinine auch von Bakterien, viel mehr aber von Kaolin und ähnlichen Stoffen noch recht mangelhaft ist. Außerdem muß beachtet werden, daß die Adsorption der Agglutinine diesmal nicht so intensiv wie bei den Aussalzungsverfahren war; diesbezüglich aber muß darauf hingewiesen werden, daß bei den Kaolinversuchen der Adsorbent nicht im Innern der Flüssigkeit entstanden ist, was wohl die Möglichkeit der Adsorption vermindert, ferner blieb sicherlich infolge

Unzulänglichkeit der Technik eine gewisse Menge von Agglutinen an Kaolinkörnchen haften.

B. Versuche mit Tierkohle¹⁾.

1) Adsorptionsversuch in salzhaltigem Medium; 2 ccm des mit NaCl 1:6 verdünntem Paraty. B-Serum (Agglutinationstiter 1:14 000) und 4 cg Kohle. (Weitere Technik wie bei den Kaolinversuchen.)

Agglutinationstiter des von der Kohle abpipettierten Serums = 1:12 000.

Agglutinationstiter der durch NaOH-Behandlung der Kohle gewonnenen Flüssigkeit = 1:100.

2) Adsorptionsversuch in saurem Medium: 1 ccm Paraty. B-Serum (Titer 1:14 000) verdünnt mit 1 ccm 10/n HCl und vermischt mit 1 cg Kohle.

Agglutinationstiter des von der Kohle abpipettierten Serums = 1:13 500.

Agglutinationstiter der durch NaOH-Behandlung der Kohle gewonnenen Flüssigkeit = 1:32.

3) Adsorptionsversuch ohne Gegenwart von Salz: 2 ccm dialysiertes Ty.-Serum (Titer 1:6000) und 10 cg Kohle. (Einzelheiten der Technik wie bei den Kaolinversuchen.)

Kontrollversuch mit dialysiertem Serum; aggl. bis 1:5500.

Agglutinationstiter des von der Kohle abpipettierten Serums = 1:5120.

Agglutinationstiter der durch NaOH-Behandlung der Kohle gewonnenen Flüssigkeit = 1:15.

Wie zu ersehen, sind die Resultate dieser Versuche gleichzeitig mit den Kaolinversuchen; allerdings muß auch hier bemerkt werden, daß die zur Abscheidung der adsorbierten Agglutinine dienenden Methoden unvollkommen sind und man eine genauere Wertung der Unterschiede zwischen den in verschiedenen Medien ausgeführten Adsorptionsverhältnissen gewinnt, wenn man eher die Abnahme des Serumtiters, als die Agglutinationswirkung der durch das Abscheidungsverfahren gewonnenen Flüssigkeit in Betracht zieht. Auf diese Weise erkennt man sehr beachtenswerte Tatsachen; es hat sich nämlich der Titer des benutzten aggl. Serums im salzhaltigen Medium um 2000 verringert, im sauren Medium hingegen nur um 500, im dialysierten Medium bloß um 380 (letzte

1) Carbo animalis. Oesterr. Verein für chem. u. metallurgische Produktion.

Zahl bezieht sich natürlich auf den Titer des dialysierten Serums). Jedenfalls dürfen wir den Umstand keinesfalls außer acht lassen, daß wir bei der Untersuchung der nach dem Abscheidungsverfahren gewonnenen Flüssigkeit ein mit dem Erwähnten übereinstimmendes Resultat erhielten.

Nun haben wir noch die Frage zu beantworten, weshalb der Titer der die Agglutinine enthaltenden Fraktionen so erheblich schwankt. Die Antwort ergibt sich aus dem Gesagten folgendermaßen:

a) Der in Lösung gebliebene Teil des dialysierten Serums zeigte deshalb einen schwankenden Titer, weil das Ausfallen des Niederschlages in den jeweilig in mehr oder weniger von Salzen befreiten Medien geschah, so daß in dieser Weise wechselnde Mengen der Agglutinine durch den gebildeten Niederschlag adsorbiert wurden, und hier können wir mit Recht auf die Fehlerquellen hinweisen, welche bei den Dialysierungsversuchen immer vorkommen.

b) Bei der Salzsäuremethode zeigte der in Lösung gebliebene Teil der einzelnen Sera nur minimale Schwankungen dank dem Umstand, daß die Dosierung der Säure genau und gleichzeitig geschah.

c) Bei der Kohlensäuremethode war die Dosierung der Säure unvollkommen und ungenau, zusehends die anwesende ungleiche Säuremenge die Adsorption mehr oder weniger stark hemmte.

d) Bei den Aussalzungsmethoden können die Schwankungen auf die große Salzdosierung (in Substanz im Ueberschuß!) zurückgeführt werden.

Zusammenfassung.

1) Aus den agglutinierenden Seris sind die Agglutinine nicht mit allen jenen Methoden ausfällbar, welche zur Ausscheidung der Globuline geeignet sind. Namentlich enthält jener Globulinniederschlag, welcher durch Dialysierung, Kohlensäure und Salzsäure gewonnen wurde, keine Agglutinine, wegen die Ausfällung der Agglutinine bei den Aussalzungsmethoden mittels Ammoniumsulfat, Magnesiumsulfat und Natriumsulfat zustande kommt.

2) Die Ursache des Unterschiedes zwischen den einzelnen Methoden liegt darin, daß das Ausfallen der Agglutinine ein physikalisch-chemischer bzw. Adsorptionsvorgang ist, wobei der entstandene Globulinniederschlag nur die Rolle des Adsorbenten spielt. Die Reaktion, bzw. der Salzgehalt des Mediums aber — in welchem sich dieser Vorgang abspielt — ist ein gewichtiger Faktor beim Eintreten oder Wegbleiben der Adsorption, und zwar in solchem Sinne, wie wir das bei der Adsorption der Agglutinine seitens der Bakterien sehen, nämlich der Vorgang spielt sich am vollständigsten im salzhaltigen Medium ab, wogegen ein Medium ohne Säure oder Salz für die Adsorption ungünstig ist.

3) Die Agglutinine können nicht als Serumglobuline aufgefaßt werden; die Frage ihrer chemischen Zugehörigkeit muß heute noch als unentschieden betrachtet werden.

Literatur.

- 1) Pick, Hofmeisters Beitr. zur chem. Physiologie u. Pathologie, Bd. 1, 1901, S. 321, 393, 445.
- 2) Widal et Sicard, Annales de l'Institut Pasteur, 1897, p. 378.
- 3) Winterberg, Untersuchungen über das Typhusagglutinin und die agglutinierbare Substanz der Typhusbazillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, 1899, S. 375.
- 4) Landsteiner und Calvo, Zur Kenntnis der Reaktionen des normalen Pferdeserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 1902, S. 781.
- 5) Wolff, Ueber den Gehalt der einzelnen Eiweißfraktionen des Serums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 1903, S. 703.
- 6) Pfeiffer und Proskauer, Beiträge zur Kenntnis der spezifisch wirksamen Körper im Blutserum von Cholera-immunen Tieren. Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, 1896, S. 191.
- 7) Ehrlich und Brieger, Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, 1893, S. 336.
- 8) Schierge, Ueber die Beziehungen der Typhusagglutinine zu den Eiweißkörpern des Serums. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, S. 527.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität in
Budapest (Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).]

**Ueber die Isolierung und Bestimmung der komplement-
bindenden Substanz syphilitischer Sera.**

I. Mitteilung.

Von Dr. **Franz Skrop**,
Assistenten des Institutes.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Juni 1922.)

Seitdem die Komplementbindung in die Luesdiagnose eingeführt wurde, waren die Forscher stets bestrebt, Wesen und Ablauf der Reaktion, sowie die chemische Beschaffenheit der dabei beteiligten Substanzen zu bestimmen. Ein Teil der Forscher führte die Differenz zwischen normalem undluetischem Serum auf Veränderungen des Serumeiweißes, oder auf ein Labilwerden der Serumkolloide zurück; dieses war der leitende Gedanke bei der Bestimmung des quantitativ oder qualitativ veränderten Verhältnisses der einzelnen Eiweißarten, sowie der auf eine veränderte Ausflockbarkeit oder auf Eiweißspaltprodukte zielender Untersuchungen. Hinsichtlich dieser fanden manche Forscher, daß die Globuline derluetischen Sera gegenüber der normalen labiler, leichter ausflockbar sind; einige haben auch Eiweißspaltprodukte gefunden. Auf dieser Labilität beruht ein Teil der neueren Flockungsreaktionen. Andere Forscher haben wieder die Vermehrung oder Veränderung der Lipoide imluetischen Serum nachgewiesen; manche nahmen sowohl eine Veränderung des Eiweißes wie auch der Lipoide an und erklären die Komplementbindungs-, sowie auch die Flockungsreaktionen durch die Wirkung der Extraktlipoide auf die veränderten Globuline und Lipoide.

Diese Untersuchungen konnten weder über die im Organismus ablaufenden Veränderungen, noch über das Wesen

der Reaktion selbst befriedigende Aufschlüsse geben; besonders lassen die auf die Reaktion bezüglichen Untersuchungen viel zu wünschen übrig, was schon daraus zu ersehen ist, daß nach Auftauchen neuer Momente auch die Theorie der Reaktion erhebliche Aenderungen erfahren hat. Die Ursache dieser Schwankungen der Theorie ist vielleicht darin zu suchen, daß oft Versuchsergebnisse einseitig beurteilt wurden und man nicht genügend beachtete, daß die Reaktion in Elektrolyten abläuft, wo die physikalisch-chemischen Verhältnisse eine ebenso große Rolle spielen können, wie bei anderen serologischen Erscheinungen.

Den Gegenstand meiner Untersuchungen bildete die komplementbindende Substanz luetischer Sera, wobei ich dieselbe zu isolieren und näher zu bestimmen versuchte.

Bei meinen Versuchen habe ich zwei Richtlinien genommen. Zuerst hielt ich mich an die üblichen Verfahren in der Hoffnung, es könnte mir eine bisher nicht beobachtete Erscheinung neue Gesichtspunkte eröffnen für meine weiteren Versuche. Andererseits habe ich bei der Untersuchung luetischer Sera mit bisher noch nicht benützten Methoden gearbeitet.

Die durch verschiedene Methoden erhaltenen Stoffe wurden untereinander und mit dem ursprünglichen Serum quantitativ verglichen; nur auf diese Weise erhaltene Resultate habe ich als beweisend betrachtet. Die benützte Antigendose hatte noch mit 0,001–0,002 ccm stark positiver Sera komplette Bindung ergeben, wogegen negative Sera auch in Dosen von 0,8 ccm nicht banden. Die von mir hergestellten Substanzen wurden angefangen von der Menge, die 0,1 Serum entspricht, in fallenden Dosen zur Komplementbindung eingestellt.

Als Antigen benützte ich einen wässrigen Extrakt aus luetischer Fötalleber, dessen Dosis bei der gewöhnlichen Komplementbindungsreaktion (in 2,5 ccm Gesamtflüssigkeit) 0,3 ccm einer 1:10 Verdünnung betrug. Bei sämtlichen Untersuchungen wurde dieses Antigen benützt.

Als Komplement diente frisches Meerschweinchenserum in einer Verdünnung 1:20, wobei als komplettierende Dose diejenige Menge ermittelt wurde, welche bei 2,5 ccm Gesamtflüssigkeit 1 ccm einer sensibilisierten Blutkörperchenaufschwemmung in Anwesenheit der oben erwähnten Antigendose vollkommene Lyse bewirkte.

Die Proben wurden mit einer Gesamtmenge von 2,5 ccm eingestellt. Nach Zugabe der sensibilisierten Blutkörperchen wurden die Versuchsröhrchen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° C im Wasserbade gehalten und nachher, sowie

nach 12stündigem Verweilen im Eisschranke, das Resultat abgelesen. Vollkommene Hemmung wurde mit + + +, schwache Lösung mit + +, leichte, aber doch ausgeprägte Hemmung mit + bezeichnet; blieben sehr wenig ungelöste Blutkörperchen zurück, so zeichnete ich mit ±; — bedeutet komplette Hämolyse.

Die bei meinen späteren Versuchen verwandten Sera wurden bei 56° C eine halbe Stunde inaktiviert; sie waren höchstens wenige Tage alt; nur durch eine vorherige Komplementbindung als + + +, + + und — befundene Sera wurden verwandt. Von solchen Seris habe ich gleichzeitig positive und negative in Versuch genommen. Sämtliche Versuche wurden viermal wiederholt und aus dem erhaltenen Mittelwert meine Schlüsse gezogen.

Selbstverständlich wurden bei der Komplementbindungsreaktion auch Proben ohne Antigen eingestellt, um durch etwa vorhandene Eigenhemmung entstandene Fehler auszuschalten. (Letztere sind in den Tabellen nicht aufgenommen.)

Versuche.

Trennung der Albumine und Globuline durch Salzsäure.

Zu 1 ccm Versuchsserum wurden 8,5 ccm n/275 HCl gegeben und nach mehrstündigem Stehen abzentrifugiert, die Flüssigkeit abpipettiert; die Säure wurde mit 1-proz. Na₂CO₃ neutralisiert und durch Zusatz entsprechender Mengen 8,5-proz. NaCl isotonisch gemacht. Der Niederschlag wurde nach mehrmaligem Waschen mit destilliertem Wasser in 2,5 ccm einer 0,85-proz. Lösung NaCl, die ein wenig 1-proz. Na₂CO₃ enthielt, aufgelöst. Mit den so erhaltenen Lösungen der zwei Serumfraktionen (einzeln, dann wieder vereinigt) wurden bei gleichbleibenden Komplement- und Antigen Dosen in fallenden Mengen Komplementbindungsproben eingestellt.

Nachstehende Tabelle zeigt die Ergebnisse.

I.
19. II. 1921. 9a, b Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Dose	Albuminlös. 1:10						0,2	0,4	0,6	0,8	1,—	0,2	0,4	0,6	0,8	1,—
	Globulinlös. 1:2,5		0,05	0,1	0,15	0,2	0,25					0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
Resultat mit	positivem Serum		—	—	—	±	±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	negativem Serum		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entsprechende Originalserummenge	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1						
Fraktion	Globulin					Albumin					Globulin und Albumin					

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß das Globulin des positiven Serums nur in einer der bei der Wassermannschen Reaktion benützten Serummenge entsprechenden Dosis eine leichtgradige Bindung ergab, wogegen die abpipettierte Flüssigkeit noch in kleinsten Dosen komplette Bindung gab; dieselben Fraktionen des negativen Serums gaben keine, die vereinten Fraktionen aber eine normale Bindung.

Im Zusammenhang mit diesem Versuch habe ich die Aufeinanderwirkung homologer und heterologer Fraktionen von positiven und negativen Seris untersucht.

II.

19. II. 1921. 9c Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Albuminverd. 1:10						0,2	0,4	0,6	0,8	1,—	0,2	0,4	0,6	0,8	1,—	0,2	0,4	0,6	0,8	1,—
Globulinverd. 1:2,5	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25										
Resultat	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	±	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
Fraktion	+ Glob., — Alb.					+ Glob., — Alb.					— Glob., + Alb.					+ Alb., — Alb.				

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die Fraktionen des negativen Serums mit jenen des positiven ein wenig hemmend wirken.

Dialyse.

Behufs Trennung der Albumine und Globuline habe ich dann auch die Dialyse herangezogen.

Zu diesem Zweck bediente ich mich der für die Abderhaldensche Reaktion gebräuchlichen Hülsen, sowie der von Kapsenberg empfohlenen Amnionhülsen. Das unverdünnte Serum wurde durch 24—36 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert und nachher zentrifugiert. Die Flüssigkeit wurde abpipettiert und durch Zugabe von NaCl isotonisch gemacht, der Niederschlag aber bis zur Menge des Serums in wenig Na₂CO₃ enthaltendem 0,85-proz. NaCl gelöst. Beide Flüssigkeiten wurden dann, wie vorher bei der Salzsäuremethode, zur Komplementbindungsreaktion herangezogen laut nachstehender Tabellen.

III.

11. II. 1921. 7 a, b Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Globulin	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1						0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Albumin						0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Res. m. pos. Ser.	-	-	-	-	++	+	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
Res. m. neg. Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±
Fraktion	Globulin					Albumin					Globulin und Albumin				

Die Aufeinanderwirkung des positiven und negativen Serums :

IV.

11. II. 1921. 7 c Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Albumin		0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Globulin		0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Resultat	-	-	±	+	++	-	++	+++	+++	+++	+++
Fraktion	+ Glob., - Alb.						- Glob., + Alb.				

Durch das Dialysierverfahren konnte ich wieder feststellen, daß die bindende Substanz fast restlos in der Lösung zurückgeblieben ist.

Die Trennung der zwei Fraktionen habe ich auch mit Kohlensäure, Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat in üblicher Weise durchgeführt; die Ergebnisse dieser Versuche waren größtenteils mit den vorherigen übereinstimmend.

Die Versuche ergaben, daß diese Trennungsmethoden, auch wenn sie mit größter Vorsicht und Präzision durchgeführt werden, nicht zweckentsprechend sind, denn einerseits gelingt es niemals, die bindende Substanz in eine Fraktion zu separieren, andererseits stimmen die quantitativen Verhältnisse auch bei ein und demselben Serum nicht, wenn nach verschiedenen Methoden gearbeitet wird.

Da diese Versuche zeigten, daß nicht das Eiweiß die gesuchte Substanz ist, glaubte ich auf weitere Untersuchungen der einzelnen Eiweißfraktionen verzichten zu dürfen.

Lipoidextrahierungsmethoden.

In anderen Versuchsreihen habe ich die Lipoidextrahierungsmethoden angewendet.

Die Extrakte wurden aus unverdünntem Serum mit der neunfachen Menge Alkohol, Aether und eines Gemisches von gleichen Teilen Alkohol-Aether erhalten. Die Mischungen wurden 24—36 Stunden geschüttelt oder im Brutschrank gehalten und öfters durchgeschüttelt. Das Extrahierungsmittel wurde abpipettiert und im Wasserbade oder im Vakuumapparat eingedampft. Den Rückstand löste ich in einer dem Serum entsprechenden Alkoholmenge und verdünnte mit 0,85-proz. NaCl im Verhältnisse 1 : 5.

Die Versuchsergebnisse sind im folgenden zusammengestellt:

Extraktlipoid.

V.

23. VII. 1921. 16 Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lipoidverdünnung 1 : 5	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Resultat / Lipide pos. Ser.	—	—	—	±	±	++	++	+++	+++	+++
Resultat / Lipide neg. Ser.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entsprechende Originalserummeng	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,12	0,14	0,16	0,18

Restserum.

VI.

15. II. 1921. 8d Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Restserumverdünnung 1 : 5	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Resultat mit pos. Serum	—	—	±	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Resultat mit neg. Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entsprechende Originalserummeng	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,12	0,14	0,16	0,18

Wie aus den Tabellen zu ersehen, ist nur ein Teil des komplementbindenden Stoffes in die Extrahierungsmittel übergegangen, wogegen dessen größter Teil im Serum selbst zurückgeblieben ist. Aus dieser Tatsache dürfte man wohl den Schluß ziehen, daß nicht die Lipide als die komplementbindende Substanz anzusehen sind.

Wie aus dem Serum, habe ich auch aus dem wässerigen Antigen auf ähnliche Weise Extrakte hergestellt. Den Rückstand, welchen ich in einer dem Antigen entsprechenden Alkoholmenge löste, den Antigenrest sowie das Originalantigen habe ich aus der Verdünnung 1 : 5 in fallenden Mengen

mit je 0,1 ccm positiven bzw. negativen Serums zur Komplementbindungsprobe eingestellt, wie nachstehende Tabelle zeigt:

VII.
23. VII. 1921. 16, 17 Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Verdünnung 1 : 5	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Antigen-) mit pos. Ser. extrakt / mit neg. Ser.	—	—	—	—	—	—	±	++	++	++
Antigen-) mit pos. Ser. rest / mit neg. Ser.	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
Original-) mit pos. Ser. antigen / mit neg. Ser.	—	±	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Entsprechende unver- dünnte Antigenmenge	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,12	0,14	0,16	0,18

Dieser Versuch zeigt, daß ein mit Lipoidextrahierungsmethoden behandeltes Antigen in seiner bindenden Kraft kaum beeinflußt wird und der Extrakt mit positivem Serum erst in fast dreifach konzentrierter Dosis eine minimale Bindung aufweist.

Elektrische Methode.

Da ich durch diese Versuche mein Ziel, die komplementbindende Substanz zu isolieren, nicht erreicht hatte, habe ich elektrische Methoden angewendet mit der Annahme, daß hier vielleicht eine durch ihre elektrische Ladung gekennzeichnete Substanz die führende Rolle spielt, die durch Kataphorese aus dem Serum isolierbar wäre.

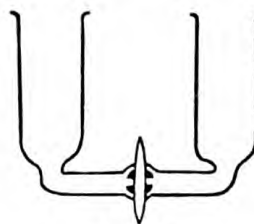


Fig. 1.

Zu Anfang meiner diesbezüglichen Versuche habe ich ein U-förmiges Glasrohr (18 mm Durchmesser, mit einem Hahn in der Mitte, siehe Fig. 1) angewendet. Als Elektroden wurden mit 0,85-proz. NaCl gefüllte, nicht-polarisierende Kalomelektroden benützt. Der Strom wurde durch auf die Seitenröhre der Elektroden angepaßte Pinsel zugeführt. Das U-Rohr wurde mit 1 : 10 verdünntem Serum gefüllt und 12 Stunden lang mit einem Strom von 4 Volt und 0,003 Ampère durchgeströmt. Nach 12 Stunden wurde der Hahn gesperrt und die in den Seitenstücken befindliche Flüssigkeit in fallenden Dosen (1 : 10 und 1 : 50 Verdünnung) zur Komplementbindung eingestellt. Das Resultat war folgendes.

VIII.

5. VIII. 1921. 24 a. Versuchstabelle.

No. d. Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Verd. 1:50 resp. 1:10	50× 0,05	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,—	10× 0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,—
+ Pol	—	—	—	—	—	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
— Pol	—	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Entsprechende Serummeng	0,001	0,002	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1

Wie man sieht, gaben beide Flüssigkeiten Komplementbindung, jedoch erhielt die Flüssigkeit am — Pol die bindende Substanz vierfach konzentrierter, als die am positiven Pol. Die Ursache dessen, daß es mir nicht gelang, die bindende Substanz vollkommen an den negativen Pol zu konzentrieren, erblickte ich in der ungenügenden Stromstärke, was meine späteren Versuche bestätigen sollten.

Bei späteren Versuchen habe ich das von Michaelis zur Bestimmung der elektrischen Ladung der Enzyme verwendete U-förmige Rohr benützt, welches durch zwei Hähne in drei Teile geteilt ist (siehe Fig. 2) und Kalomelelektroden hat. Bei der Einstellung wurde der mittlere Teil

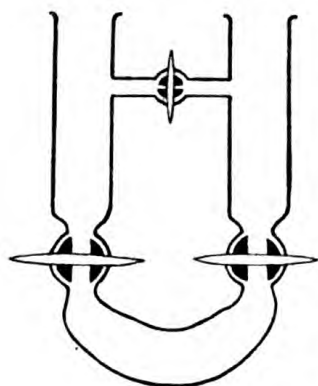


Fig. 2.

mit 1:25 verdünntem Serum gefüllt und die Hähne gesperrt. Die zwei Seitenrohre wurden mit der Serumverdünnung entsprechenden Mengen 0,85-proz. NaCl gefüllt. Nachdem die Elektroden in die Seitenrohre eingeführt waren, verschloß ich das Nivellierrohr und öffnete nach Einschaltung des Stromes die beiden unteren Hähne. Der durchgeleitete Strom war von 105 Volt, 0,015 Ampère. Der Versuch dauerte 24 Stunden; nachher wurden die beiden unteren Hähne vorsichtig gesperrt, die Elektroden entfernt und die erhaltenen dreierlei Flüssigkeiten zur Komplementbindung eingestellt.

Aus nachstehender Tabelle ist festzustellen, daß die komplementbindende Substanz an der negativen Seite sich sammelte. Die Flüssigkeit an der positiven Seite gab keine Bindung. Der mittlere Teil gab auch Komplementbindung; die bindende Substanz war sonach nicht gänzlich zum negativen Pol übergeführt worden. Negatives Serum hatte keine Aenderung erfahren; alle drei Teile waren stets negativ.

IX.

4. X. 1921. 35. Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Serumverdünnung 1:50 resp. 1:25	50 × 0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	25 × 0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,—
positives Serum	— Pol	—	—	—	—	—	—	±	+++	+++	+++	+++
	Mitte	—	—	—	—	—	+	+	++	+++	+++	+++
negatives Serum	+ Pol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Mitte	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entsprechende serummenge	+ Pol	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Original-	0,001	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,02	0,024	0,028	0,032	0,036

Bei Anwendung höherer Spannung war die Benutzung von Kalomelelektroden nicht ganz einwandfrei, da ich manchmal eine Flüssigkeitswanderung, durch Entstehung von Gasen aus den Elektroden, wahrnehmen konnte; um diesen Uebelstand zu beseitigen, habe ich die Verbindung der beiden Elektroden mit je einem η -förmig gebogenen Glasrohre hergestellt, welche mit 0,85-proz. NaCl enthaltender Gelatine oder Agar gefüllt waren. Dadurch habe ich einerseits verhindern können, daß aus den Elektroden Flüssigkeit in die Seitenrohre des U-Rohres übertreten, andererseits konnte die Salzkonzentration des Versuchsrohres auch keine Aenderung erfahren, da während der Versuchszeit die durch die Differenz der Wanderungsgeschwindigkeit entstandene Verschiebung zwischen Na- und Cl-Ionen nur in der Agar- oder Gelatine-säule sich abspielen konnte.

Statt der Kalomelelektroden wurden später Kupferelektroden benützt, wobei ich noch ein Gefäß mit 0,85-proz. NaCl zwischen Elektrode und U-Rohr eingeschaltet habe. Die Verbindung zwischen Elektrode und NaCl-Lösung, sowie die zwischen letzterer und dem U-Rohr habe ich mit einem 25 cm langen η -Rohr, wie oben beschrieben, hergestellt. Diese Anordnung war auch deshalb vorteilhaft, da die Wanderung der farbigen Kupferionen sehr leicht wahrnehmbar ist, und auf diese Weise man auch auf den zeitlichen Verlauf der Wanderung der gesuchten Substanz Schlüsse ziehen konnte. Mit dieser Versuchseinrichtung habe ich befriedigende Resultate erhalten können.

X.

10. XI. 1921. 43. Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Serumverdünn. 1:25	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6
positives Serum	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++	+++
negatives Serum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+ Pol			Mitte				- Pol				

Wie man sieht, war die komplementbindende Substanz nur am negativen Pol zu finden.

Ich habe versucht, diese Substanz vom Eiweiß zu trennen. Zu diesem Zwecke habe ich, wie aus Fig. 3 zu ersehen ist,

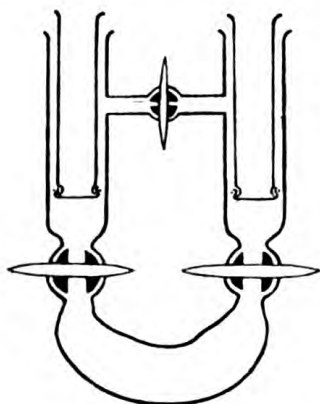


Fig. 3.

die Einrichtung etwas geändert. In die Schenkel des U-Rohres wurden zwei Röhre eingeführt; die unteren Enden dieser Röhre wurden mit Pergamentpapier abgeschlossen. Die Füllung des U-Rohres geschah, wie vorher, mit 1:25 verdünntem Serum. Die Einlagen wurden mit 0,85-proz. NaCl gefüllt. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde jede der 5 Flüssigkeitsfraktionen für sich aufgefangen und zur Komplementbindung verwendet mit nachstehendem Ergebnis.

XI.

2. IV. 1922. 51. Versuchstabelle

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Serumverd. 1:25	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6
positives Serum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	±	+++	+++	+++
negatives Serum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+ Pol Hülse				+ Pol				Mitte				- Pol				- Pol Hülse			

Man kann hieraus feststellen, daß die bindende Substanz am negativen Pol, und zwar größtenteils in der Hülse desselben, vorzufinden war.

Da ich mir die Aufgabe stellte, die Substanz vom Eiweiß zu isolieren, habe ich die einzelnen Fraktionen mit Sulfo-

salizylsäure auf Eiweiß untersucht. Gleichzeitig wurde auch der NaCl-Gehalt mit AgNO₃ titriert.

XII.

2. V. 1922. 66. Versuchstabelle.

	Eiweiß	NaCl-Gehalt
+ Pol, Hülse	negativ	normal (0,85 Proz. entsprechend)
+ Pol	schwach positiv	"
Mitte	stark positiv	"
- Pol	schwach positiv	"
- Pol, Hülse	negativ	"

Die Substanz war also vom Eiweiß getrennt. Bei dieser Versuchsanordnung habe ich beobachten können, daß bei schwächer positiven Seris, wenn in der Hülse eine geringere Menge von 0,85-proz. NaCl-Lösung war, als die Menge der in dem mittleren Teil des U-Rohres befindlichen Serumverdünnung betrug, die Reaktion mit dem Hülseninhalt stärker ausfiel, als mit dem gleichen Volum der Originalserumverdünnung; die bindende Substanz ist sonach eingedickt worden.

Adsorptionsversuche.

Gleichzeitig mit meinen Kataphoreseversuchen, gleichsam diese zu kontrollieren, habe ich auch Adsorptionsversuche an- gestellt. Als Adsorptionsmittel habe ich wohlcharakterisiertes Kaolin verwendet, welches positiv, und Tierkohle, die sowohl positiv wie auch negativ geladene Substanzen zu adsorbieren vermag.

Diese Adsorptionsmittel wurden vorher kontrolliert; aus einer Methylenblau-Eosinmischung wurde durch Kaolin nur das Methylenblau, durch Tierkohle aber beide Farbstoffe adsorbiert. Die elektrische Ladung der genannten Farbstoffe habe ich mit flüssiger Gelatine vermischt, und damit die Mitte eines U-Rohrs gefüllt. Nach der Erstarrung der Gelatinefarbstoffmischung wurde das Rohr mit reiner Gelatine gefüllt und nach deren Erstarrung dem elektrischen Strome ausgesetzt. Nach Beendigung des Versuches war das Eosin in der reinen Gelatine des positiven Poles, das Methylenblau dagegen am negativen Pol angesammelt. Die Wanderungsgeschwindigkeit des Methylenblaus war beiläufig die doppelte der des Eosins.

Nun habe ich meine diesbezüglichen Versuche begonnen nach folgender Methode. Das 1:25 verdünnte Serum habe

ich mit Kaolin, resp. mit Tierkohle versetzt und unter öfterem Aufschütteln $\frac{1}{2}$ Stunde stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde durch Zentrifugieren Serumverdünnung und Adsorptionsmittel getrennt, und mit der abpipettierten Flüssigkeit, sowie mit der Verdünnung des Originalserums Komplementbindungsproben gemacht.

XIII.

21. IV. 1922. 56a. Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Verdünnung 1:25	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6
positives Serum	—	—	—	—	—	—	—	++	±	+++	+++	+++
negatives Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Entsprechende Serummenge	0,004	0,008	0,016	0,024	0,004	0,008	0,016	0,024	0,004	0,008	0,016	0,024
	Verdünnung mit Kaolin behandelt				Verdünnung mit Tierkohle behandelt				Originalverdünnung			

Dieser Versuch stimmte mit den Resultaten meiner Katalaseversuche überein, denn das Kaolin adsorbierte vollkommen die komplementbindende Substanz, letztere besitzt sonach einen elektrisch positiven Charakter. Die Tierkohle adsorbierte seinem amphoterem Charakter entsprechend die Substanz ebenfalls, aber nicht in dem Maße wie das Kaolin.

Mit diesen Versuchen parallel habe ich Eiweißbestimmungen ausgeführt an den mit Adsorptionsmitteln behandelten Serumverdünnungen und den entsprechenden Verdünnungen des unbehandelten Originalserums, und zwar teils mittels Refraktometers, teils durch Präzipitationsreaktionen; auf beide Weise habe ich ganz eindeutige Resultate erhalten. In der nachstehenden Tabelle sind nur die Ergebnisse der Präzipitationsversuche angegeben, da sie eine etwaige Eiweißverminderung viel leichter erkennen lassen.

XIV.

1. V. 1922. 64 a, b. Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6
Verdünnungsgrad	25	500	1000	2000	4000	8000
Präzipitations- resultate	behandeltes Serum					
	+++	+++	+++	+++	±	—
unbehandeltes Serum						
	+++	+++	+++	+++	±	—

Die komplementbindende Substanz wurde durch Kaolin vollkommen adsorbiert, das Eiweiß hingegen blieb in der mit Kaolin behandelten Serumverdünnung quantitativ zurück.

Auch Filtrierversuche habe ich angestellt; 1:25 verdünntes Serum wurde durch eine Berkefeldkerze filtriert, dann das Filtrat, die im Filter zurückgebliebene Flüssigkeit, sowie auch eine Originalserumverdünnung zu Komplementbindungsproben verwandt.

XV.

21. IV. 1922. 56b, c. Versuchstabelle.

No. des Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Verdünnung 1:25	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6	0,1	0,2	0,4	0,6
positives Serum	±	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	++	+++
negatives Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Originalserumverdünnung				Filtrat				Filtrerrückstand			

Die bindende Substanz passiert sonach das Berkefeldfilter nicht, aber nicht deshalb, weil dabei vielleicht molekuläre Größenverhältnisse eine Rolle spielten, sondern weil das Filter sie adsorbiert; das geht auch daraus hervor, daß die im Filter zurückgebliebene Flüssigkeit keine Konzentrierung der bindenden Substanz, sondern sogar eine erhebliche Abnahme derselben erfuhr. Eine Berkefeldkerze hält aus einer Eosin-Methylenblaulösung nur das Methylenblau zurück; aus dem Serum wurde auch nur die positiv geladene Substanz (wie beim Kaolinversuch) adsorbiert.

Die Eigenschaft des Kaolins, daß damit sehr rasch eine Adsorption erreichbar ist, habe ich zur Bestimmung des elektrischen Charakters der bei der I. Phase der Komplementbindungsreaktion eine Rolle spielenden, in verdünntem Zustande jedoch nicht lange haltbaren Substanzen, nämlich des Komplements und Antigens, herangezogen.

Die bei der Komplementbindungsreaktion üblichen Verdünnungen der genannten Stoffe habe ich mit Kaolin versetzt und zentrifugiert; die mit Kaolin derart behandelte Komplementverdünnung, sowie auch die unbehandelte, bei gleicher Temperatur gehaltene Komplementverdünnung wurde in üb-

licher Weise (2,5 ccm Gesamtflüssigkeit, 1 ccm sensibilisierte Blutkörperchen) austitriert. Die behandelte und unbehandelte Antigenverdünnung wurde dagegen mit positiven und negativen Seris zur Komplementbindung eingestellt. In analoger Weise habe ich auch mit Tierkohle Versuche gemacht.

Resultate der Komplementadsorption:

XVI.

22. IV. 1922. 58a, b, c. Versuchstabelle¹⁾.

No. d. Rohres	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Verd. 1:20	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Resultat des Versuches	±	—	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	±	±	±
	originale					mit Kaolin behandelte					m. Tierkohle behd.				
	Komplementverdünnung														

Laut dieser Tabelle hatte das Kaolin die Wirkung des Komplements gänzlich, die Tierkohle nur teilweise aufgehoben. Die wirksame Substanz des Komplementes hat demnach gleichfalls einen elektrisch positiven Charakter; daß sie durch Tierkohle nicht gänzlich adsorbiert wird, ist vielleicht durch ihren schwächeren Charakter bedingt.

Antigenadsorption:

XVII.

25. IV. 1922. 53a, b. Verdünnung.

	Original- verdünnung	Mit Kaolin behandelte Verdünnung	Mit Tierkohle behandelte Verdünnung	Original- verdünnung	Mit Kaolin behandelte Verdünnung	Mit Tierkohle behandelte Verdünnung
Verdünnung 1:10	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
positives Serum	+++	—	—	+++	—	—
negatives Serum	—	—	—	—	—	—
	wässriges Antigen			alkoholisches Antigen		

Aus dem Antigen wurde die wirksame Substanz sowohl durch Kaolin, wie auch durch Tierkohle adsorbiert.

1) — = komplette Hämolyse; +++ = keine Hämolyse.

Die Ergebnisse meiner auf Ausflockungs-, Dialysier- und Lipoidextrahierungsmethoden beruhenden Versuche stimmen teilweise mit den Resultaten anderer Forscher überein; ich habe jedoch auch abweichende Resultate erhalten. Meine Versuche zeigten, daß die komplementbindende Substanz nicht in eine Eiweißfraktion separiert werden kann; auch sind die quantitativen Verhältnisse bei ein und derselben Methode erheblichen Schwankungen unterworfen, um so mehr bei Anwendung verschiedener Methoden. Diese Versuche zeigten ferner, daß die gesuchte Substanz weder ein Eiweiß noch ein Lipoid ist. Die veränderte Ausflockbarkeit der Eiweißfraktionen oder Lipoiden ist auf die Vermehrung gewisser Substanzen in luetischen Seris zurückzuführen; diese Substanzen verändern den Charakter des Mediums, worin sich Eiweiß und Lipoiden befinden. Daß bei diesen Versuchen Eiweißfraktionen und Extraktlipoiden Komplementbindung gaben, läßt sich dadurch erklären, daß bei Trennungsversuchen die bindende Substanz in die Fraktionen übergeführt wurde, jedoch nicht etwa gesetzmäßig, sondern nur zufallsweise. Diese Substanz besitzt, wie die Adsorptions- und Kataphoreseversuche zeigten, elektrisch einen ausgesprochen positiven Charakter. Einige Forscher nehmen an, daß die elektrische Ladung bei den Komplementbindungs- und Flockungsreaktionen eine Rolle spielt, jedoch nur seitens des Eiweißes und der Lipoiden; meine Versuche zeigen dagegen, daß die bindende Substanz von Eiweiß und Lipoiden ganz unabhängig ist und eine restlose Entziehung derselben ohne jeden Eiweißverlust durchführbar ist. Diese Substanz, die in normalen Seris auch vorhanden ist, erfährt durch den luetischen Prozeß eine erhebliche Vermehrung; sie läßt sich konzentrieren, indem man sie in eine kleinere Menge Flüssigkeit hinüberleitet; diese gibt dann eine stärkere Bindung, als das Originalserum.

Aus der Tatsache, daß die wirksamen Bestandteile der bei der Komplementbindungsreaktion angewendeten übrigen Stoffe, nämlich das Komplement und Antigen, gleichfalls positive Ladung besitzen, kann behauptet werden, daß die Komplementbindungsreaktion eine rein physikalisch-chemische Reaktion ist. Eine gewisse Antigenmenge bindet Komplement

35*

auch ohne Anwesenheit von Serum; die bei der Reaktion verwendete Antigendose kann jedoch ihre bindende Wirkung nur zusammen mitluetischem Serum ausüben. Das Plus der imluetischen Serum anwesenden positiv geladenen Substanz ist es, welches durch seine Menge oder sein stärkeres Dissoziationsvermögen das gleichfalls positiv geladene und vielleicht weniger dissoziabile Komplement in der II. Phase wirkungslos macht. Auf derselben Ursache, nämlich auf einem Plus dieser Substanz, beruhen die Labilität des Serumeiweißes sowie auch die Flockungsreaktionen.

Ueber die nähere Bestimmung dieser Substanz soll eine spätere Mitteilung berichten.

Zusammenfassung.

- 1) Die imluetischen Serum anwesende komplementbindende Substanz läßt sich weder in Eiweißfraktionen noch in Extrakte der Lipoide isolieren;
- 2) sie ist weder ein Eiweiß noch ein Lipoid;
- 3) sie ist durch Kataphorese vom Serum trennbar;
- 4) sie besitzt einen ausgesprochen elektrisch positiven Charakter, ist auch in normalem Serum vorhanden, jedoch in minderer Konzentration.
- 5) Die Komplementbindungsreaktion ist ein physikalisch-chemischer Vorgang.

Nachdruck verboten.

**Die Theorie der Oberflächenaktivität und die p_H -Theorie
in ihrer Anwendung auf die Alkaloidwirkungen.**

Erwiderung an die Herren L. Michaelis und
K. G. Dernby¹⁾).

Von **J. Traube.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. September 1922.)

In mehreren zum Teil mit meinen Schülern ausgeführten Abhandlungen²⁾ wurden von mir die innigen Beziehungen dargetan, welche zwischen Oberflächenaktivität und pharmakologischer Wirksamkeit von Alkaloiden bestehen. Es wurde gezeigt, daß die wässerigen Lösungen der meisten Alkaloidsalze nicht oberflächenaktiv sind und erst oberflächenaktiv werden durch Alkalizusatz, in anderen Worten, die Alkaloidionen sind nicht oberflächenaktiv, wohl aber die Teilchen der freien Basen, soweit dieselben in Wasser löslich und genügend dispers sind. Die stalagmometrischen Messungen ergaben, daß mit wachsendem Alkalizusatz zu einer Alkaloidsalzlösung die Oberflächenaktivität so lange zunimmt, wie die Lösungen klar bleiben; die Bildung von Submikronen und größeren Tröpfchen oder Kriställchen aus molekulardispersen Teilchen vermindert die Oberflächenaktivität³⁾. Ganz entsprechend der Zunahme oder Abnahme der Oberflächenaktivität zeigte sich nun eine Zunahme oder Abnahme der pharmakologischen Wirksamkeit, und diese Beziehungen von Oberflächenaktivität und pharmakologischer Wirkung wurden besonders auffällig, wenn man äquivalente Lösungen verschiedener verwandter Alkaloide (der Morphin-

1) L. Michaelis und K. G. Dernby, diese Zeitschr., Bd. 34, S. 194.

2) J. Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912, S. 470; H. Tschernorutzky, ebenda, Bd. 46, 1912, S. 112; Traube und Onodera, Intern. Zeitschr. f. phys.-chem. Biol., Bd. 1, 1914, S. 35; Traube, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, S. 286.

3) Vgl. Traube und Klein, Kolloidzeitschr., Bd. 29, 1921, S. 236.

Cocain-, Chinin- usw. Gruppen) bei gleichem Alkalizusatze miteinander verglich. Stets gingen Oberflächenaktivität und pharmakologische Wirkung einander parallel. Den Dispersitätsverringern der Alkaloide, wie dieselben vielfach beim Altern der Alkaloidlösungen eintraten (beispielsweise Atropin), entsprach stets eine Verringerung der pharmakologischen Wirksamkeit.

In besonders schöner Weise bestätigten sich die Beziehungen zwischen Oberflächenaktivität und in diesem Falle bakterizider Wirkung für die Reihe der Hydrocupreine und deren sogenannte Toxine¹⁾. Nahezu das ganze Verhalten dieser Stoffe gegenüber den Mikroorganismen nach den Arbeiten von Morgenroth und seinen Schülern spiegelte sich wider in den Ergebnissen der stalagmometrischen bzw. viskostagonometrischen Messungen, die sehr große Wirksamkeit dieser Präparate gegenüber einer bestimmten Klasse von Bakterien und Kokken, die relative Wirkungsstärke der Hydrocupreine und Toxine, die verschiedene Wirkung der Homologen derselben Reihe, der Einfluß der Dispersität, sogar die Spezifität der Wirkungen (beispielsweise des Optochins) fanden eine Beantwortung vom Standpunkte der Theorie der Oberflächenaktivität, welche sich ja auch nach anderen Richtungen als sehr fruchtbar erwiesen hat.

Die Theorie der Oberflächenaktivität ist vor allem eine rationelle Theorie. Es besteht ein bestimmter Kausalnexus zwischen Oberflächenaktivität und Wirksamkeit. Besteht doch die erste Bedingung, daß ein Stoff auf eine Zelle, etwa ein Bakterium wirkt, darin, daß der betreffende Stoff sich an der Phasengrenzfläche konzentriert. Wir wissen aber, daß nach dem inzwischen experimentell bestätigten Prinzip²⁾ von Gibbs diese Konzentration um so größer ist, je oberflächenaktiver der betreffende Stoff ist. Die Oberflächenaktivität ist daher der wichtigste Chancefaktor für die Adsorption, die allerdings in erster Linie noch von den elektrostatischen Ladungen abhängt. Wie in einer Arbeit von Traube und Somogyi³⁾:

1) Vgl. J. Traube, diese Zeitschr. l. c.

2) Vgl. Traube und Klein, l. c.

3) Traube und Somogyi, Biochem. Zeitschr., Bd. 120, 1921, S. 90.

Zur Theorie der Desinfektion gezeigt wurde, muß man sich allerdings darauf beschränken, die Beziehungen zwischen Oberflächenaktivität und desinfizierender Wirkung nur auf verwandte Stoffe auszudehnen, aus Gründen, die in jener Mitteilung näher erörtert wurden.

Herr L. Michaelis, mit welchem ich in letzter Zeit wiederholt eine wissenschaftliche Auseinandersetzung über die Wasserstoffionen¹⁾ führte, nötigt mich infolge eines in dieser Zeitschrift in Bd. 34, 1922, gemeinsam mit Dernby veröffentlichten Aufsatzes: Ueber den Einfluß der Alkalität auf die Wirksamkeit der Chininalkaloide zu der vorliegenden Erwiderung.

Die Herren Michaelis und Dernby erkennen zwar die Bedeutung der Theorie der Oberflächenaktivität an, sie meinen aber, daß man für das im Titel ihrer Abhandlung berührte Alkaloidproblem weit exakter die p_H -Theorie an die Stelle der Theorie der Oberflächenaktivitäten setzen könne. Auf S. 215 ihrer Mitteilung sprechen sie von einer „ersten Pionierarbeit“ auf diesem Gebiete.

Von Pionierarbeit kann hier aber doch wohl nicht die Rede sein. Zugegeben, daß die Herren Michaelis und Dernby durch Anwendung der elektrometrischen und anderen Methoden den Nachweis geführt haben, daß die Oberflächenaktivierung der Alkaloide nur auf der Zuführung von Hydroxylionen und nicht auf der Titrationsalkalität beruht, so ist ja selbst dieser Nachweis von mir bereits geführt worden! In der Biochem. Zeitschr., Bd. 42, S. 476, 478 und 481 sowie Traube und Onodera, Intern. Zeitschr. f. phys.-chem. Biol., Bd. 1, S. 55 zeigte ich, daß die Verminderung der Oberflächenspannung bei Zusatz verschiedenster Alkalien zu der wässrigen Lösung eines Alkaloidsalzes mit der Stärke des Alkalis mit seiner Dissoziationskonstante wächst, und später zeigten Windisch und Dietrich²⁾ gleichfalls, daß die Hydroxylionen maßgebend seien.

1) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 107, 1920, S. 295 und Bd. 120, 1921, S. 108; L. Michaelis, ebenda, Bd. 111, 1920, S. 105.

2) Windisch und Dietrich, Biochem. Zeitschr., Bd. 97, 1919, S. 135 und Bd. 100, 1919, S. 130.

Die Herren Michaelis und Dernby weisen auf die große Ueberlegenheit der p_H -Theorie gegenüber der Oberflächenaktivitätstheorie hin, ohne zu erkennen, daß hier überhaupt nicht von einer p_H -Theorie die Rede sein kann.

Das folgende Analogon wird genügen, um selbst dem Laien auf diesem Gebiete den Fehler verständlich zu machen, welchen die Herren Michaelis und Dernby begehen.

Angenommen eine Metallsalzschnmelze wird auf elektrolytischem Wege in Metall und Anion zersetzt, so ist die zugeführte elektrische Energie die Ursache der Zersetzung, und man kann, indem man den näheren Vorgang der Elektrolyse ergründet, eine elektrolytische Theorie desselben entwerfen.

Wird nun die zuzuführende elektrische Energie durch Verbrennung von Kohle erzeugt, so ist es gewiß möglich, quantitative Beziehungen zwischen dem verbrauchten Kohlequantum und der erzeugten elektrischen Energie aufzustellen, aber niemand wird daran denken, eine Kohletheorie der Salzzersetzung für die elektrolytische Theorie zu substituieren!!

Setzen wir anstatt Kohletheorie p_H -Theorie und an Stelle der elektrischen Energie die Oberflächenaktivität, so erkennen wir den Fehler, welchen die Herren Michaelis und Dernby begangen haben. Ein Kausalnexus besteht nur zwischen Oberflächenaktivität und desinfizierender Wirkung. Die Pufferlösung allein desinfiziert nicht, wohl aber gibt es andere oberflächenaktive Stoffe, die auch ohne Alkalizusatz oberflächenaktiv sind und desinfizierend wirken.

Wenn man verschiedene Alkaloide bei demselben p_H vergleicht, so zeigt sich, was die Herren Michaelis und Dernby auf S. 203 und 204 nicht erwähnen, daß die Wirksamkeit der Oberflächenaktivität entspricht. Dasselbe zeigte ich für die Morgenrothschen Präparate. Die Feststellung der Wirkungsreihe dieser Präparate auf S. 203 und 204 der genannten Arbeit rührt daher von mir her, nicht aber von den Herren Michaelis und Dernby. Ebensowenig durften die Herren Michaelis und Dernby auf S. 206 schreiben, „daß die zunehmende bakterizide Wirkung mit zunehmender Alkalität“

und „die Erkenntnis, daß nur die freie Base der Alkaloide giftig ist“, auf ihren Feststellungen beruht. Ein Blick in meine Abhandlungen zeigt, wer hier diese „Pionierarbeit“ geleistet hat.

Endlich weisen die Herren Michaelis und Dernby auf S. 212 ihrer Abhandlung darauf hin, daß die Oberflächenaktivität bei steigender Alkalität ein Maximum hat, und dann wieder fällt. Daß dieses Maximum mit der zunehmenden Kolloidalität der Lösungen, mit der eintretenden Trübung zusammenhängt, habe ich wiederholt¹⁾ überzeugend nachgewiesen; ein Submikron beeinflusst eben die Oberflächenspannung weniger als ein in Einzelteilchen aufgelöstes Submikron. Einen Widerspruch gegen die Oberflächenaktivitätstheorie stellt daher jenes Maximum gewiß nicht dar.

Nicht unbedenklich erscheinen mir die Betrachtungen von Michaelis und Dernby über die medizinische Bedeutung der Befunde auf S. 215 u. f. Das Blut und die übrigen Körpersäfte sind sehr mannigfaltig zusammengesetzte Milieus, so daß es nicht angeht, aus dem p_H -Werte des Blutes etwa feststellen zu wollen, ob ein Medikament wie das Eucupin unter mehr oder weniger optimalen Bedingungen wirkt. Maßgebend ist auch hier nicht das p_H , sondern die Oberflächenaktivität des Eucupins, und diese wird nicht nur durch die Hydroxylionen des Blutes beeinflusst, sondern in hohem Maße von den im Blute vorhandenen Salzen, welche je nachdem sie die Dispersität des Eucupins beeinflussen oder nicht, die Oberflächenaktivität stark herabdrücken oder erhöhen können usw.

Da dürfte es angebracht sein, wenn ich nochmals auf meine Theorie der lokalen Wirkungen der Alkaloide hinweise²⁾, indem von mir gezeigt wurde, daß die lokale Wirkung der Alkaloide nur oder in erster Linie auf den Alkaligehalt der Organe und Säfte zurückzuführen sei. Es wurde von mir gezeigt, daß Alkaloidsalze, die durch Alkalien keine oder nur eine geringe Verstärkung erfahren, meist noch keine erheb-

1) Vgl. Traube, diese Zeitschr., l. c.; ebenso Traube und Klein, l. c.

2) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912, S. 490.

lichen Organwirkungen entfalten, daß aber die übrigen Alkaloide sich entsprechend dem Alkaligehalt und der Stärke des Alkalis in Anbetracht der verschiedenen Empfindlichkeit der Alkaloide gegenüber den Alkalien im Körper an verschiedenen Orten verteilen.

Man kann hiernach durch Zuführung von Alkali Alkaloide bestimmter Art an Körperstellen lokal wirken lassen, an denen sie unter gewöhnlichen Umständen nicht wirken.

In bezug auf die Vorwürfe, welche mir wohl insbesondere Herr Michaelis (siehe S. 211) macht, daß ich mich nicht genügend mit der Wasserstoffionentheorie befreunden könne, verweise ich auf meine diesbezüglichen Mitteilungen. Ich schätze die große Anzahl vortrefflicher Arbeiten, die wir Herrn Michaelis verdanken, sehr wohl, bleibe aber der Ansicht, daß er in der Wertschätzung der Wasserstoffionentheorie — und auch diese neueste Arbeit ist ein Beweis — vielfach zu weit gegangen ist — auf Kosten der Titrationsazidität und anderer Einflüsse.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß allein die Theorie der Oberflächenaktivität geeignet ist, uns über die Wirkung insbesondere verwandter Alkaloide Aufschluß zu geben, daß aber ein Irrtum vorliegt, wenn die Herren Michaelis und Derby glauben, die Theorie der Oberflächenaktivität durch eine p_{H} -Theorie der Alkaloidwirkung ersetzen zu können.

ZE
351
5-6
UNIVERSITY OF ILLINOIS LIBRARY
MAY 10 1923

Zeitschrift

für

Immunitätsforschung und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Bail, Prag, E. F. Bashford, London, S. Belfanti, Mailand, A. Breinl, Liverpool, A. Dieudonné, München, R. Doerr, Basel, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Hamburg, M. Ficker, Berlin, S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, M. von Gruber, München, L. Haendel, Berlin-Dahlem, M. Hahn, Freiburg i. Br., A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, K. Kibkalt, Kiel, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Frankfurt a. M., W. Kruse, Leipzig, K. Landsteiner, Haag, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, L. Michaelis, Berlin, Mießner, Hannover, J. Morgenroth, Berlin, R. Muir, Glasgow, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. v. Ostertag, Stuttgart, R. Otto, Berlin, R. Paltanuf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, P. Schmidt, Halle a. S., Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Bern, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welchardt, Erlangen, E. Weil †, Prag, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER
(Greifswald.)

R. KRAUS
(Sao Paolo.)

H. SACHS
(Heidelberg.)

P. UHLENHUTH
(Marburg a. L.)

35. Band, Heft 5/6.

Mit 4 Abbildungen und 19 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1923

Ausgegeben am 30. Januar 1923.

Inhalt:

	Seite
Haibach, Eugen , Ueber die Haltbarkeit der Antikörper im Rotlauf- und Schweineseuchenserum	407
Radosavljević, Alex. , Ueber das Komplement bei Malaria	429
Dernby, K. G., und Davide, H. , Die Beziehung zwischen Wasserstoffionen- konzentration und Eucupinwirkung auf Diphtheriebazillen. Mit 1 Ab- bildung im Text	447
Dernby, K. G., und Näslund, Carl , Die Beziehung der Wachstumskurven einiger Mikroorganismen der Dysenterie-Coli-Gruppe zur Wasserstoff- ionenkonzentration	450
Sammartino, U. , Beitrag zur Kenntnis und Anwendung einer neuen für Tuber- kulose spezifischen Reaktion mit Pferdeserum (Busacca-Reaktion) . . .	455
Bachmann, W. , Serologische Studien mit Hilfe des Zeißschen Flüssigkeits- interferometers. II. Mitteilung	462
Fukuhara, Y. , Beitrag zur Wertbestimmung des antitoxischen Dysenterie- serums	482
Hoffmann, W. H. , Vergleichende Blutuntersuchungen an Meerschweinchen bei experimenteller Infektion mit Gelbfieber und Weilscher Krankheit. Mit 19 Kurven im Text	488
Went, Stefan , Ueber die agglutinierende Wirkung der Serumfraktionen . . .	503
Skrop, Franz , Ueber die Isolierung und Bestimmung der komplementbindenden Substanz syphilitischer Sera. I. Mitteilung. Mit 3 Abbildungen im Text	523
Traube, J. , Die Theorie der Oberflächenaktivität und die p_H -Theorie in ihrer Anwendung auf die Alkaloidwirkungen. Erwiderung an die Herren L. Michaelis und K. G. Dernby	539
Titel und Inhalt zu Band 35.	

Neuerscheinungen

aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Der Preis für die angezeigten Bücher ergibt sich durch Vervielfältigung der hinter dem Titel stehenden Grundzahl (Gr.-Z.) mit der jeweils geltenden und je nach dem Markwert sich verändernden Schlüsselzahl (S.-Z.). Die für gebundene Bücher sich ergebenden Preise sind nicht verbindlich. Bei Lieferung nach dem Ausland erfolgt Berechnung in der Währung des betr. Landes.

Statistisches und Bakterioskopisches zur Gasödemfrage. Von

Kurt Wolff, Marburg a. L. (Veröffentlichungen aus der Kriegs- und Konstitutionspathologie Heft 10 [III:1].) Mit 5 Tafeln. V, 48 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 3.—

Die Gasödemfrage ist durch die während des Krieges gemachten Erfahrungen in den Streit der Meinungen gezogen worden. Dieser Kampf hat auch heute noch keineswegs seinen Abschluß gefunden. Alte Vorstellungen sind in vieler Beziehung hinfällig geworden, die neuen Ansichten gehen noch stark auseinander. Die vorliegende Arbeit sucht in umfassender Weise zur Lösung des Problems beizutragen auf Grund der Sektionsergebnisse von 184 Gasödemfällen.

Beiträge zur Lehre vom Tetanus. Von Dr. Nico Spiegel, Freiburg i. Br. und

Die Veränderungen der motorischen Ganglienzellen beim Wundstarrkrampf. Von L. Aschoff und G. Reinhold, Freiburg i. Br. (Veröffentlichungen aus der Kriegs- u. Konstitutionspathologie Heft 1/2 [III:2/3].) Mit

1 Tafel. 56 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 2.—

Dem Verfasser der ersten Arbeit stand das gesamte, während des Krieges gesammelte Material zu Gebote. Unter diesem Material befanden sich 149 klinisch sichere Tetanusfälle, die die Grundlage für diese Untersuchung bilden. Die Ergebnisse sind um so belangreicher, als die Unterlagen, aus denen sie genommen wurden, von verschiedenen, voneinander größtenteils ganz unabhängigen Beobachtern stammen.

Die zweite Arbeit enthält die Ergebnisse sorgfältiger systematischer Untersuchungen an 11 Gehirnstämmen und Rückenmarken über die Veränderung der Ganglienzellen.

Original from

UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Literatur über Malaria

aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Der Preis für die angezeigten Bücher ergibt sich durch Vervielfältigung der hinter dem Titel stehenden Grundzahl (Gr.-Z.) mit der jeweils geltenden und je nach dem Markwert sich verändernden Schlüsselzahl (S.-Z.). Die für gebundene Bücher sich ergebenden Preise sind nicht verbindlich. Bei Lieferung nach dem Ausland erfolgt Berechnung in der Währung des betr. Landes.

Die Malaria. Studien eines Zoologen. Von Dr. **Battista Grassi**, o. Prof. der vergleichenden Anatomie an der Universität in Rom. Zweite, vermehrte Auflage. Mit 8 Tafeln und 15 Textabbildungen. VIII, 250 S. gr. 4° 1901
Gr.-Z. 20.—

Nachtrag zur zweiten vermehrten Auflage. 20 S. gr. 4° 1903 Gr.-Z. 2.—

Schmidts Jahrbücher für Medizin 1902:

... eine fleißige, sachkundige und gefällige Bearbeitung des bereits sehr umfangreichen Stoffes. ... Das Werk ist zur Orientierung über diese hochinteressante und aussichtsvolle Forschung besonders geeignet.

Noesske, Straßburg.

Centralblatt für Bakteriologie, I. Abt., Ref., Bd. 31, Nr. 7:

... Grassis Werk darf in seiner deutschen Ausgabe auf dem Arbeitstische keines einzigen deutschen Malariaforschers fehlen. M. Lühe, Königsberg.

Die Malaria der afrikanischen Negerbevölkerung, besonders mit Bezug auf die Immunitätsfrage. Von Dr. **Albert Plehn**, Kaiserl. Regierungsarzt in Kamerun. Mit 1 lithograph. Tafel. 51 S. gr. 8° 1902.
Gr.-Z. 2.50

Weiteres über Malaria. Immunität und Latenzperiode. Von Dr. **Albert Plehn**, Kaiserl. Regierungsarzt in Kamerun. Mit 3 Tafeln. 81 S. gr. 8° 1901
Gr.-Z. 5.—

Berliner klinische Wochenschrift, 1901, Nr. 34:

... Die trefflich ausgestattete Broschüre kann jedem, der sich für Tropenprophylaxe interessiert, aufs dringendste empfohlen werden.

M. Grawitz, Charlottenburg.

Die Malaria unserer Kolonien im Lichte der Kochschen Forschung. Von Stabsarzt Dr. **Vagedes**. Mit 3 Kurven und 2 Tafeln. (Abdruck aus der Festschrift zum sechzigsten Geburtstage von Robert Koch, herausgegeben von seinen dankbaren Schülern. 26 S. gr. 8° 1903
Gr.-Z. 1.—

Einführung in das Studium der Malariakrankheiten mit besonderer Berücksichtigung der Technik. Von Dr. **Reinhold Ruge**, Marine-Generaloberarzt u. Prof. a. d. Univ. Kiel. Zweite, gänzlich umgearbeitete Auflage. Mit 124 Abbild. und Kurven und 23 Fieberkurven im Text, und 2 photograph., 2 farb., 1 lithograph. u. 3 Kurventafeln. IX, 420 S. gr. 8° 1906
Gr.-Z. 11.—

Hygienische Rundschau, 1902, Nr. 10:

... Durch die vorzüglichen Photogramme, die in bekannter meisterhafter Weise von Zettnow hergestellt worden und dem Buche beigegeben sind, wird dasselbe auch für den Laien verständlich. So bildet das Rugesche Buch in Wirklichkeit eine wertvolle Bereicherung unserer Malerialiteratur und zugleich eine wertvolle kritische und auf eigener Anschauung beruhende Zusammenfassung der gegenwärtigen Malariatheorie. Daher sind wir der festen Ueberzeugung, daß das Buch bei jedem, der sich mit Malaria beschäftigt oder mit derselben beschäftigen will, freudigen Anklang finden wird. H. Beck, Berlin.

Der Tropenpflanzer, 1906, Nr. 9:

... Das vorzügliche Werk ist für den Gelehrten wie für den ausübenden Arzt ein grundlegendes Werk.

Fortsetzung auf Seite 4 des Umschlags.

Ueber Malaria und andere Blutparasiten. Nebst Anhang: Eine wirksame Methode der Chromatin- und Blutfärbung. Von Dr. Hans Ziemann. Marinestabsarzt. Mit 165 farbigen Abbildungen und Photogrammen auf 5 Tafeln und 10 Fieberkurven. VI, 191 S. gr. 8° 1898 Gr.-Z. 850

Inhalt: 1. Historischer Ueberblick. 2. Einteilung der Malariaparasiten. 3. Allgemeine Morphologie und Biologie der Malariaparasiten. 4. Der Quartanparasit. 5. Der Tertianparasit. 6. Die Parasiten der estivo-autumnalen Fieber der Italiener. 7. Die sterilen Formen der kleinen Parasiten. 8. Klinische Bedeutung des Parasitenfundes bei tropischen bzw. estivo-autumnalen Fieber. 9. Beeinflussung der Parasiten durch Einwirkungen irgendwelcher Art mit therapeutischen Bemerkungen. 10. Leben der Parasiten in der Außenwelt und der Infektionsmodus. 11. Inkubation. 12. Stellung der Blutparasiten im Tierreiche und Einteilung. 13. Untersuchungen über die Parasiten des Texasfiebers der Rinder. 14. Die Blutparasiten bei Vögeln. 15. Eine neue Parasitenform beim Steinkauz (*Athene noctua*). 16. Blutparasiten bei Kaltblütern. 17. Die sogenannte Cytamöba bacterifera Labbé. — Eine wirksame Methode der Chromatin- und Blutfärbung. — Tafelerklärung. — Fieberkurven.

Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte, 1898, Nr. 23:

... Das höchste Lob verdienen die farbigen Abbildungen der vier ersten Tafeln; Kunstwerk in Anlage und Ausführung, halten sie sich frei von Schematismus und bilden die Perle des ganzen Werkes.

Untersuchungen über Malaria. Von Ronald Ross. Fellow of the Royal College of Surgeons — Fellow of the Royal Society — Companion of the Bath — Professor of Tropic. Medic., University of Liverpool. Mit dem Nobelpreis 1902 gekrönt. Aus dem englischen Original übersetzt von Dr. Schilling. Mit 7 Abbildungen im Text und 9 Tafeln. 100 S. gr. 8° 1905 Gr.-Z. 3.—

Deutsche mediz. Wochenschrift, 1906, 11. Jan.:

... Die deutschen Aerzte müssen Schilling dankbar sein, daß er ihnen dieses im Jahre 1902 mit dem Nobelpreis gekrönte Buch des großen Malariaforschers zugänglich gemacht hat. Der ganze Werdegang der unvergänglichen Untersuchungen von Ross wird mit all seinen Leiden und Freuden so anschaulich geschildert, daß auch diejenigen Leser, welche sich nicht eingehender mit dem Studium der Malaria-krankheiten beschäftigt haben, ein klares Bild gewinnen und der rastlosen Energie, mit der das Ziel verfolgt und schließlich auch erreicht wurde, ihre Bewunderung nicht versagen können!
Hetsch, Berlin.

Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Zusammenfassende Darstellung mit besonderer Berücksichtigung der Malariaparasiten und ihrer nächsten Verwandten. Von Dr. M. Lühe, Privatdozent für Zoologie u. vergl. Anatomie, Assistent am zoologischen Museum Königsberg i. Pr. Mit 35 Abbild. im Text. (Erweiterter Abdruck aus „Centralbl. f. Bakt.“, I. Abt., Bd. 27 u. 28.) IV, 100 S. gr. 8° 1900 Gr.-Z. 280

Deutsche medizinische Wochenschrift, 1901, Nr. 25:

... Es ist ihm gelungen, damit in knapper Form ein Werk zu schaffen, aus dem sowohl der Arzt wie der Zoologe wichtige Kenntnisse schöpfen kann. Dankenswert ist vor allen Dingen auch die Zusammenstellung der von den verschiedenen Forschern benutzte Nomenklatur für die Entwicklungsformen der Malariaparasiten.
H. Kosel, Berlin.

Verzeichnis medizinischer Literatur

Auswahl aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena.
144 S. (Oktavformat.) Herbst 1921 und Nachtrag 8 S. Herbst 1922.

Dieses Verzeichnis enthält in systematischer Einteilung eine reichhaltige Auswahl und Uebersicht der Veröffentlichungen der Verlags-handlung aus den verschiedenen Disziplinen der medizinischen Wissenschaft. Am Schluß ist ein alphabetisches Namenverzeichnis beigefügt, so daß der Katalog gleichzeitig als bibliographisches Hilfsmittel dient und bleibenden Wert behalten wird.

Zusendung erfolgt kostenfrei durch jede Buchhandlung oder vom Verlag. Man verlange Verzeichnis Nr. 29.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA



3 0112 027689683