

THE LIBRARY
OF THE



CLASS B610.5

BOOK Z3-i

Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Ball, 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. Fleker, 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. Kiskalt, 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. 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. 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.)

Vierunddreißigster Band

Mit 2 farbigen Tafeln, 51 Abbildungen, 15 Kurven und 1 Schema im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1922

Alle Rechte vorbehalten.

TO YVESVNU
ALGEBRA
YVESVNU

Inhaltsverzeichnis.

| | Seite |
|--|-------|
| Adelsberger, Luele , siehe Rosenberg, Hans . | |
| Bachmann, W. , Ein Beitrag zur Frage der unspezifischen Hemmungen bei der Wassermannschen Reaktion | 319 |
| Barrera, J. M. de la , siehe Kraus, K. | |
| Beger, H. , siehe Manteufel, P. | |
| Brandt, Robert , Die allgemeine Bedeutung der Kochsalzkonzentration für serologische Reaktionen. Mit 1 Kurve im Text . . | 304 |
| Dernby, K. G. , siehe Michaelis, L. | |
| Friedberger, E., Zorn, Werner, und Meißner, Gertrud , Ueber den Rezeptorenapparat der X- und Z-Bazillen. Mit 41 Abbildungen im Text | 259 |
| Friedberger, E. , Sachliche Richtigstellungen zu den Ausführungen von E. Wolff | 476 |
| Fukuhara, Y. , Zur Bemessung des Hämolysintiters. Eine neue Methode | 136 |
| Gerlach, F. , Serumkrankheit bei Rind und Pferd. Mit 4 Kurven und 2 Abbildungen im Text | 75 |
| Gutfeld, F. v. , Ueber die Konstitution isogenetischer und heterogenetischer Hammelbluthämolysine und ihrer Antigene. (Hämolysinstudien III.) Mit 1 Schema im Text | 524 |
| Hajós, K., und Sternberg, F. , Beiträge zur Frage der unspezifischen Beeinflussung der Immunkörperbildung. Mit 4 Kurven im Text | 218 |
| Kaneko, Renjiro , Ueber die Gewebsreaktion und Antitoxinbildung bei Pferden nach intrapulmonalen Injektionen von Diphtherietoxin | 424 |
| Kolmer, John A. , Der Charakter der Wassermannschen Reaktion bezüglich der Standardisierung der Technik | 341 |
| Kraus, K., und Barrera, J. M. de la , Studien über Flecktyphus in Südamerika. Biologische Reaktionen. 3. Mitteilung. Mit 3 Abbildungen und 10 Kurven im Text | 1 |
| Krumbach, H. , Ueber Befreiung des Pockenimpfstoffes von Begleitbakterien | 477 |
| Lauda, Ernst , Zur Kottmannschen Jodsilbermethode | 455 |
| Luginbühl, Martha , Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion unter Berücksichtigung der Konkurrenz der Antigene | 246 |
| Manteufel, P., und Beger, H. , Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren. (Erwiderung auf die Bemerkungen von Reeser zu unserer gleichlautenden Arbeit in Bd. 33, Heft 4/5 dieser Zeitschrift.) | 357 |
| Meißner, Gertrud , siehe Friedberger, E. | |
| Meyer, Kurt , Ueber Hämagglutininvermehrung und Hämagglutination fördernde Wirkung bei menschlichen Seren | 229 |
| Meyer, Kurt , Ueber das Verhalten der Hammelblutimmunsera gegenüber den Lipoiden aus Organen vom heterogenetischen Typus. Ueber antigene Eigenschaften von Lipoiden. XIII. Mitteilung | 235 |

IV

Inhaltsverzeichnis.

| | Seite |
|--|-------|
| Michaells, L., und Dernby, K. G., Der Einfluß der Alkalität auf die Wirksamkeit der Chininalkaloide. Mit 4 Abbildungen im Text | 194 |
| Nathan, Ernst, Zur Frage der Kombination der Sachs-Georgischen und Wassermannschen Reaktion und ihrer Beziehungen zueinander | 124 |
| Pesch, Karl, und Thomas, E., Beitrag zur Serologie des Scharlachs | 502 |
| Rakusin, M. A., Ueber das Verhalten der Proteine, Fermente, Toxine und Sera gegen Adsorption mittels Aluminiumhydroxyd. (In Entwicklung der vorläufigen Mitteilung in der Sitzung der Biologischen Gesellschaft zu Petrograd am 15. März 1916.) . . . | 155 |
| Reeser, H. E., Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren. (Bemerkungen zu einem Artikel von Manteufel und Beger über obenerwähnten Gegenstand) . . . | 355 |
| Reeser, H. E., Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren. (Schlußwort auf die Antwort von Manteufel und Beger und auf diejenige von Uhlenhuth.) . . . | 363 |
| Rondoni, P., Polarimetrische Serumuntersuchungen und ihre Beziehungen zur Wassermannschen Reaktion | 416 |
| Rosenberg, Hans, und Adelsberger, Lucle, Beiträge zum physikalisch-chemischen Verhalten des Blutes nach intravenösen Injektionen, besonders von Proteinkörpern (unter Berücksichtigung der Anaphylaxie) | 36 |
| Sato, Kazufusa, Untersuchungen über die Wirkung des Diphtherieheilserums auf die experimentelle Kaninchendiphtherie. Mit 2 farbigen Tafeln | 365 |
| Selter, H., Erwiderung zu den Bemerkungen Zielers „Ueber das Wesen der Tuberkulinreaktion“ | 245 |
| Sternberg, F., siehe Hajós, K. | |
| Timm, Carl, Zur Milchsäureaktivierung | 71 |
| Thomas, E., siehe Pesch, Karl. | |
| Trou-Hia-Hsi, Ueber heterogenetische Agglutinine. Mit 1 Abbildung im Text | 507 |
| Tsukahara, Isematsu, Beitrag zur Biologie der männlichen Geschlechtszellen | 444 |
| Uhlenhuth, Paul, Bemerkungen zu der Arbeit von Reeser: Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren | 360 |
| Vermast, P. S. F., Beitrag zur Kenntnis der Bereitung von cholesteriniertem Organextrakt für die Serodiagnose der Lues (Sachs-Georgi-Reaktion). Mit 3 Kurven im Text | 95 |
| Weil, E., Zur Diskussion E. Wolffs in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft (Sitzung vom 11. April). (Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 29, p. 1442.) | 473 |
| Weil, E., Schlußwort zu den voranstehenden Bemerkungen | 475 |
| Wolff, E., Bemerkung hierzu | 475 |
| Zieler, Karl, Ueber das Wesen der Tuberkulinreaktion. (Bemerkungen zu der unter gleicher Ueberschrift in Bd. 32 dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit von H. Selter.) | 240 |
| Zorn, Werner, siehe Friedberger, E. | |
| Referate | 147 |

Heft 1/2 (S. 1—154) ausgegeben am 21. März 1922.

„ 3 (S. 155—258) „ „ 11. Mai 1922.

„ 4 (S. 259—364) „ „ 28. Juni 1922.

„ 5 (S. 365—476) „ „ 25. August 1922.

„ 6 (S. 477—546) „ „ 30. September 1922.

JUN 5

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. Diéudonné**, 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, **C. Moreschi**, Sassari, **J. Morgenroth**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. von Ostertag**, Stuttgart, **R. Otto**, Berlin, **R. Paltauf**, 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. 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.)

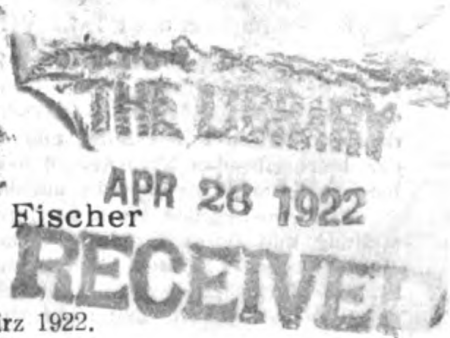
P. UHLENHUTH
(Marburg a. L.)

34. Band, Heft 1/2.

Mit 5 Abbildungen und 17 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1922



Ausgegeben am 21. März 1922.

Inhalt:

| | Seite |
|--|-------|
| Kraus, K., und Barrera, J. M. de la, Studien über Flecktyphus in Südamerika. Biologische Reaktionen. 3. Mitteilung. Mit 3 Abbildungen und 10 Kurven im Text | 1 |
| Rosenberg, Hans, und Adelsberger, Lucie, Beiträge zum physikalisch-chemischen Verhalten des Blutes nach intravenösen Injektionen, besonders von Proteinkörpern (unter Berücksichtigung der Anaphylaxie) | 36 |
| Timm, Carl, Zur Milchsäureaktivierung | 71 |
| Geßlach, F., Serumkrankheit bei Rind und Pferd. Mit 4 Kurven und 2 Abbildungen im Text | 75 |
| Vermast, P. S. F., Beitrag zur Kenntnis der Bereitung von cholesteriniertem Organextrakt für die Serodiagnose der Lues (Sachs-Georgi-Reaktion). Mit 3 Kurven im Text | 95 |
| Nathan, Ernst, Zur Frage der Kombination der Sachs-Georgischen und Wassermannschen Reaktion und ihrer Beziehungen zueinander | 124 |
| Fukuhara, Y., Zur Bemessung des Hämolytintiters. Eine neue Methode . . | 136 |
| Referate | 147 |

Die außerordentlich hohen Korrekturkosten zwingen uns, die Herren Mitarbeiter zu bitten, ihre Manuskripte gut leserlich abzufassen und vor Einreichung genau durchzusehen, d. h. druckfertig abzuschließen, so daß sachliche Aenderungen soweit als nur irgend möglich vermieden werden. Manuskripte sind zu senden an Herrn Prof. Dr. Friedberger, Hygiene-Institut Greifswald, oder an Herrn Prof. Dr. H. Sachs, Krebsinstitut Heidelberg, oder an Herrn Geheimrat Prof. Dr. P. Uhlenhuth, Institut für experimentelle Therapie (Emil v. Behring), Marburg (Lahn).

Die Herausgeber.

Die Verlagsbuchhandlung.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Soeben erschien:

**Die Zeichenkunst im Dienst der beschreibenden
Naturwissenschaften.**

Von

Ferdinand Bruns

Zeichenlehrer am Realgymnasium in Barmbeck, Hamburg.

Mit 6 Abb. im Text u. 44 Taf. VIII, 100 S. 4° (30×23 cm) Mk 90.—, geb. Mk 115.—

In diesem Buche ist von der Zeichenkunst nur insoweit die Rede, als sie in erster Linie dem Naturwissenschaftler Dienste leisten kann. Es vermittelt ein Lehrverfahren, das sich zum Ziel setzt, den Zeichner zu befähigen, solche Gegenstände mit den Ausdrucksmitteln der Zeichnung und der Malerei nachzubilden, deren Betrachtung Aufgabe der beschreibenden Naturwissenschaften ist, oder Ideen auszudrücken, die dem Arbeitsbereich dieser Wissenschaften angehören.

Das vorliegende Werk ist durchaus wissenschaftlich orientiert und in der Problemstellung und Durchführung vollkommen original und füllt eine Lücke, die nicht nur in der deutschen Literatur, sondern auch im ausländischen Schrifttum allgemein vorhanden ist. Es dürfte allen wissenschaftlich Arbeitenden, die Abbildungen herzustellen haben, große Dienste leisten und namentlich für naturwissenschaftliche Autoren ein schätzbares Unterrichtswerk bilden.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. 34. Heft 1/2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Institut des Departamento Nacional de Higiene in Buenos Aires.]

Studien über Flecktyphus in Südamerika.

Biologische Reaktionen.

3. Mitteilung.

Von Prof. **R. Kraus** und **J. M. de la Barrera**.

Mit 3 Abbildungen und 10 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. März 1921.)

Einleitung.

Ueber die Epidemiologie und Klinik des Flecktyphus in Südamerika liegen bereits einzelne Arbeiten vor (siehe: La Fiebre Petequial y sus Focos Americanos, Revista del Instituto Bacteriologico, Vol. 2, No. 1). Auf Grund dieser Beschreibungen kann man behaupten, daß die Symptomatologie der Krankheit, Verlauf, Sterblichkeit etc. mit dem klinischen Bilde des europäischen Flecktyphus übereinstimmen. Danach ist an der Existenz der endemischen Herde in Südamerika nicht mehr zu zweifeln.

Die jüngsten Forschungsergebnisse, namentlich aber diejenigen über die biologischen Reaktionen verlangen es, daß heute die exakte Diagnose des Flecktyphus nicht bloß auf Grund klinischer Befunde gestellt werde, sondern daß auch der experimentelle und serodiagnostische Beweis hierfür erbracht werden müsse. Dazu kommt noch, daß möglicherweise der südamerikanische Flecktyphus in biologischer Beziehung sich anders verhalten könnte als der europäische, analog dem europäischen und afrikanischen Recurrensfieber. Aus diesem Grunde schien es notwendig, die Identität des südamerikanischen Flecktyphus mit dem europäischen ebenso zu beweisen, wie es Anderson und Goldberger für den mexi-

kanischen Tabardillo und für die nordamerikanische Brill's disease getan haben.

Die folgenden Untersuchungen beziehen sich auf die bekannten biologischen Reaktionen: die Thermo-, Serum- und Historeaktion und ihre Verwendbarkeit beim Flecktyphus in Südamerika.

Ueber normale Temperatur des Meerschweinchens.

Die von Nicolle (1), Gaviño und Girard (2), Ricketts und Wilder (3) nachgewiesene Empfindlichkeit des Meerschweinchens für das Virus des Flecktyphus hat bei fast allen Nachuntersuchungen sich bestätigen lassen, ebenso wie auch die zuerst an Affen von Nicolle festgestellte Thermo-reaktion bei Meerschweinchen zu gleichen Resultaten geführt hat. Da auch die Uebertragung des Virus von Meerschweinchen auf Meerschweinchen ebenso leicht gelingt wie bei Affen, benützt man heute in Ermangelung der Kultur des Flecktyphuserregers das Meerschweinchen als Virusträger.

Die Arbeiten der letzten Jahre führten dazu, an Stelle der kostspieligen und schwer zu haltenden Affen die weiteren experimentellen Studien an den ebenso empfindlichen Meerschweinchen anzustellen.

Trotzdem sehr viele Arbeiten über den Flecktyphus an Meerschweinchen ausgeführt vorliegen, sind doch nicht alle hierhergehörigen Fragen vollkommen einwandfrei gelöst, so daß man beim experimentellen Arbeiten noch auf viele Lücken stößt.

Einer der wichtigsten Punkte, dessen Vernachlässigung offenbar die negierende Arbeit Friedbergers (4) ausgelöst hat, ist die normale Temperatur des Meerschweinchens.

Bevor wir an die Verwertung der Thermoreaktion zu diagnostischen Zwecken herangetreten sind, haben wir uns deshalb mit dem Studium der normalen Temperatur der Meerschweinchen beschäftigt, da die zahlreichen Arbeiten wenig oder gar nicht die Bedeutung dieser Frage gewürdigt haben.

Die allgemein anerkannte Tatsache, daß die Fieberkurve als das einzige klinisch objektive Merkmal der stattgehabten Infektion mit Flecktyphus anzusehen ist, macht es dringend notwendig, die normale Temperatur und deren Schwankungen bei dieser Tierart genau kennen zu lernen.

Weder in den Lehrbüchern der Physiologie noch in den zahlreichen Arbeiten über die Thermoreaktion finden sich diesbezüglich festgelegte Normen, so daß die Fieberreaktion, zumal sie nicht immer charakteristisch ist, als etwas spezifisches und charakteristisches von einzelnen wenigen Autoren angezweifelt werden konnte. Zu berücksichtigen wäre noch, daß auch darüber Studien nicht vorliegen, ob die normalen Körpertemperaturen des Meerschweinchens in den verschiedenen Ländern, wie z. B. in Europa, Afrika, Nord-, Zentral- und Südamerika vollkommen identisch sind.

Was zunächst die Technik der Temperaturmessung betrifft, so wurde bei unseren Versuchen das vorher geprüfte Maximalthermometer (mit Vaseline angefettet) ins Rectum des Meerschweinchens ca. 3—4 cm eingeführt und 2—3 Minuten belassen, wobei die Meerschweinchen mit dem Kopf nach unten gehalten wurden. Da wir meist Tiere im Gewicht von 250 bis 350 g verwendet haben, wurden auch Kontrollen in dieser Richtung angestellt¹⁾. Auf Grund dieser zahlreich ausgeführten Messungen an gesunden Meerschweinchen können wir als durchschnittliche Temperatur dieser Tiere in Buenos Aires 39—39,5° ansprechen (manchmal kann sie auch bei normalen Tieren unter 39—38 oder 39,7—39,8 betragen, was offenbar mit bruschem Temperaturwechsel Zusammenhang haben dürfte) (Kurve 1).

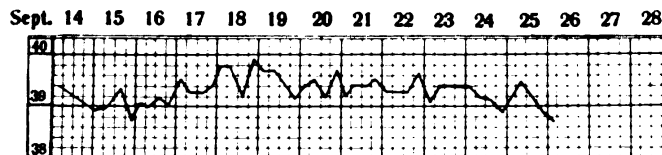
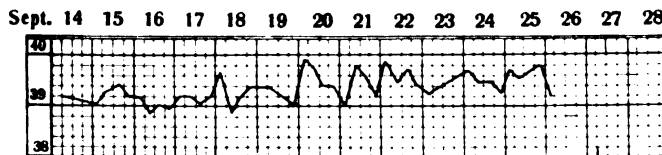
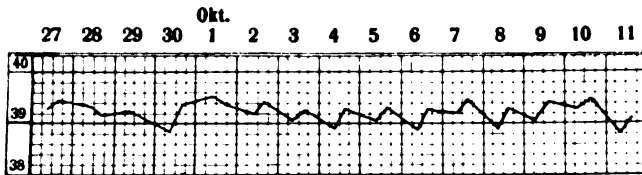
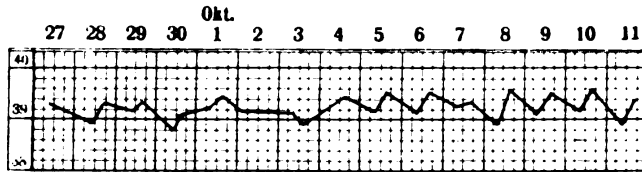
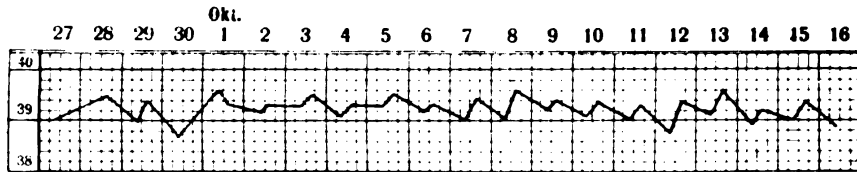
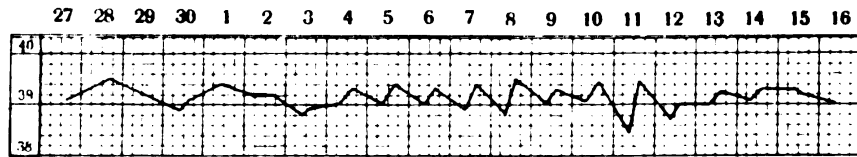
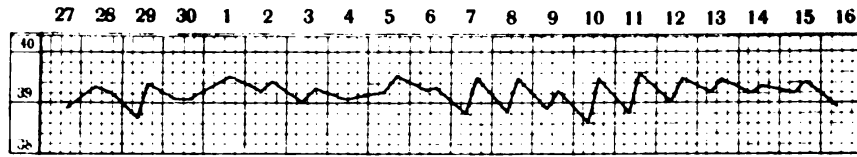
Eigene Beobachtungen haben uns gelehrt, daß in der Uebergangsperiode vom Frühjahr zum Sommer und im Hochsommer mit den hier vorkommenden brusken Temperaturschwankungen auch bei gesunden Tieren Temperaturen bis 40° und darüber verzeichnet werden können (Kurve 2).

Es empfiehlt sich daher, vor der Verwendung der gesunden Tiere dieselben zu thermometrieren, um Tiere mit höheren Temperaturen auszuschließen. Wenn man diese Vorsichtsmaßregel einhält, so kann man Fehlerquellen ausschalten.

Rocha Lima (5) sagt diesbezüglich in seinem Referat (Lubarsch-Ostertag), daß die atmosphärischen Schwankungen im Sommer die Temperatur des Meerschweinchens in

1) Es empfiehlt sich, nach der Fütterung die Tiere zu messen.

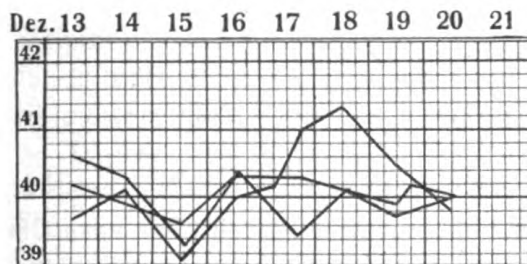
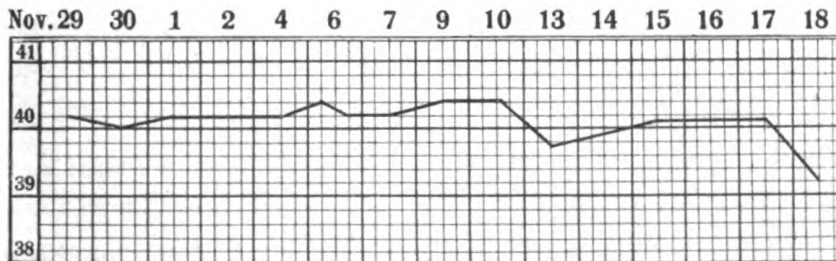
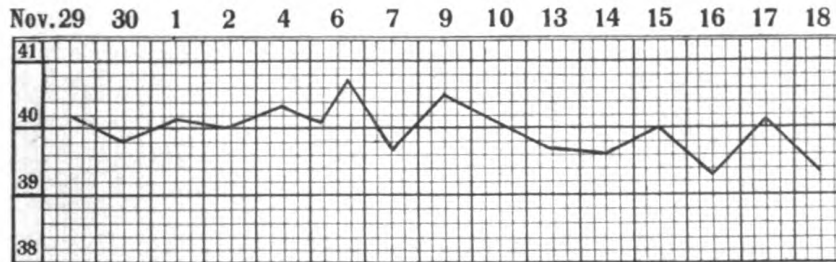
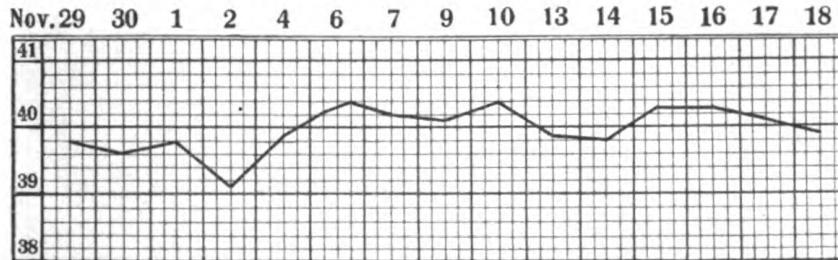
einer Weise beeinflussen können, daß eine sichere Beurteilung des Fiebers nicht möglich ist. Friedberger findet eben-



Kurve 1.
Gesunde
Meerschwein-
chen.

falls, daß das Meerschweinchen in seiner Eigenwärme eine weitgehende Abhängigkeit von der Außentemperatur zeigt.

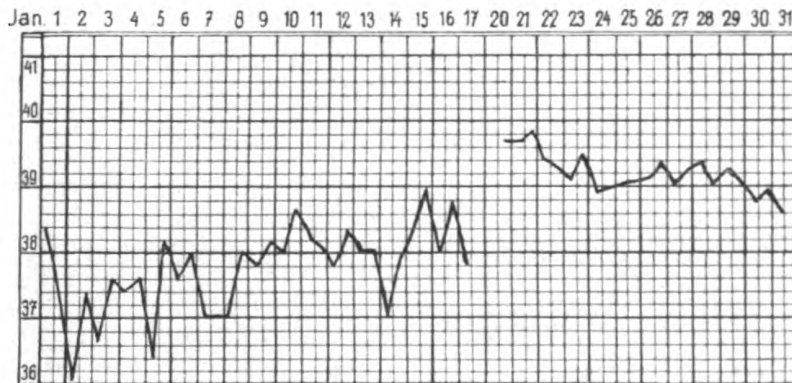
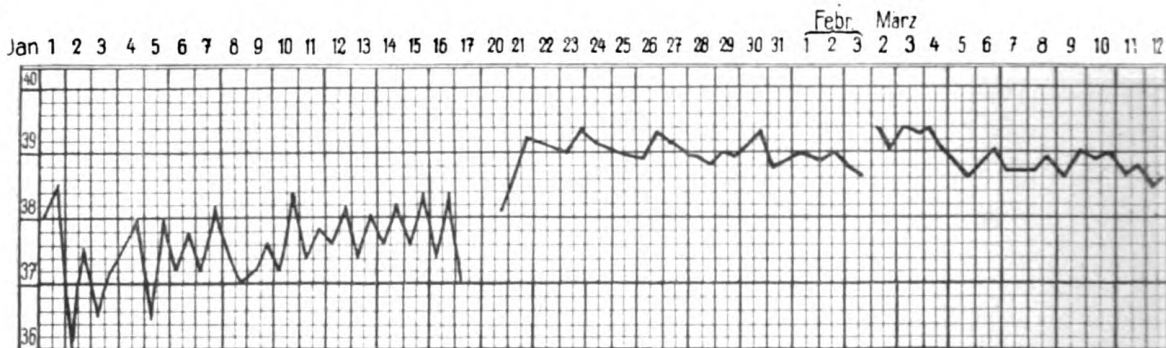
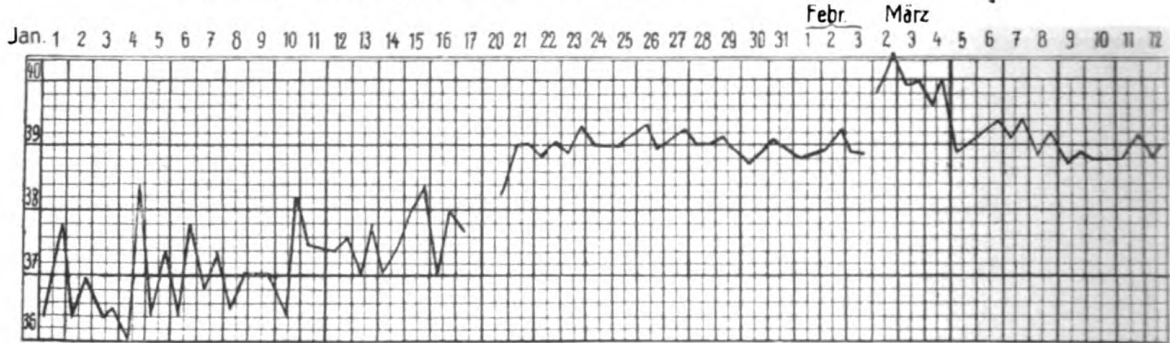
Ritz (6) bemerkt auch, daß Schwankungen der Körperwärme bei Meerschweinchen nicht selten sind. Wie gesagt, haben



Kurve 2.
Abnorme Temperatur
bei gesunden Meer-
schweinchen.

wir es hier bisher nur in der Uebergangsperiode vom Früh-
jahr zum Sommer gesehen, sonst aber konnten Schwan-
kungen normaler Temperaturen, die die Fleck-

typhusfieberkurve zu beeinträchtigen imstande wären, nicht gesehen werden.



Kurve 3.
Unterschiede der normalen
Temperatur in Chile und
in Argentinien.

Aber noch eine andere Eigentümlichkeit der normalen Temperatur bei Meerschweinchen konnten wir feststellen.

Die Studien über Flecktyphus, welche der eine von uns (Kraus) in Santiago de Chile angestellt hatte, beschäftigten sich auch mit der Fieberreaktion. Bei diesen Versuchen fiel

es auf, daß die normale Durchschnittstemperatur gesunder Meerschweinchen in Santiago de Chile zwischen $37-38^{\circ}$ beträgt, und daß dieselben Tiere im selben Monat nach Buenos Aires gebracht, Temperaturen über $39-39,9^{\circ}$ hatten, wie die normalen Tiere, die hier geboren sind (Kurve 3). Um eine Sicherheit für diese Beobachtungen zu haben, hat Herr Dr. Perez Canto in Santiago de Chile die Temperatur gesunder Meerschweinchen überprüft und fand ebenfalls, daß die normale Temperatur 39° nicht erreicht.

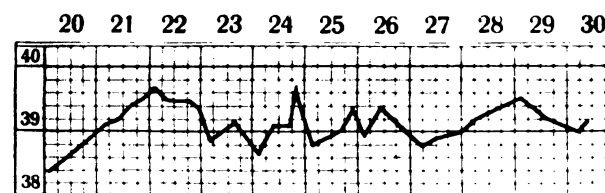
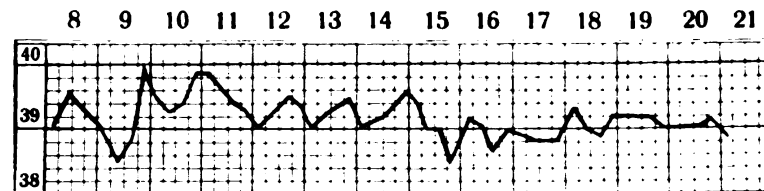
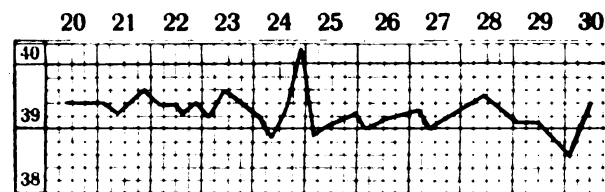
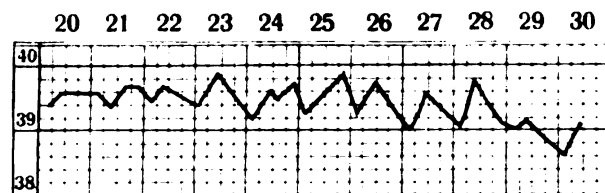
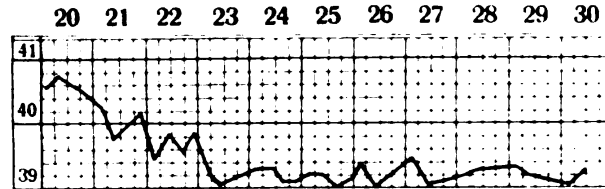
Bei der Durchsicht der Temperaturkurven in den Arbeiten von Otto und Dietrich (7) und Friedberger finden sich als Normaltemperaturen solche zwischen $37,5$ und $38,5^{\circ}$, niemals 39° . Doerr und R. Pick gaben $38-38,5^{\circ}$ an. Nicolle gibt Temperaturen zwischen $38,5$ und $39,5^{\circ}$ an, bei Gaviño und Girard findet man 39° in den Kurven. Daraus ersieht man, daß die Frage der normalen Temperatur bei Meerschweinchen in verschiedenen Klimaten ein weiteres Studium erfordert. Auch scheint es nach unseren Beobachtungen, daß bei größeren Tieren, wie Kälbern ähnliche Verhältnisse wie bei den Meerschweinchen hier in Argentinien im Sommer vorliegen. (Bei dieser Gelegenheit sei bemerkt, daß die Heimat des Meerschweinchens nicht Neu-Guinea ist, wie vielleicht der Name „New Guinea Pig“ annehmen ließe, sondern Peru.)

Kontrollversuche mit Blut vom gesunden und kranken Menschen und mit Organen von gesunden Meerschweinchen.

Auch darüber liegen nur einzelne Versuche vor, ob Injektionen mit Blut von gesunden Menschen oder von verschiedenen Krankheiten, namentlich Infektionskrankheiten, die Temperatur des Meerschweinchens derart zu beeinflussen imstande wären, daß dadurch die Beurteilung der Flecktyphusfieberkurve erschwert werden könnte.

Doerr und R. Pick haben Blut Gesunder und Kranker (Malaria, Masern, Scharlach, Typhus, Pneumonie) in den Mengen, die für die Thermoreaktion bei Flecktyphus benutzt werden ($2-5$ ccm), Meerschweinchen injiziert, ohne daß sie die charakteristische Flecktyphusfieberkurve erhalten hätten. Auch wurden Organe von gesunden Meerschweinchen (Gehirn) verwendet, ohne daß außer unmittelbaren vorübergehenden

Temperatursteigerungen eine charakteristische Fieberkurve gewonnen worden wäre. Ebenso sah Ritz in Kontrollversuchen mit normalem Blut und Geweben Fieber nur in den ersten Tagen nach der Injektion. Niemals sah Ritz bei Normalblut



Fieber mit einem Inkubationsstadium ähnlich demjenigen des Flecktyphus bei Meerschweinchen.

Aus den Kontrollkurven, welche Friedberger veröffentlicht, kann man ebenfalls den Schluß ziehen, daß Normalblut kein Fieber beim

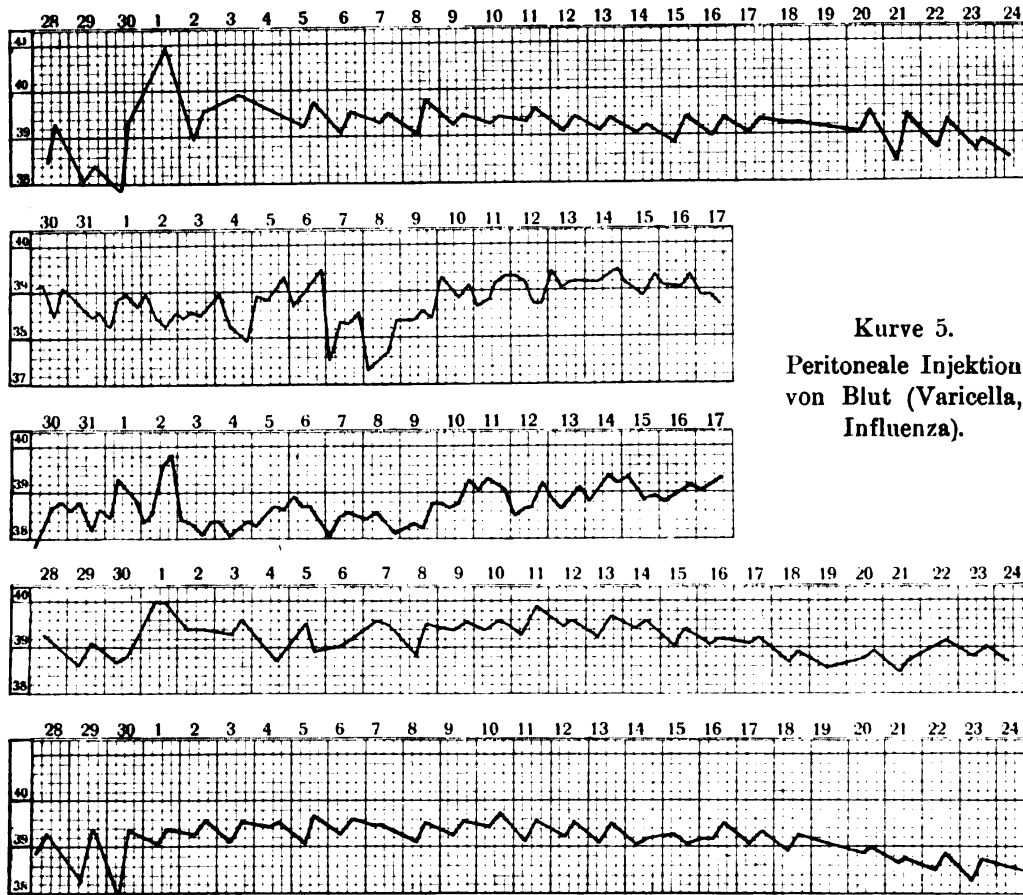
Kurve 4.
Peritoneale Injektion von normalem Blut (Mensch).

Meerschweinchen hervorruft, das in seinem Verlauf Ähnlichkeit mit dem Fleckfieber hätte.

Außer diesen Angaben findet sich in der Literatur eine hierhergehörige Arbeit von J. W. Scott Macfie und J. E. L. Johnston (9), welche zeigt, daß Meerschweinchen, die mit Blut von Kranken (Gelbfieber) subkutan injiziert sind,

eine Fieberreaktion zeigen, die gar keine Aehnlichkeit mit derjenigen des Flecktyphus hat.

Wenn auch die vorangehenden Kontrollversuche eindeutig sind und zeigen, daß die typischen Fieberkurven, wie sie beim Meerschweinchen mit Flecktyphus auftreten, weder durch Blut von gesunden und kranken Menschen und auch nicht

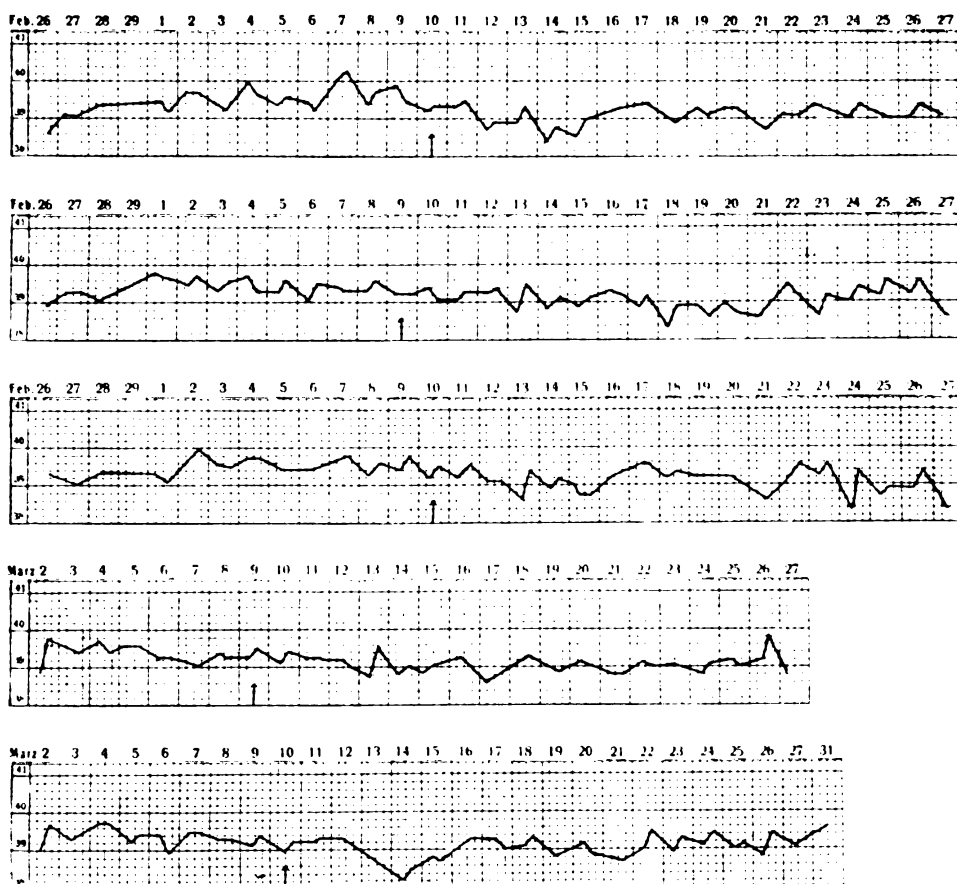


durch Organe von gesunden Meerschweinchen hervorgerufen werden können, haben wir doch in Anbetracht der Wichtigkeit dieser Kontrollen eigene Versuche angestellt.

Die Injektionen von Blut gesunder, varicella- und influenzakranker Menschen haben auf den Temperaturverlauf normaler Meerschweinchen keinen besonderen Einfluß gehabt (Kurven 4 und 5). Und auch die Injektion von Organemulsionen gesunder Meerschweinchen (Leber, Niere, Milz, Gehirn

Kurve 6), die peritoneal einverleibt wurden, haben keine Temperatursteigerung zur Folge gehabt, die irgendwelche Aehnlichkeit mit der Thermoreaktion hätte.

Manchmal tritt unmittelbar nach der Injektion eine Fiebersteigerung ein, die aber nur vorübergehender Natur ist. Nur



Kurve 6.

Peritoneale Injektion mit Emulsion von Gehirn normaler Meerschweinchen.

in dem Falle, daß das Material sekundär infiziert worden war, kam es zur Temperaturerhöhung, die gleich am 1. oder 2. Tage nach der Injektion auftrat, tagelang andauern konnte bis zum Tode oder bis zur Entfieberung. In solchen Fällen ergibt häufig auch die kulturelle Blutuntersuchung (Herzblut) positive Befunde, die bei typischem Flecktyphus stets negativ ausfallen.

Damit, glauben wir, sind alle erforderlichen Kontrollen durchgeführt, um mit aller Sicherheit die durch das Virus des Flecktyphus bei Affen und Meerschweinchen hervorgerufene Fieberkurve als charakteristisch und spezifisch ansehen zu dürfen.

Ueber die Thermoreaktion bei Meerschweinchen als Ausdruck einer Infektion mit dem Virus des Flecktyphus.

Seit den grundlegenden Versuchen von Nicolle und Conseil, Gaviño und Girard, Ricketts und Wilder, Anderson und Goldberger über die Fieberreaktion bei Affen und Meerschweinchen als Ausdruck der Infektion mit dem Virus des Flecktyphus sind zahlreiche Arbeiten darüber erschienen, die alle die Temperaturkurve als charakteristisch hinstellen. Namentlich hatte man im Kriege viel Gelegenheit diese Frage ausführlich zu behandeln, so daß auch auf Grund der neuen Arbeiten an der Richtigkeit der Tatsache nicht zu zweifeln ist (Otto und Dietrich, Doerr und R. Pick, Rocha Lima, Paltauf und Löwy, Ritz u. a.). Nicht der Fiebertypus an sich ist das typische an der Thermoreaktion, sondern die Temperatursteigerung, die nach einer Reihe von Tagen nach der Injektion des Virus eintritt. Dieses Inkubationsstadium ist nicht immer gleich und variiert nach den Angaben der Autoren 7—16 Tage (Nicolle), 8—14 Tage (Otto und Dietrich), 8—10 Tage (Gaviño und Girard), 2—6 Tage (Rocha Lima). Auch die Fieberkurve, namentlich was die Dauer und die Höhe der Temperatursteigerung betrifft, kann gewissen Schwankungen unterliegen. Nach Nicolle dauert das Fieber (bis 41°) 4—10 Tage, nach Otto und Dietrich und Papamarku 5—12 Tage (Steigerung 1—2°) etc.

Auch reagiert ein Teil der Tiere auf das Virus nicht, und ist als vollkommen refraktär anzusehen; nach Nicolle können die Tiere latent infiziert sein, ohne die Thermoreaktion zu geben, wohl aber ist das Blut solcher Tiere infektiös (Infections inapparentes).

Die Infektion mit dem Blut von Kranken gibt mehr negative Resultate (bis 44 Proz. nach Otto und Anderson) als diejenige mit dem Passagevirus, namentlich sind die Resultate

bei Passage mit Organen, insbesondere mit Gehirn nach den Angaben von Landsteiner und Hausmann (10), Doerr und Pick (11) als sicher konstant anzusehen. Das Passagevirus ist nach Nicolle eine Art „Virus fixe“, indem es eine konstante Virulenz aufweist (Rocha Lima 88 Proz., Paltauf und Loewy 76 Proz., Nicolle 84 Proz.). Auf diese Weise läßt sich erklären, daß die Zahl der Passagen beim Meerschweinchen bei Nicolle 175 erreicht (ohne Virulenzänderung), bei Rocha Lima 36, Landsteiner und Hausmann 79.

Das Fieber ist das einzige klinisch objektiv feststellbare Symptom der Infektion der Tiere, und bisher kennt man kein anderes Merkmal, das man in Betracht ziehen könnte. Die von Löwy (12) beschriebenen Petechien bei Meerschweinchen sind sicher äußerst selten, da sie bisher nicht bestätigt sind.

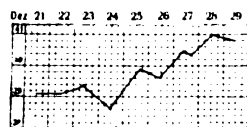
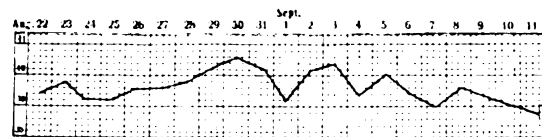
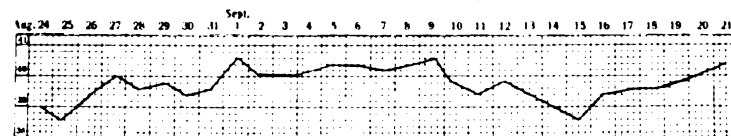
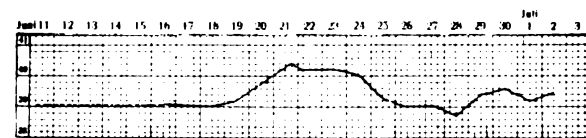
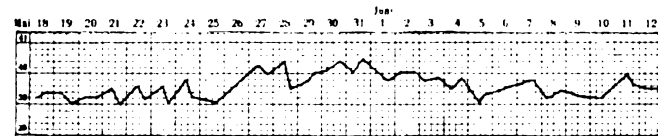
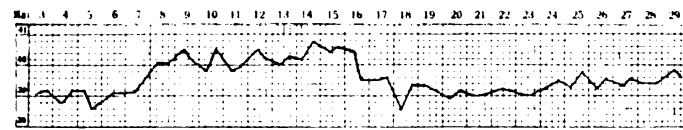
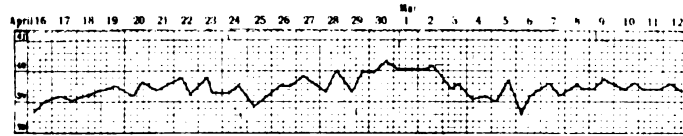
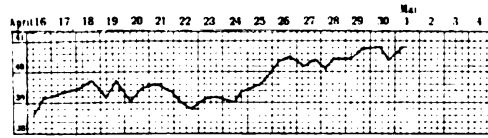
Auch der Tod kann nicht als Kriterium herangezogen werden, da er selten eintritt (Gaviño und Girard: ausnahmsweise).

Bezüglich der Technik sei besonders erwähnt, daß die Frage der Dosierung des Virus bisher gar nicht berücksichtigt wurde. Nur Doerr und R. Pick zeigen, daß 0,6 und 0,01 g Gehirn gleich infektiös wirken, ohne aber die Dosierung des Virus in ihren Versuchen systematisch durchgeführt zu haben.

Bezüglich der Erstinfektion mit Blut heißt es bloß, daß 2—4 ccm Blut (Nicolle) peritoneal injiziert werden sollen und bei Passagen 4—5 ccm, nach Rocha Lima 0,25—0,5, von Organen 0,2 ccm. Nach der Meinung von Rocha Lima kann das Material gar nicht dosiert werden.

Es sei darauf besonders hingewiesen, daß viele Probleme über filtrierbares Virus, insbesondere das der Immunität bei der Lyssa, erst studiert werden konnten, als wir (Kraus, Keller und Clairmont [13]) die Möglichkeit einer quantitativen Dosierung des Virus bewiesen, und die Methodik ausgearbeitet haben. In ebensolcher Weise wie bei dem Lyssavirus läßt sich auch das Virus des Flecktyphus quantitativ dosieren, namentlich wenn es sich um Passagevirus handelt. Wenn auch für die Passagen zum Zwecke der Erhaltung des Virus die Dosierung nicht so sehr in Frage kommt, so ist sie notwendig, sobald Probleme über Virulenz, Steigerung und Abschwächung, namentlich aber über Immunitätsfragen gelöst

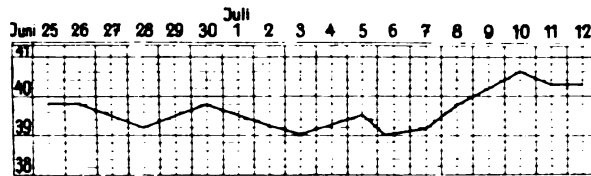
werden sollen. Keine der bisherigen Arbeiten über Immunität hat die Frage der Dosierung in Diskussion gezogen, und es ist wohl möglich, daß die vielen Widersprüche, die bestehen, zum Teil ihren Grund darin haben können.



Kurve 7.

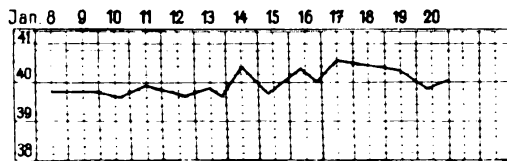
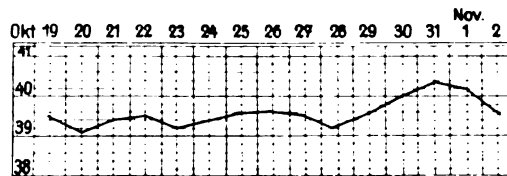
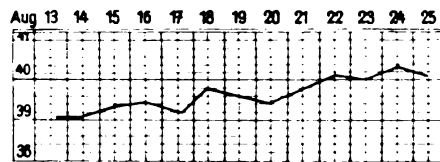
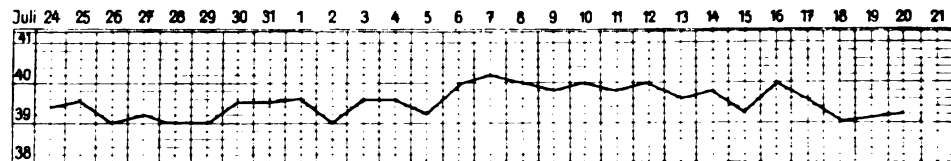
Infektion mit Virus Flecktyphus
Santiago de Chile; Weil-Felix-Reaktion
negativ; Blut 4. Tag der Krankheit.

Unsere Untersuchungen beschäftigen sich mit der Thermo-
reaktion erstens, um festzustellen, ob das Virus des süd-
amerikanischen Flecktyphus bei Meerschweinchen die typische
Fieberreaktion auszulösen vermag, wie das europäische oder



Kurve 8.

Infektion mit Virus Fleck-
typhus Argentinien, Weil-
Felix-Reaktion positiv;
Blut (pos.) 10. Tag der
Krankheit.



das mexikanische Virus.
Auf Grund der Angaben
von Anderson und
Goldberger, Otto und
Papamarku (14) u. a.
kommt der Thermo-
reaktion wegen der geringen
Zahl der Konstanz der
Befunde (44 Proz. —) keine
so große diagnostische kli-
nische Bedeutung bei, zu-
mal man heute in der Weil-
Felix-Reaktion ein Hilfs-
mittel besitzt, welches dem
Kliniker leichter zugäng-
lich ist und raschere
und konstantere Resultate

liefert. Trotzdem ist die Thermo-
reaktion vom biologisch-
experimentellen Standpunkte aus äußerst interessant und
wichtig, da man an der Hand dieser Phänomene viele
Probleme experimentell studieren kann, so namentlich der
Frage der Immunität näherzutreten imstande sein dürfte.

Aus unseren Versuchen über die Thermo-
reaktion am

Meerschweinchen geht zunächst hervor, daß die Infektion mit Blut Flecktyphuskranker keine konstanten Resultate ergibt.

In bezug auf den Charakter der Fieberkurve können wir, wie aus den einzelnen Beispielen hervorgeht, uns der Mehrzahl der Autoren anschließen, die in dem Inkubationsstadium, der Höhe des Fiebers und der Dauer ein spezifisches Phänomen der Infektion mit Flecktyphusvirus sehen. Insbesondere ist durch die Passagen unzweideutig bewiesen worden, daß im Blute und in den Organen von Meerschweinchen mit typischem Fieber ein lebendes Virus vorhanden ist, das die Fieberkurve verursacht. Im Zusammenhang mit den vorangehenden Kontrollen sind alle Einwände Friedbergers entkräftet, die das Fieber etwa als Folge einer Protein- oder anaphylaktischen Reaktion hinstellen.

Aus den Kurven und der Zusammenstellung der Literatur ist zu ersehen, daß sowohl die Länge des Inkubationsstadiums, Höhe des Fiebers, Dauer desselben variieren kann unabhängig davon, ob Blut von Kranken (1. Passage) oder Virus von Passagetieren benutzt wird. Selbst wenn Virus der 15. oder 20. Passage verwendet worden ist, sind die Resultate ebenso ungleichmäßig wie mit dem Ausgangsvirus. Es scheint nach unseren Untersuchungen die Infektiosität des Virus (Virulenz) durch Passagen nicht erhöht zu sein, was auch mit Angaben verschiedener Autoren übereinstimmt (Nicolle), zumal stets ein Teil der Tiere trotz Passagevirus gegenüber der Infektion sich resistent verhalten und das Inkubationsstadium und Höhe sowie Dauer und auch Zahl der Todesfälle nicht gesteigert wird.

Injiziert wurden (Juni—Dezember) 416 Meerschweinchen, davon reagierten mit Fieber 270 = 64,90 Proz., refraktär 146 = 35,09 Proz. Das Inkubationsstadium betrug im Durchschnitt 7 Tage, und das Fieber erreichte durchschnittlich 40,5°.

Ausnahmsweise können Fälle vorkommen, in denen das Inkubationsstadium, welches normalerweise zwischen 5 bis 10 Tagen schwankt, 14—30 Tage betragen kann. Auch bezüglich der Dauer des Fiebers sei erwähnt, daß es manchmal zu langdauerndem Fieber (normalerweise 2—5 Tage, Dauer 13 Tage und mehr) kommen kann (Kurve 7 und 8).

Aus den zahlreichen Versuchen gelangen wir zu dem Schluß, daß sowohl das Virus des Flecktyphus in Chile als auch dasjenige in Argentinien bei Meerschweinchen eine Fieberreaktion auslöst, die in allem mit den Beschreibungen europäischer und nordamerikanischer Autoren übereinstimmt.

Auch liegen Angaben von Ramon E. Ribeyro aus Lima (Peru) vor, der Blut von Flecktyphusfällen in Peru auf Meerschweinchen mit positivem Erfolge übertragen konnte, und dem auch Passagen gelungen sind. Auch sagt der Autor in seinem Bericht, daß auch mit Blut von Flecktyphuskranken, die aus Bolivien stammen, die Fieberreaktion von Nicolle hervorgerufen werden konnte.

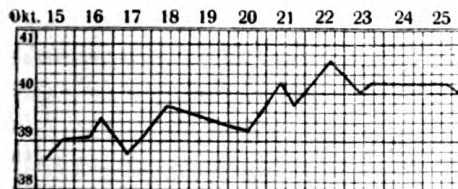
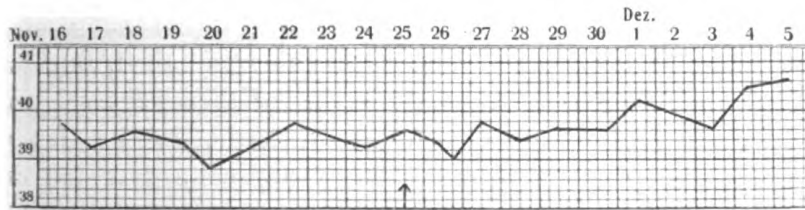
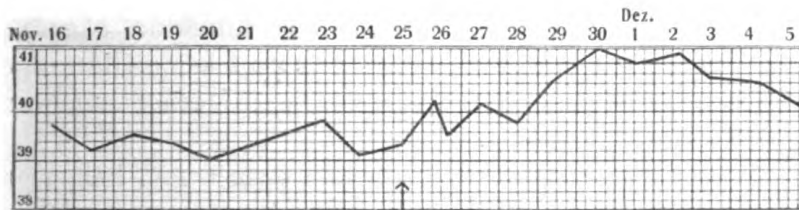
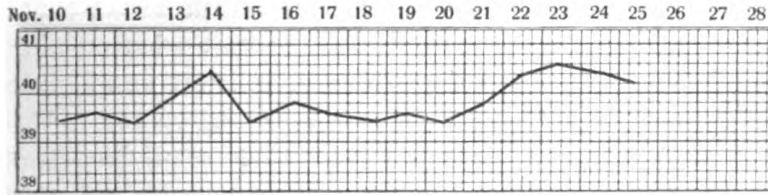
Damit ist nachgewiesen, daß das Virus des Flecktyphus in Südamerika (Peru, Bolivien, Argentinien, Chile) ebenso wie das mexikanische, europäische und afrikanische, auf Meerschweinchen übertragen, typische Fieberreaktionen auslöst.

Es wäre noch erwünscht, um die völlige Identität der Fleckfieber in den verschiedenen Ländern behaupten zu können, die gekreuzte Immunitätsprüfung, wie sie Nicolle und Netter angegeben haben, hier anzuwenden. Diese Versuche müssen wir aber vorderhand zurückstellen, da wir nicht überzeugt sind, daß die bei Affen nach der Infektion nachgewiesene Immunität (Nicolle, Gaviño und Girard) auch beim Meerschweinchen sicher nachweisbar ist. Erst dann, wenn wir diese Frage einer gründlichen Ueberprüfung unterzogen haben, werden wir auf diese Immunitätsprüfung zurückkommen.

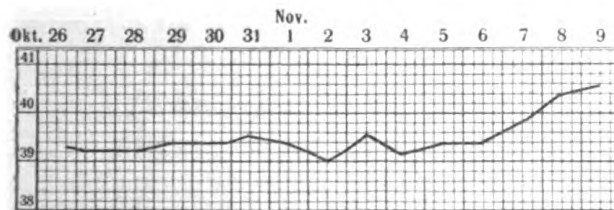
Kann durch Kontakt mit infizierten Meerschweinchen die Infektion übertragen werden?

Diese Frage ist bis heute in der Literatur noch gar nicht berücksichtigt worden. Man kann auf Grund der zahlreichen Versuche, die angestellt worden sind, ohne daß bisher eine Laboratoriumsinfektion beim Menschen vorgekommen wäre, diese Art der Uebertragung vom Affen und vom Meerschweinchen auf den Menschen als sicher ausschließen. Wohl kann man dasselbe nicht für das Meerschweinchen behaupten, da die Infektion gar nicht zum Ausdruck kommt, wenn man durch

Thermometrie dieser Frage nicht direkt nachgeht. Aus diesem Grunde haben wir infizierte Meerschweinchen mit gesunden



Kurve 9.
Kontaktinfektion
gesunder Meer-
schweinchen.



zusammenge-
bracht, und
durch Mes-
sung die Tem-
peratur kon-
trolliert. Tat-

sächlich konnten wir bei einzelnen Tieren Temperaturkurven beobachten, die man als positive Fleckfieberreaktion ansehen kann. Auch Passagen mit dem Gehirn dieser Meerschweinchen

fielen positiv aus, so daß an dem Charakter der Fieberreaktion nicht zu zweifeln sein dürfte. Wir haben auch als Kontrolle Gehirn von gesunden Meerschweinchen, die in den Monaten November und Dezember höhere Temperaturen hatten (40°), von den infizierten vollständig getrennt, injiziert und konnten die Fieberkurve nicht hervorrufen (Kurve 9).

Wie soll man sich die Infektion der gesunden Meerschweinchen erklären? Der erste Gedanke war, daß möglicherweise die beim Meerschweinchen vorkommenden Insekten die Infektion verursachen können. Die Literatur über die Läuse ist äußerst spärlich, die Parasiten sind keine Blutsauger wie die menschliche Laus, so daß dieser Mechanismus unwahrscheinlich sein dürfte.

Da keinerlei experimentelle Angaben vorliegen, haben wir einige Versuche angestellt und konnten im Magen der Läuse, nachdem sie an der Haut des Meerschweinchens angesetzt waren, Blutkörperchen nachweisen. Ob das Blut direkt aufgesaugt wird, oder erst nachdem die Parasiten gebissen haben, und das Blut mit dem Zelldetritus gefressen wird, haben wir nicht entscheiden können, aber diesbezügliche Versuche sind im Gange.

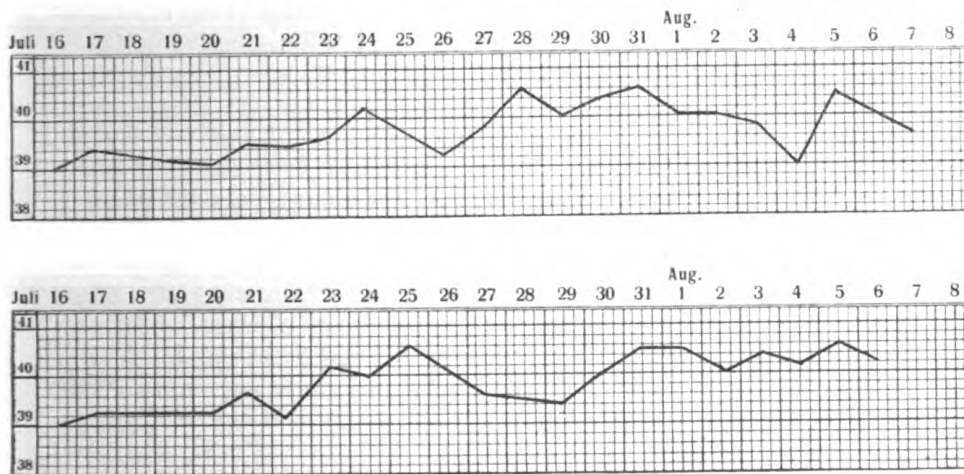
Es dürfte daher die Möglichkeit vorliegen, daß sich die Parasiten direkt infizieren und durch ihre Faeces, wie es auch für die menschliche Infektion angenommen wird (Nicolle, L. Urzio), indirekt von der Bißwunde aus zu infizieren imstande sein könnten. Um zu erfahren, ob unsere Annahme, daß die Parasiten der Meerschweinchen Ursache der Infektion gesunder Meerschweinchen sein könnten, auf Richtigkeit beruhe, haben wir folgenden Versuch angestellt: Es wurden Parasiten, die sich auf fiebernden infizierten Meerschweinchen fanden, zerrieben, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und subkutan gesunden Meerschweinchen injiziert, ohne daß Fieber aufgetreten wäre¹⁾.

Ob die Infektion durch die Hautparasiten übertragen werden dürfte, sollen neue Versuche entscheiden.

Es war zunächst auch noch die Frage zu entscheiden, ob von der Haut, von den Schleimhäuten aus das Virus infektiös wirken kann. (Die Entscheidung dieses Problems wurde auch

1) Es scheint, daß nur eine Art der parasitierenden Insekten Blut aufnimmt, was in den Versuchen nicht berücksichtigt wurde.

von Wichtigkeit für die diskutierte Frage, ob durch den Respirationstrakt eine Infektion möglich sein könnte.) G. Müller führt in einer Zusammenstellung (A. Lustig, F. Bepen und F. Pulgher, Milano 1919) (15) an, daß L. Urzio durch Skarifikation beim Meerschweinchen Infektion erzeugen konnte. Auch Nicolle scheint auf Grund seiner Versuche mit Kot der Läuse eine solche Möglichkeit zuzugeben. Eigene Versuche dürften ebenfalls in diesem Sinne sprechen, daß das Virus von der verletzten Haut und Schleimhaut (Conjunctiva) in den Organismus einzudringen und ihn zu infizieren



Kurve 10.

Thermoreaktion, erzeugt durch Infektion von der Haut (oben) und der Conjunctiva (unten).

vermag (Kurve 10). Hier kam es darauf an, zu zeigen, daß gesunde Meerschweinchen sich von infizierten anstecken können, und daß man beim Arbeiten mit Flecktyphus im Laboratorium gewisse Vorsichtsmaßregeln einhalten müßte, die heute außer acht gelassen werden. Wenn diese Befunde sich bestätigen sollten, müßte in gewissen Versuchen eine vollständige Isolierung der Versuchstiere erfolgen, um Kontaktinfektionen auszuschalten.

Ueber die serodiagnostische Reaktion nach Weil-Felix beim Flecktyphus in Südamerika.

Die Entdeckung von Weil-Felix (16), daß der aus dem Harn gezüchtete Proteus X 19 ein Reaktivum für Flecktyphus

2*

sei, ist in der Folge durch zahlreiche Untersuchungen bestätigt worden. Trotz einzelner Widersprüche wird heute allgemein anerkannt, daß die Reaktion in bestimmten Verdünnungen spezifisch ist, und die Diagnose des Flecktyphus zuläßt. Aus der Zusammenstellung im Referat von Rocha Lima geht hervor, daß schon Reaktionen in Verdünnungen 1:50 als positiv angesehen werden können, die Mehrzahl der Autoren lassen jedoch die Reaktion erst bei Verdünnungen 1:100 gelten.

So z. B. sagt das „Merkblatt des österreichischen Armeekommandos“, 1918, daß der positive Ausfall in Verdünnung 1:100 beweisend für den Flecktyphus ist (zitiert nach O. Löwy, Wien. klin. Wochenschr. 1919, p. 481). Nach Sachs, Rocha Lima, Zlocisti ist ebenfalls diese Verdünnung beweisend. Die zahlreichen Kontrollen stützen diese Behauptungen. Kollé, Starkenstein, Schürer, Besserer fanden bei anderen Krankheiten niemals in Verdünnung 1:50 die Weil-Felix-Reaktion positiv. Vitlizek untersuchte 150 Gesunde, darunter waren 2 positiv in Verdünnung 1:25. Epstein und Morawetz fanden bei Gesunden die Reaktion negativ. Farley und N. Hamilton (17) sahen bei 120 Kontrollen niemals eine positive Reaktion in Verdünnung 1:20. Allerdings zitiert Rocha Lima auch einzelne Fälle, bei welchen Reaktionen 1:50 (Dietrich unter 100 Kontrollen 1 Fall) und 1:200 (Weil-Felix unter 632 Fällen 1 Fall) beschrieben sind. Jedoch handelt es sich hier um seltene Ausnahmen. Die häufige Weil-Felix-Reaktion bei Typhusfällen sowie auch die positive Gruber-Widal-Reaktion bei Flecktyphusfällen wird wohl heute nicht mehr als unspezifisch hingestellt, welche den Wert der Reaktion einschränkt, sondern im Sinne einer Reaktivierung latenter histogener Agglutinine aufgefaßt (Anamnestiche Reaktion). In einem späteren Kapitel werden wir an der Hand eines beobachteten Falles auf dieses interessante Phänomen zurückkommen.

Die Weil-Felix-Reaktion ist konstant und findet sich nach Zlocisti in 100 Proz., nach Sterling in 96 Proz., nach Ramalhao (Portugal) in 93 Proz., nach Dietrich in 90 Proz. u. a. am 4.-6. Tage positiv.

Wie aus der Literatur hervorgeht, ist die Reaktion negativ bei Gesunden und bei anderen Infektionskrankheiten (Dysenterie, Typhus, Scharlach, Variola, Erysipel, Recurrens, Malaria, cerebrospinale Meningitis, Tuberkulose etc.) in Verdünnung 1:50. Man kann daher Rocha Lima beipflichten, daß der positive Ausfall der Weil-Felix-Reaktion in der Verdünnung 1:100 Flecktyphus fast mit Sicherheit anzeigt, der negative Ausfall das Vorhandensein einer Flecktyphusinfektion jedoch nicht ausschließt (p. 261).

Die Weil-Felix-Reaktion besitzt danach alle Vorzüge, die man von einer biologisch-diagnostischen Reaktion fordern darf, sie ist in be-

stimmten Verdünnungen spezifisch und fast konstant.

Es war danach auch notwendig, die Weil-Felix-Reaktion, die bisher nur am europäischen Fleckfieber angewandt worden ist, auch beim amerikanischen Flecktyphus zu prüfen. Durch die Vermittlung des argentinischen Gesandten in Wien, Dr. Fernando Perez, gelangten wir im Jahre 1918 in den Besitz eines Proteus X 19 (Serotherapeutisches Institut, Wien), und durch Vermittlung der argentinischen Gesandtschaft in Paris eines Proteus X (Institut Pasteur).

Mit diesen Stämmen haben wir zuerst eine Reihe von Kontrolluntersuchungen bei verschiedenen Infektionskrankheiten angestellt (zusammen mit den Fällen von R. Borzone sind es folgende Fälle: Syphilis 8, Typhus 18, Scharlach 3, Masern 4, Influenza 4, Tuberkulose 2, Pneumonia 3, Malaria 15, Gesunde 27, insgesamt 83 Fälle. In keinem Fall gab es in Verdünnungen 1:20 eine positive Reaktion.

Die weiteren Untersuchungen gingen nunmehr darauf hinaus, die Reaktion zur Diagnose des Flecktyphus zu verwenden. Fast bei allen Fällen, welche bei der Epidemie 1920 (Molinos, Cachi, Quebrada Escoipe) unter klinischen Erscheinungen erkrankt sind, gaben in Verdünnungen 1:100 und 1:200 und darüber Weil-Felix-Reaktion positiv (94 Proz.).

Außerdem hatte der Eine von uns (Kraus) Gelegenheit, die Weil-Felix-Reaktion in der Flecktyphusepidemie 1919 in Santiago de Chile zu prüfen und konnte sich ebenfalls von der diagnostischen Brauchbarkeit derselben in zahlreichen Fällen überzeugen. Es wurde auch im Institut ein nach den Angaben von Bien und Sonntag vorbereitetes Alkohol-diagnostikum geprüft und mit der lebenden Kultur verglichen. Es ergab sich, daß das Alkoholdiagnostikum anfangs oft feinere Ausschläge gab, als die lebende Kultur, daß aber nach kurzer Zeit schon die Reaktionsfähigkeit des Diagnostikums abgenommen hat (La Prensa Medica Argentina, 1920). Ein handliches Diagnostikum für Fleckfieber, wie es das Typhusdiagnostikum nach Ficker darstellt, ist für die prophylaktische Bekämpfung des Flecktyphus, namentlich in endemischen Gegenden, die gewöhnlich außerhalb der menschlichen Kultur sind, von großer praktischer Bedeutung. Auf der Suche nach

einem derartigen Diagnostikum haben wir die Angaben von Csepai und Sachs (18) befolgt und Aufschwemmungen von 24—48-stündiger Agarkultur von Proteus X 19 in physiologischer Kochsalzlösung auf 80° durch 1 Stunde erhitzt. Unsere Resultate sind außerordentlich günstig, so daß wir für praktische Bedürfnisse dieses Diagnostikum empfehlen, zumal es auch lange haltbar ist. (Es empfiehlt sich noch nach der Erhitzung ein Zusatz von 0,5-proz. Karbolsäure.)

Durch unsere Untersuchungen ist erwiesen, daß sich der Flecktyphus in Chile und Argentinien auch in bezug auf die Serumreaktion nach Weil-Felix identisch verhält wie der in Europa.

Es war nun interessant zu erfahren, wie sich der Flecktyphus in Peru, Bolivien und auch in Mexiko diesbezüglich verhält. Aus diesem Grunde baten wir Dr. R. E. Ribeyro in Lima und Dr. T. G. Perrin in Mexiko, mit dem ihnen zugeschickten Stamm Proteus X 19 die Serumreaktion anzustellen.

Ribeyro (19) hatte in einigen Fällen bei einer Flecktyphus-epidemie in Peru positive Weil-Felix-Reaktion $1/100$ — $1/10\,000$ beobachtet.

In einer ausführlichen Mitteilung teilt T. G. Perrin (20) mit, daß auch der mexikanische Flecktyphus (Tabardillo) positive Weil-Felix-Reaktion gibt, und daß auf Grund der Kontrollversuche man dieser Reaktion eine große diagnostische Bedeutung zuschreiben muß.

Aus all den hier angeführten Untersuchungen ist zu ersehen, daß der Flecktyphus in Zentral- und Südamerika nicht bloß in klinischer Beziehung gleichzustellen ist mit dem europäischen, sondern auch mit Rücksicht auf die biologischen Reaktionen, wie es die Thermo- und Serumreaktionen sind. Es wäre noch interessant, zu erfahren, wie sich diesbezüglich die Brillsche Krankheit verhält, die nach den Untersuchungen von Anderson und Goldberger als eine abgeschwächte Form des Flecktyphus anzusehen ist, und die klinisch verwandten Krankheiten: Rocky Mountain Spotted Fever in Nordamerika und Keda- oder Tsutsugamuschi-Krankheit in Japan.

Zur Frage der anamnestischen Reaktion.

Beobachtungen verschiedener Autoren haben gezeigt, daß im Verlauf des Flecktyphus im Serum Agglutinine auch für Typhusbazillen und umgekehrt beim Typhus Agglutinine für Fleckfieber aufzutreten pflegen. Es erschien danach, daß unspezifische Agglutinine mit den spezifischen im Blute auftreten können, so daß dadurch die Spezifität der Reaktion eingeschränkt zu sein scheint. Durch spätere eingehende Untersuchungen aber wurde festgestellt, daß man es hier mit einem besonderen Phänomen zu tun hat, welches den Namen „anamnestische Reaktion“ erhielt.

Es handelt sich dabei um die Reaktivierung histogener Agglutinine, die nach einer früheren Infektion latent zurückgeblieben sind, und die durch den neuen heterologen Prozeß reaktiviert wurden.

Die theoretische Immunitätsforschung kennt analoge Phänomene seit den Untersuchungen von Dungern. Er konnte bei seit längerer Zeit mit Serum von *Maja squinado* vorbehandelten Kaninchen, die Präzipitine im Serum hatten und dann verschwunden waren, durch eine neuerliche Injektion in kürzerer Zeit und in größeren Mengen sie im Blute erhalten, als bei erst injizierten Tieren.

Cole (zitiert nach P. Müller) beobachtete bei mit Typhusbazillen vorbehandelten Kaninchen, daß geringe Dosen, die bei gesunden keine Agglutinine auszulösen imstande waren, bei diesen solche ausgelöst haben.

Shiga sah bei gesunden Personen, daß Typusschutzimpfung eine Agglutininbildung bis 1:80 hervorruft, wogegen bei Personen, die 12 Jahre vorher Typhus überstanden haben, eine solche viel höhere Werte auslöst.

Analoge Beobachtungen konnte man aber bei der Weil-Felix-Reaktion machen. Einzelne Beispiele seien hier aufgeführt:

Croner (21) teilt mit, daß Personen, die vor nicht langer Zeit Typhus überstanden haben, beim Flecktyphus neuerdings positiven Gruber-Widal aufweisen.

Seyfarth (22) beobachtete Reaktivierung der Weil-Felix-Reaktion 1½ Jahre nach dem Flecktyphus bei Patienten mit Malaria und Recurrens.

Diese wenigen Beispiele genügen, um zu zeigen, daß es sich nicht um eine Para- oder Mitagglutination hier in diesen Fällen handelt, sondern um eine Reaktivierung latenter Agglutinine.

An diese Fälle schließen sich zwei Fälle an, die wir Gelegenheit hatten, zu beobachten:

Auf die Klinik für Infektionskrankheiten (Prof. Fr. Destefano) wird ein Kranker gebracht mit hohem Fieber, und da der Verdacht auf Typhus besteht, wird die Gruber-Widal-Reaktion gemacht.

Wegen des negativen Resultates und der ausgebreiteten Exantheme wird die Weil-Felix-Reaktion ausgeführt, die bis 1:10000 positiv ist. Da aber der Patient in Buenos Aires lebt, wo kein Flecktyphus vorkommt, also die Diagnose Flecktyphus ganz unwahrscheinlich ist, wurde nochmals die Gruber-Widal-Reaktion gemacht, die diesmal positiv ausfällt bis 1:4000. Die Reaktion auf Paratyphus A und B bleibt negativ. In der Rekonvaleszenz (1 Monat nachher) wird der Versuch wiederholt, die Werte haben abgenommen und sind bei beiden Reaktionen bis 1:1000 positiv.

Um über den Charakter der Agglutinine Aufschluß zu bekommen, wurde der Absättigungsversuch nach Castellani gemacht, wobei mit dem Proteus X 19 die Proteusagglutinine abgesättigt wurden, nicht aber die Typhusagglutinine, und umgekehrt fiel der Versuch mit Typhusbazillen aus.

Der weitere klinische Verlauf des Falles sprach für Abdominaltyphus.

Da gar keine Möglichkeit einer Infektion mit Flecktyphus in Buenos Aires bestand, die Mitbewohner alle gesund geblieben sind, mußte danach an eine anamnestische Reaktion gedacht werden. Und tatsächlich stellte sich heraus, daß der Patient vor 12 Jahren aus Rußland eingewandert ist, wo endemischer Flecktyphus besteht. Ob der Patient einen Flecktyphus hatte, ließ sich nicht feststellen. Nachdem keine andere Erklärungsmöglichkeit besteht, dürfte die Annahme, daß der Patient in Rußland einen leichten Flecktyphus durchgemacht hat, und daß durch die jetzige Erkrankung die latenten Flecktyphusagglutinine reaktiviert worden sind, die einzig mögliche sein.

Auch über einen zweiten analogen Fall können wir berichten: Auf einem Schiff kommt im Hafen von Buenos Aires aus England ein 60-jähriger Matrose mit Fieber und Exanthenen an. Der Patient wird ebenfalls auf die Klinik für

Infektionskrankheiten gebracht, wo die Diagnose Masern gestellt wird. Die Weil-Felix-Reaktion ist in Verdünnung 1:2000 positiv. Der Verlauf und die typische Abschuppung sprechen für Masern. Da auf dem Schiff kein weiterer Fall von Flecktyphus vorgekommen ist und der Patient aus Irland stammt, wo der Flecktyphus endemisch vorkommt, dürfte es sich sicher wieder um eine anamnestische Reaktion handeln.

Diese zwei Beispiele zeigen außerdem, welche Bedeutung die genaue Kenntnis dieser anamnestischen Reaktion nicht nur für die Klinik, sondern auch für die eventuellen Maßnahmen der öffentlichen und Hafen-Gesundheit hat.

Vorderhand fehlt eine Erklärung dieser interessanten Phänomene, jedenfalls ist zu betonen, daß die diagnostische Spezifität der Weil-Felix-Reaktion dadurch nicht weiter beeinträchtigt ist.

Beiträge zur Theorie der Weil-Felix-Reaktion.

Zurzeit ist die Weil-Felix-Reaktion in ihrem Wesen nicht aufgeklärt. Weder die Paraagglutinintheorie (Otto und Dietrich), noch die Theorie über Steigerung normaler Antikörper (Braun), noch die heterogenetische Theorie (Hamburger und Bauch) und die Gruppenagglutinations- und Mischinfektionstheorie (Kolle und Schlossberger) können das Auftreten der Proteus X-Agglutinine für den Proteus X einwandfrei erklären.

Allgemein wird angenommen, daß der Proteus X in keinen ätiologischen Zusammenhang mit dem Flecktyphus gebracht werden kann, daß also die Agglutinine im Serum der Kranken nicht ätiologisch spezifisch sind, sondern nur diagnostisch spezifisch.

Weil und Felix (23) sehen in den Agglutininen spezifische Antikörper gegen die Antigene des Flecktyphusvirus, die identisch sind mit dem spezifischen Antigen des Hauptrezeptors des Proteus X 19. Um diese Theorie zu stützen, führen sie interessante Versuche an Kaninchen an, welche die Ansicht der Autoren bestätigen.

Unabhängig von Weil und Felix haben wir derartige Versuche unternommen, die aber zu keinem so eindeutigen Resultat geführt haben.

1. Versuch: Immunisierung mit Gehirnemulsion infizierter Meerschweinchen.

Es werden 5 Kaninchen mit dichter Emulsion von Gehirn infizierter Meerschweinchen (mit Fieber) am 6., 12., 15. VII. peritoneal injiziert, und nach 6 und 10 Tagen ein Probeaderlaß gemacht.

Nur bei einem Kaninchen wurde eine positive Reaktion 1:100 gefunden, sowohl mit lebenden Bazillen als auch mit dem Diagnostikum (80°); daraufhin wurden die anderen Tiere weiter injiziert am 30. VII., 4. und 6. VIII., die Blutuntersuchung ergab aber wieder ein negatives Resultat.

2. Versuch: Immunisierung von 3 Kaninchen mit dichter Gehirnemulsion von infizierten Meerschweinchen.

Am 14., 20. und 28. VIII. Die Blutuntersuchung am 6. IX. negativ. Weitere Injektionen am 9., 13. 20. und 29. Nach 14 Tagen Aderlaß. Das Serum gibt mit dem auf 80° erhitzten Diagnostikum negatives Resultat, nur mit lebenden Bazillen ist die Reaktion bei 2 Kaninchen deutlich positiv 1:100. Die Wiederholung nach 19 Tagen gibt bei 2 Kaninchen 1:50 positiv mit Proteus und Diagnostikum; 1:100 beim 3. Kaninchen positiv mit Proteus und negativ mit dem Diagnostikum.

3. Versuch: Die Kaninchen (7), welche mit lebenden und bei 60 und 80° erhitzten Proteus X 19-Kulturen injiziert waren, gaben alle positive Reaktionen mit Proteus X 19.

4. Versuch: Immunisierung mit auf 60° erhitzter Gehirnemulsion infizierter Meerschweinchen.

Es wurden 3 Kaninchen peritoneal am 15., 24., 26., 30. VII. injiziert. Die Untersuchung des Blutes mit lebenden Bazillen am 6. VIII. fiel negativ aus. Daraufhin wird weiter mit lebendem Virus injiziert am 14., 20., 28. VIII. Die Blutuntersuchung nach 8 Tagen ist negativ. Am 29. wird neuerlich injiziert und nach 14 Tagen Blut genommen. Nur bei einem Kaninchen ist die Reaktion 1:100 positiv, aber nur mit lebenden Bazillen, nicht aber mit dem Diagnostikum.

5. Versuch:

Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit dieser Untersuchungen haben wir, als die Arbeiten von Weil und Felix erschienen sind, neue Versuche angestellt und haben verschiedene Mengen Gehirns verwendet, so wie sie Weil und Felix in ihrer 2. Mitteilung (0,5 g, 0,1 g, 0,05 g Gehirn infizierter Meerschweinchen). 18 Tage nach der Injektion wurde das Blut untersucht, und zwar mit lebender Kultur und mit Diagnostikum mit negativem Resultat (6 Kaninchen). Eine weitere Injektion derselben Mengen hat auch nach 21 Tagen kein positives Resultat ergeben.

Dasselbe Resultat erhielten wir bei Verwendung einer auf 100° erhitzten Gehirnemulsion (3 Kaninchen).

Diese Versuche bestätigen im Prinzip die von Weil und Felix gefundene wichtige Tatsache, daß Gehirn von infizierten Meerschweinchen imstande ist, bei Kaninchen Agglutinine von Proteus X 19 auszulösen.

Im Widerspruch zu den Angaben von Weil und Felix stehen unsere Befunde insofern, als diese Autoren in ihrer 2. Mitteilung Werte von 1:500 und 1:1000 angeben und bei allen Kaninchen positive Resultate verzeichnen. In unseren Versuchen sind die positiven Befunde Ausnahmen, und die Werte sind sehr niedrige. Es ergaben sich in den positiven Fällen auch Differenzen bei Benutzung lebender Kultur und des 80°-Diagnostikums. Die Resultate von Doerr und R. Pick (24) sind noch weniger befriedigend als die unserigen, indem sie nach der Injektion von infiziertem Meerschweinchengehirn bei Kaninchen Werte von 1:10 und 1:20 finden, einmal 1:60 gegenüber Bacillus Proteus X 19. Da die Autoren auch mit normalem Meerschweinchengehirn ebenfalls eine so geringe Fiebersteigerung erhielten wie mit infiziertem Gehirn, sehen sie darin eine unspezifische Serumveränderung.

Woran es liegt, daß Weil und Felix so eindeutige Resultate gewonnen haben, wir dagegen weit weniger befriedigende und Doerr und R. Pick negative Befunde beschreiben, läßt sich vorderhand nicht bestimmen.

Diese Versuche sind für die Frage über das Wesen der Weil-Felix-Reaktion von so weitgehender Bedeutung, daß es notwendig erscheint, diesen hier angeführten Widersprüchen weiter nachzugehen.

Weil und Felix schließen aus ihren Versuchen, daß die Reaktion eine spezifische ist im Sinne der Immunitätslehre und nehmen an, daß das unbekanntes Fleckfiebertyphusvirus einen agglutinogenen Rezeptor besitzt, welcher mit dem spezifischen Hauptrezeptor des X 19 identisch ist. Sollten spätere Untersuchungen diese Tatsache bestätigen können, würde man eine experimentelle Grundlage haben, auf welcher man zu einer einwandfreien Theorie gelangen würde.

Jedenfalls ist heute schon sichergestellt durch die Versuche von Landsteiner und Hausmann, Doerr und Schnabel, Schloßberger u. a., daß das Virus im Meer-

schweinchchen antiinfektiöse Antikörper gegen den Proteus X 19 ebensowenig zu erzeugen imstande ist, wie es der Proteus X 19 gegen das Virus vermag. Mit der Sicherstellung der Befunde von Weil-Felix würde dem Agglutinogen des Virus keine solche strenge Spezifität zukommen, wie den lysinogenen oder antiinfektiösen Antigenen im Virus und im Leib des Proteus X 19.

Da, wie gesagt, unsere Vorstellungen dahin gingen, daß man es mit einer heterogenetischen Reaktion zu tun haben könnte, injizierten wir außerdem verschiedene Tierarten, um die Bildung der Agglutinine nachzuweisen. Beim Pferd konnten wir trotz monatelanger Injektion großer Mengen infektiösen Materials keine Agglutination nachweisen. Bei 2 Schafen, Hund und Meerschweinchen erhielten wir ebenfalls negative Resultate, bei 2 Ziegen fanden wir folgendes: eine Ziege gab mit lebender Kultur X 19 eine Reaktion bis 1:50 (Diagnostikum negativ) und mit einem nicht spezifischen Proteus 1:100. Die zweite Ziege gab mit lebender Kultur und mit abgetötetem, nicht spezifischem Proteus eine positive Reaktion bis 1:50. Ob man es hier mit einer spezifischen Reaktion zu tun hat, ist bei den niedrigen Werten und bei der Feststellung der Agglutination mit einem nicht spezifischem Proteus sehr fraglich. Auch diese Versuche sind nicht danach angetan, die Angaben von Weil-Felix vollinhaltlich zu bestätigen und bedürfen weiterer Nachprüfungen.

Adsorptionsversuche mit dem agglutinierenden Kaninchenserum, gewonnen mit infiziertem Gehirn, dem Bacillus Proteus X 19 und Serum von Kranken.

1. Versuch: Das Serum vom Kaninchen 8, immunisiert mit Meerschweinchengehirn, agglutiniert den Bacillus Proteus X 19 und das Diagnostikum 1:100 grobflockig. Das Serum Kaninchen 6, immunisiert mit Proteus X 19, agglutiniert den Proteus X 19 und den nicht spezifischen Proteus 1:400 in 2 Stunden grobflockig. Damit wäre ein Unterschied gegenüber dem Krankenserum festgestellt, welche nur den X 19 agglutiniert.

1 ccm Serum 1:10 Kaninchen 8 (Gehirn) + 2 ccm Diagnostikum, nach 18 Stunden bei 37° Agglutination. Nachdem zentrifugiert wurde, wird von der klaren Flüssigkeit die Verdünnung 1:30, 60 gemacht, und mit Diagnostikum 1,0 versetzt. Die Kontrollen agglutinieren bis 1:200, wogegen die Probe negativ ausfällt.

Derselbe Versuch mit Serum von Kaninchen 6 (immunisiert mit Proteus X 19) fällt gleichlautend aus.

Daraus ergibt sich, daß der Proteus X 19 durch Absorption sowohl im Serum, gewonnen mit Gehirn, als auch mit Proteus X 19 die Agglutinine bindet.

2. Versuch: 1 ccm Serum 1:10 Kaninchen 8 + 1 ccm Gehirn-emulsion von infizierten Meerschweinchen, nach 24 Stunden bei 37° wird zentrifugiert, die obere Flüssigkeit wird verdünnt 1:40, 80 und mit 1 ccm des Diagnostikums angesetzt. Die Reaktion fällt positiv aus. Dasselbe Resultat ergab der Absorptionsversuch mit dem Serum Kaninchen 6, gewonnen mit Proteus X 19.

Dieser Versuch, der wiederholt dasselbe Resultat ergab, zeigt, daß das infizierte Gehirn nicht imstande ist, die spezifischen Agglutinine im Serum der Kaninchen 6 und 8 zu binden, so wie es Proteus X 19 tut. Auch bei Anwendung größerer Gehirnmengen ist das Resultat negativ.

3. Versuch: Es wurden 2 Sera von Kranken (Agglutination bei 1:200) mit Proteus X 19 und Gehirn ebenso behandelt, wie die Kaninchen-sera mit gleichlautendem Resultat. Proteus X 19 bindet Agglutinine, infiziertes Gehirn dagegen nicht.

Diese Adsorptionsversuche erinnern in dieser Beziehung an gewisse Tatsachen, die in der Immunitätslehre bekannt sind, daß nämlich eine Inkongruenz bestehen kann zwischen antigener und bindender Eigenschaft.

In letzter Zeit wurden analoge Tatsachen bei den heterogenetischen Antikörpern (Niere des Pferdes) beschrieben (Sordelli, Fischer [25]).

Damit würde eine weitere Beziehung zu den heterogenetischen Antikörpern gefunden worden sein.

Versuche über Präzipitation.

Es war weiter in Verfolgung der Unterschiede zwischen Kaninchenimmunserum, gewonnen mit Virus (Gehirn), und einem solchen mit Proteus X zu sehen, wie sich diese Sera bei der Präzipitation verhalten. Zu diesem Zwecke wurden Bakterienfiltrate des Proteus X 19 mit Serum Kaninchen 8 und 6 gemischt und nach 24 Stunden bei 37° beobachtet.

| | | |
|------------|---------------------------------|----------------|
| a) Filtrat | plus 0,5 S Kaninchen 8 (Gehirn) | } Niederschlag |
| | „ 1,0 | |
| b) Filtrat | plus 0,1 S Kaninchen 6 (X 19) | } Niederschlag |
| | „ 1,0 | |

Ein weiterer Versuch, im Filtrat vom infizierten Gehirn Niederschlag zu finden, fiel negativ aus.

Es verhalten sich demnach die Sera bei der Präzipitation gegenüber X 19-Filtraten so, wie bei der Agglutination des X 19.

Ueber histologische Veränderungen beim Flecktyphus.

Die Arbeiten E. Fränkels (26) über Veränderungen der kleinen Hautgefäße bei Flecktyphus haben die Grundlage der pathologischen Anatomie dieser Erkrankung geschaffen. Das Prinzipielle des Prozesses besteht nach Fränkel darin, daß zirkumskripte Gefäßabschnitte (Arterien) ergriffen sind, insbesondere aber die Intima, die aufgequollen, abgestoßen, zum Teil nekrotisch erscheint (im Innern der Gefäße sind hyaline Thromben). Dieser nach Fränkel ganz spezifische Prozeß findet sich, wie namentlich spätere Untersuchungen gezeigt haben (H. Albrecht, Aschoff, Benda, Ceelen, Spielmeier, L. Pick u. a.), auch in anderen Organen, insbesondere im Gehirn (H. Albrecht, Ceelen), Nieren (Ceelen).

Wenn auch Fränkel den perivaskulären Veränderungen, die er allerdings als wichtige mit zum Bilde des Prozesses ansieht, keine spezifische Bedeutung zuschreibt, findet man in der Literatur doch ausführliche Beschreibungen dieser Veränderungen bei Flecktyphus, so daß es wichtig erscheint, auch darüber zur Klarheit zu gelangen.

Was die perivaskulären Infiltrationen in der Haut betrifft, so hat eigentlich erst die Arbeit Fränkels bei Flecktyphus die Aufmerksamkeit der pathologischen Anatomie darauf gelenkt. H. Albrecht (27) sagt in seiner Arbeit (p. 1209) folgendes: „Was die perivaskulären Infiltrate, Zellmäntel oder auch nur Zellanhäufungen betrifft, so bieten dieselben ein sehr charakteristisches Bild, das ich ebenso wie Fränkel als für Fleckfieber eigenartig halten muß.“ Wenn auch Fränkel besonderes Gewicht auf Lymphozyten legt, so haben Aschoff, Benda und Ceelen Leukozyten im Infiltrat feststellen können, ganz gleich wie es Gruber, L. Pick, Benda beim Exanthem der epidemischen Genickstarre finden konnten.

Nach Benda (28) besteht zwischen beiden Exanthenen histologisch „eine weitgehende Aehnlichkeit“, indem die Lokalisation sehr gleichartig ist und auch die das Infiltrat zusammensetzenden Elemente.

Dieser Befund beweist nur, daß den perivaskulären Infiltraten in der Haut in ätiologischer Hinsicht keine Bedeutung zukommen kann.

In der Influenzaepidemie hier in Buenos Aires konnte A. Roffo (29) bei Fällen mit Exanthem ebenfalls ähnliche perivaskuläre Veränderungen in der Haut beschreiben (Lambias und Ruiz konnten ähnliches feststellen).

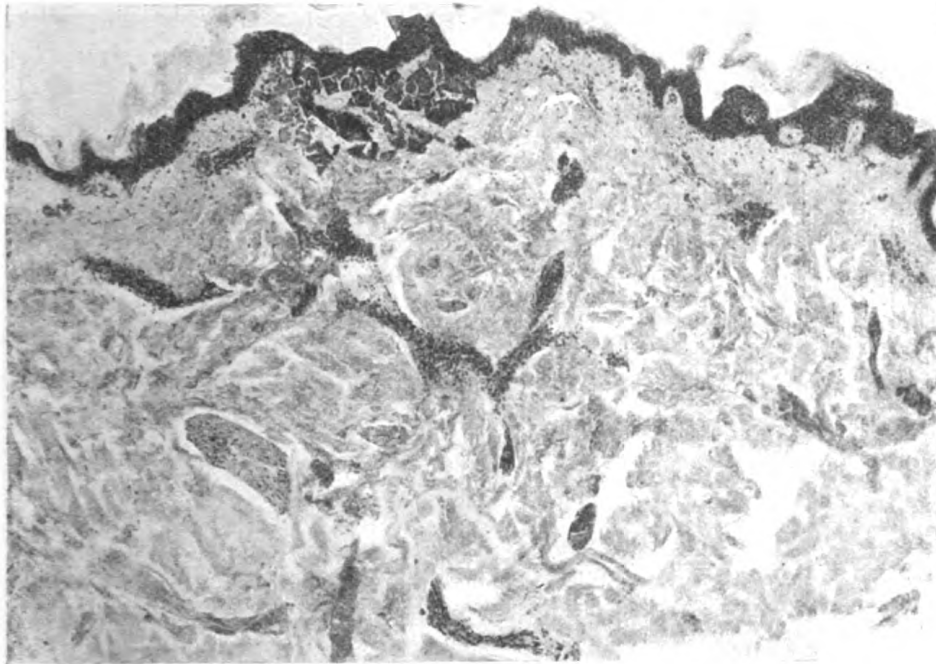


Fig. 1.

Interessant ist immerhin, daß auch bei anderen exanthematischen Krankheiten, die vielleicht eine große Verwandtschaft mit dem Flecktyphus aufweisen, wie es das Rocky Mountain Spotted Fever und die Kedani-Krankheit sind, ähnliche Veränderungen in der Haut vorkommen.

Unsere Untersuchungen über die Histologie der Haut des Flecktyphus in Südamerika decken sich vollkommen mit diesen Angaben (Fig. 1).

Dasselbe, was man von den perivaskulären Infiltraten in der Haut nunmehr behaupten kann, läßt sich auch auf diejenigen im Gehirn anwenden.

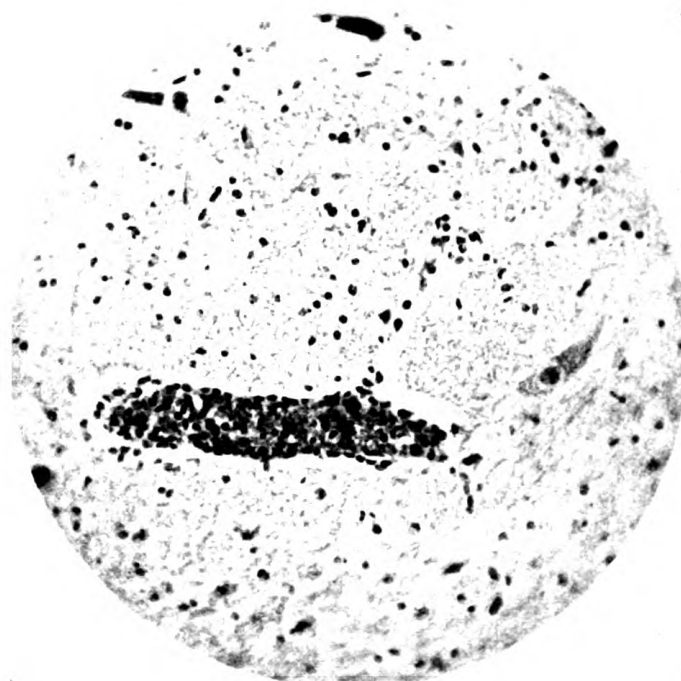


Fig 2. Gehirn-Meerschweinchen.

H. Albrecht beschreibt als erster im Gehirn analoge Veränderungen, wie sie in der Haut vorkommen. Es handelt sich dabei ebenfalls um perivaskuläre Infiltrate, die in ihrer Form

und in der Art der Zellen ganz denen in der Haut gleichen, sie sitzen ausschließlich in der Rinde und haben ebenfalls Knötchenform. „Es kann nicht zweifelhaft sein, sagt Albrecht, daß auch diese multiplen kleinsten Hinrinden-Herdchen eine für Fleckfieber spezifische Affektion vorstellen.“

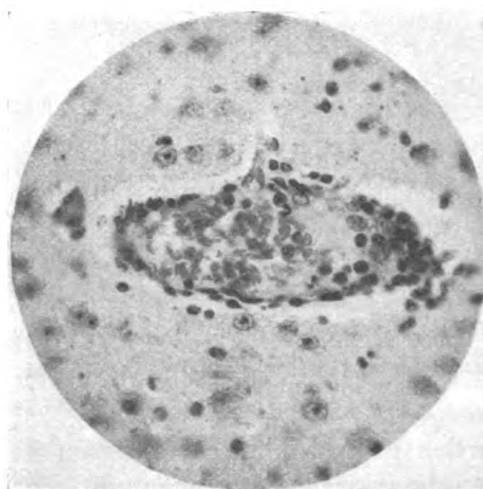


Fig. 3. Gehirn-Meerschweinchen.

Ceelen (30) beschreibt ebenfalls gleiche

Veränderungen im Gehirn, legt aber das Hauptgewicht der spezifischen Veränderungen auf die Wandnekrose der Intima der Gehirne, so wie es Fränkel behauptet. Spielmeyer (31) beschreibt in seiner ausführlichen Arbeit Infiltrationen der Gefäße, Plasmazellen, lymphozytischen Elemente. Spielmeyer sagt (p. 8), daß die Veränderungen am Zentralnervensystem bei Flecktyphus nicht nur durch die Herde, sondern auch durch die Zellenlagerungen in die weichen Häute und durch die Infiltrationen zentraler Gefäße charakteristisch sind. Wichtig ist zu erwähnen, daß Spielmeyer Wandveränderungen, die man füglich Nekrosen nennen könnte, in den Herden des Gehirns nie gesehen hat. Doch waren in allen Fällen in einem Teile der Herde bald mehr, bald weniger regressive Umwandlungen der Intima zu beobachten.

Spielmeyer meint (p. 23), daß er diesen Veränderungen für die Pathologie keine Rolle zusprechen könne.

Auch beim experimentellen Flecktyphus des Meerschweinchens haben Prowazek, Otto und Dietrich, Doerr Veränderungen im Gehirn infizierter Tiere beschrieben. Nach Otto und Dietrich sind perivaskuläre Infiltrationen sehr charakteristisch, die man hauptsächlich in der Hirnrinde, Amonshorn, aber nicht im Kleinhirn vorfindet. L. Pick konnte in diesen Präparaten keine deutliche Schädigung der Intima nachweisen.

Jedenfalls sehen wir, daß die von Ceelen beschriebene charakteristische Veränderung der Intima in den Gehirngefäßen von Albrecht, Spielmeyer, L. Pick vermißt und das Hauptgewicht auf die perivaskulären Infiltrate gelegt wird. Unsere Untersuchungen bestätigen die Befunde von Otto und Dietrich (Fig. 2, 3).

Perivaskuläre Infiltrate bei Hundewut sind seit langem bekannt und von Babes als Wutknötchen beschrieben. In unseren Versuchen (Kraus und Clairmont) konnten wir auch mit Virus fixe bei Hühnern und Gänsen, bei welchen der Verlauf ein sehr langsamer ist, solche Infiltrate erzeugen. Diese Veränderungen hielt man lange Zeit für spezifische, solange als man bei anderen Krankheiten solche nicht nachgewiesen hat. Heute kennen wir eine Reihe von Infektionskrankheiten, die ätiologisch vollkommen verschieden sind, und

bei welchen ganz gleiche perivaskuläre Infiltrationen im Gehirn und Rückenmark gefunden wurden. Zunächst seien die Veränderungen angeführt, die Spielmeyer bei der Schlafkrankheit beschrieben hat, die an Bilder bei der progressiven Paralyse erinnern können. Es sei ferner an die Poliomyelitis, an die Veränderungen bei der Encephalitis lethargica (Economo) erinnert. In der Veterinärmedizin sind heute gleiche Veränderungen bekannt, bei der Bornaschen Krankheit der Pferde (Encephalitis epizootica, Joest und Diegen, Kraus und seine Mitarbeiter) und beim Mal de Caderas (Meßner).

Damit ist erwiesen, daß perivaskuläre Infiltrate in der Haut und im Gehirn bei ätiologisch durchaus verschiedenen Infektionskrankheiten nachgewiesen werden können. Man findet dieselben bei durch Bakterien hervorgerufenen Krankheiten, wie z. B. Meningitis cerebrospinalis und in Influenza, in der Haut und im Gehirn bei der Bornaschen Krankheit, dann aber auch bei Protozoenerkrankungen, wie bei der Schlafkrankheit und Mal de Caderas im Gehirn und bei Krankheiten, hervorgerufen durch filtrierbares Virus: Hundswut, Poliomyelitis. Dazu kommt nunmehr, daß gleiche Veränderungen bei Krankheiten, deren Aetiologie noch unbekannt ist, vorkommen können, wie Flecktyphus (Haut, Gehirn), Encephalitis lethargica (Gehirn), Wolhynisches Fieber (Haut), Kedani-Krankheit (Haut) und Rocky Mountain Spotted Fever.

Es geht daraus hervor, daß diese Infiltrate im ätiologischen Sinne nicht spezifisch sind.

Zusammenfassung.

1) Versuche über die normale Temperatur der Meerschweinchen und entsprechende Kontrollversuche ergaben, daß die Thermoreaktion beim Meerschweinchen als Ausdruck einer Infektion mit dem Virus des Flecktyphus zu bewerten ist.

2) Es ergab sich, daß gesunde Meerschweinchen von infizierten sich anstecken können.

3) Auch die Weil-Felixsche Reaktion verhält sich beim Flecktyphus in Zentral- und Südamerika ebenso wie beim europäischen Flecktyphus. Es werden Beispiele für anamnestic Serumreaktionen angeführt.

4) Weitere Versuche betreffen die Theorie der Weil-Felixschen Reaktion.

5) Endlich werden die histologischen Veränderungen beim Flecktyphus behandelt. Perivaskuläre Infiltrate in der Haut und im Gehirn werden als im ätiologischen Sinne nicht spezifisch aufgefaßt.

Literatur.

Die nicht zitierte Literatur ist im Referat von Rocha Lima zu finden.

- 1) Nicolle et Conseil, Annales de l'Institut Pasteur, 1911, 12.
- 2) Gaviño und Girard, Mexiko, 1911, Instituto Bacteriol., No. 7.
- 3) Ricketts and Wilder, Journ. Amer. Med. Assoc, 1910.
- 4) Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920.
- 5) Rocha Lima, Ergebnisse der allgemeinen Pathologie, Lubarsch-Ostertag, 1919 (ausführliche Literaturangaben).
- 6) Ritz, Deutsche med. Wochenschr., 1918.
- 7) Otto und Dietrich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 82, 1918.
- 8) Doerr und Schnabel, Wiener klin. Wochenschr., 1919.
- 9) J. W. Scott Macfie and I. L. Johnston, R. Soc. of Med., 1913, London.
- 10) Landsteiner und Hausmann, Med. Klinik, 1918.
- 11) Doerr und R. Pick, Wiener klin. Wochenschr., 1918.
- 12) O. Loewy, Wiener klin. Wochenschr., 1916.
- 13) Kraus, Keller und Clairmont, Zeitschr. f. Hyg., 1902.
- 14) Otto und Papamarku, Centralbl. f. Bakt., Bd. 84, 1920.
- 15) A. Lustig, Müller, Milano 1919.
- 16) Weil und Felix, Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 17.
- 17) Farley N. Hamilton, zitiert bei Bentson, Publ. Health Reports, Washington, 1919.
- 18) H. Sachs, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 18.
- 19) R. E. Ribeyro, Cronica medica de Lima, 1919.
- 20) T. G. Perrin, Bolletin de la comision central, Mexiko, 1920.
- 21) Croner, Zeitschr. f. Hyg., 1918.
- 22) Seyfarth, Med. Klinik, 1918.
- 23) Weil und Felix, Wiener klin. Wochenschr., 1920.
- 24) Doerr und R. Pick, Zeitschr. f. Hyg., 1919.
- 25) Sordelli, Fischer, Pico u. Wernicke, Rev. del Instituto Bact.
- 26) E. Fränkel, Münch. med. Wochenschr., 1914—1915.
- 27) H. Albrecht, Oesterr. Sanitätsw., 1915.
- 28) Benda, Berl. klin. Wochenschr., 1916.
- 29) H. Roffo, Revista del Instituto Bact.
- 30) Ceelen, Berl. klin. Wochenschr., 1916.
- 31) Spielmeyer, Zeitschr. f. Neurologie, 1919.

Nachdruck verboten.

[Aus der 2. inneren und der physiologisch-chemischen Abteilung
des Städtischen Krankenhauses am Friedrichshain, Berlin.]

**Beiträge zum physikalisch-chemischen Verhalten des
Blutes nach intravenösen Injektionen, besonders von
Proteinkörpern (unter Berücksichtigung der Anaphylaxie).**

Von **Hans Rosenberg** und **Lucie Adelsberger**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. November 1921.)

I.

In früheren Versuchen konnte der eine von uns [Rosenberg¹⁾] nachweisen, daß die elektrische (faradische) Erregbarkeit des N. vagus und des N. depressor, geprüft an der Blutdruckkurve, und des N. sympathicus, geprüft an der Iris des Kaninchens, durch intravenöse Injektion von Milchpräparaten am gesunden Tier geändert wird^{2) 3)}, und daß diese Einspritzungen eine Schutzwirkung gegen manche spezifische Pharmaka erzeugen⁴⁾, die sich am Ausschlag der gewählten Erfolgsorgane jener vegetativen Nerven bemessen ließ. Aenderung der Erregbarkeit, wie besonders Giftschutz, sind nicht

1) In Gemeinschaft mit Prof. Döllken im Physiologischen Institut der Universität Leipzig (zahlreiche, noch unveröffentlichte Versuche aus dem Jahre 1920. Einzelheiten sind der ausführlichen Publikation vorbehalten.)

2) Vgl. C. A. Kling, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 13, 1912, p. 43. Eine Mitteilung des einen von uns (Rosenberg) über die Erregbarkeit der Herznerven im Eiweißschock folgt in Kürze.

3) Wir erblicken in diesen Beobachtungen den Nachweis der Beeinflussung bzw. Aktivierung normaler Zellfunktionen, den W. Seiffert (Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 31, p. 873) den bisherigen Untersuchungen abspricht (er selbst findet nur an Leukozyten eine Verstärkung normaler Funktionen und lehnt daher die Weichardtsche Vorstellung einer allgemeinen Leistungssteigerung ab). Auch scheinen uns diese und die Giftschutzwirkungen der Proteinkörper den Bierschen Begriff der Heilentzündung (Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 6, p. 163) wesentlich einzuschränken.

4) Vgl. Starkenstein, Münch. med. Wochenschr., 1919, No. 8, p. 205.

unmittelbar nach der Injektion am deutlichsten, sondern bedürfen zu ihrer vollen Entfaltung einer gewissen Zeit; im vivisektorischen Experiment pflegt das Maximum spätestens in einer halben Stunde erreicht zu sein. Es liegt nahe, einen giftablenkenden Einfluß einzelner Milchbestandteile im Sinne einer direkten Bindung zu vermuten; dem widerspricht aber — neben dem zeitlichen Moment —, daß andere Stoffe ebenfalls, auch bei subkutaner Einverleibung, schützen können [Starkenstein¹), eigene Versuche²)]. Und selbst bei der Schutzwirkung durch ein chemisch-physikalisch eindeutiger definiertes Agens wie Lezithinemulsion mußte Leo³) auf vorwiegend physikalische Prozesse schließen.

Die Annahme spezialisierter Vorgänge befriedigt nicht angesichts der Verschiedenheit der parenteral wirksamen Körper und der Vielheit der Reaktionen, mit denen der Organismus ihre Einbringung beantwortet. Man wird daher zu der Vorstellung gedrängt, daß gleichartige oder doch ähnliche allgemeine Zustandsänderungen den einschlägigen Phänomenen zugrunde liegen, seien diese durch eine direkte Wirkung der betreffenden Pharmaka auf die Zellen oder durch den indirekten Einfluß eines primären Reaktionsvorganges des Organismus bedingt [selbstverständlich bleibt daneben die Möglichkeit eines spezielleren Mechanismus zwischen bestimmten Toxinen und parenteralen Therapeuticis⁴)].

Die Wichtigkeit kolloidchemischer Serumveränderungen in der Immunbiologie ist von Sachs⁵) schon seit Jahren betont worden; in letzter Zeit hat er auch eine Reihe von Erscheinungen der unspezifischen Therapie mit Proteinkörpern usw. unter diesem Gesichtspunkt betrachtet⁶), nachdem schon früher Luithlen⁷) sich gelegentlich in diesem Sinne ge-

1) Starkenstein, a. a. O.

2) Rosenberg, a. a. O.

3) H. Leo, Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 38, p. 1045.

4) Vgl. Storm van Leeuwen, W. and J. Zeijdner, Journ. of Pharmacol. a. exp. Therap., Vol. 17, 1921, p. 121 (zit. nach dem Congr. Centralbl. f. d. ges. inn. Med., Bd. 19, 1921, p. 327). Atropin wird durch Kaninchen-, nicht durch Katzen- und Menschenserum, Milch usw. gebunden und entgiftet.

5) H. Sachs, Kolloidzeitschr., Bd. 24, 1919, p. 113.

6) H. Sachs, Therap. Halbmonatsh., 1920, p. 379 u. 405.

7) Wien. klin. Wochenschr., 1913, No. 17, p. 653.

äußert hatte; neuerdings hat Seiffert¹⁾ die adsorbierende, diffusions- und dialysehemmende Wirkung der Deuteroalbumosen usw. als Sonderkomponente und den Eingriff ins kolloide Zellgefüge im allgemeinen hervorgehoben. Auch Weichardt²⁾ vermutet, besonders bei der krisenartigen, anaphylaktoiden Umstimmung des kranken Organismus, eine physikalische Milieuwandlung.

Neue Untersuchungen von Sachs und v. Oettingen über die Stabilität des Blutplasmas³⁾ veranlaßten uns zu prüfen, ob vielleicht eine primäre Erschütterung der kolloiden Struktur der zirkulierenden Körperflüssigkeit (wenigstens bei intravenöser Injektion) nachweisbar und als Ursache der weiteren Geschehnisse anzusprechen sei.

Die Methodik von Sachs und v. Oettingen besteht in der Fällung der labilsten, mit dem Fibrinogen vermutlich zu identifizierenden Eiweißfraktion des Zitratplasmas durch Alkohol, Kochsalz und Ammonsulfat, sowie durch kurzes Inaktivieren bei 55° C. Es ist anzunehmen, daß das Ergebnis dieser Reaktionen nicht nur von dem Dispersitätsgrad, sondern auch von der Quantität des betreffenden Plasmabestandteils abhängt, ein Umstand, den Sachs und v. Oettingen unseres Erachtens nicht genügend berücksichtigt haben. Denn die von ihnen gefundene vermehrte Fällbarkeit des Gravidenplasmas könnte auf dem erhöhten Fibrinogengehalt des Schwangerenbluts⁴⁾, die verminderte Fällbarkeit des Nabelschnurplasmas auf der Fibrinogenarmut des fötalen Blutes⁵⁾ beruhen. Demgegenüber glaubt v. Oettingen⁶⁾ neuerdings, die quantitativen Unterschiede der Fibrinogenfällung (auch bei anderen Bestimmungsverfahren) lediglich auf Dispersitätsveränderungen zurückführen zu sollen. Obwohl eine Widerlegung mit den heutigen Methoden im Einzelfall kaum mög-

1) W. Seiffert, l. c.

2) W. Weichardt, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 31, p. 872; Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 31, p. 885.

3) H. Sachs und K. v. Oettingen. Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 12, p. 351.

4) Vgl. u. a. Dienst, Arch. f. Gynäkol., Bd. 99, 1913, p. 24 (dasselbst Literatur); ebenda, Bd. 109, 1918, p. 669.

5) Siehe G. Linzenmeier, ebenda, Bd. 113, 1920, p. 608. Vgl. auch L. Fuhrmann und B. Kisch, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med., Bd. 24, 1921, p. 82.

6) K. v. Oettingen, Biochem. Zeitschr., Bd. 118, 1921, p. 67.

lich und die Bedeutung der Teilchengröße unbezweifelt ist, entbehrt diese einseitige Anschauung sowohl der Begründung wie der Wahrscheinlichkeit¹⁾. Betrachtet man mit Herzfeld und Klinger²⁾ das Fibrinogen als höchstmolekularen, niederdispersen Eiweißkörper des Blutes, der ersten Stufe beim Abbau des Organeiwisses entstammend, so ist die Möglichkeit einer Fibrinogenvermehrung bei Zunahme des Zellumsatzes oder -zerfalls gegeben, eine Anschauung, die auch Frisch und Starlinger³⁾ vertreten. Aber auch die ältere Lehre, die die Hauptquelle des Fibrinogens in die Leber verlegt⁴⁾, gestattet, (z. B.) die Funktionssteigerung der Leber in der Schwangerschaft als Argument für eine Fibrinogenvermehrung anzuführen⁵⁾ [Minderleistung der Leber beim Foetus?⁶⁾]. Nach Pick und Hashimoto⁷⁾ wird die vitale und postmortale Autolyse der Meerschweinchenleber nach Erstinjektion eines Anaphylaktogens stark erhöht, durch Reinjektion am sensibili-

1) In einer eben erschienenen Arbeit (Biochem. Zeitschr., Bd. 120, 1921, p. 105) nimmt Starlinger denselben Standpunkt ein und kündigt die Mitteilung von Versuchen an, in denen ein ausgesprochener Parallelismus zwischen Menge des Fibrinogens und Intensität der Flockungsreaktionen bestand. Aus der vorliegenden Veröffentlichung geht des weiteren hervor, daß sowohl eine teilweise Entfernung des Fibrinogens durch Adsorbentien als auch seine künstliche Stabilisierung zur Verminderung, ebensolche Labilisierung zur Vermehrung der Flockbarkeit führt.

2) Herzfeld und Klinger, Biochem. Zeitschr., Bd. 83, 1917, p. 42.

3) A. Frisch und W. Starlinger, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med., Bd. 24, 1921, p. 142.

4) Zusammenfassende Darstellung bei P. Junkersdorf, Pflügers Arch., Bd. 186, 1921, p. 254 (Literatur).

5) G. Schickele, Arch. f. Gynäk., Bd. 107, 1917, p. 207, lehnt Störungen der Leberfunktionen als zurzeit unbewiesen ab, vermutet aber eine größere Labilität. — Eine Hyperfunktion infolge der Notwendigkeit vermehrter Schlackenverarbeitung ist wohl kaum zu bezweifeln. Junkersdorf (l. c.) meint übrigens, daß die Fibrinogenbildung durch die Leber aus den ihr vom Darm her im Blut zugeführten Eiweißverdauungsprodukten erfolgt. Vgl. die eklampsiefördernde Wirkung der Eiweißnahrung (s. Ruge II, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 34, p. 1072) und die Fibrinogenüberschwemmung bei der Eklampsie (Dienst, l. c.).

6) Teilweise Verarbeitung seiner Stoffwechselschlacken durch den mütterlichen Organismus.

7) Hashimoto und Pick, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 76, 1914, p. 89; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 237.

sierten Tier gehemmt; entsprechend verläuft — nach Gerinnungs- und Fällungsmethoden — der Fibrinogenspiegel des Blutes, wie im folgenden dargelegt werden wird. Ferner besteht die theoretische Möglichkeit, daß außer dem Fibrinogen mehr oder weniger großen Molekülaggregats andere, ursprünglich höher disperse Stoffe (z. B. Globuline) durch Kondensation in den Bereich der Fällungsfraction übergehen. Diese Eventualität hält sich zwar im Rahmen einer physikalischen Zustandsänderung des Gesamtplasmas, führt aber doch zu einer Verschiebung zwischen den Einzelfractionen. Andererseits gibt eine veränderte Fällbarkeit des Fibrinogenanteils nicht nur im letztgenannten Falle und bei einer Zustandsänderung des Fibrinogens im engeren Sinne (wie sie v. Oettingen in der Hauptsache postuliert) eine Auskunft über Variationen im kolloiden Milieu, sondern auch unter der Voraussetzung quantitativer Fibrinogenschwankungen ist Grad bzw. Wechsel der Fällbarkeit ein Zeichen der jeweiligen Stabilität oder physikalisch-chemischer Wandlungen des fein abgestimmten Kolloidsystems des Organismus. [Daraufhin deutet eine Anzahl später abzuhandelnder Tatsachen¹⁾.]

Demgemäß sprechen wir bei der Darstellung unserer Versuche von einer Fibrinogenfraction, die die von unseren Fällungsmitteln betroffenen Anteile des Plasmas umfaßt, und von einer zu- oder abnehmenden Fällbarkeit, ohne zunächst eine reine Qualitäts- oder Quantitätsänderung der der Koagulation anheimfallenden Stoffe zu behaupten. Die Forschungen früherer Jahre setzen wohl ausnahmslos Mengenunterschiede voraus; wir berichten darüber nachstehend im Sinne der Autoren.

II.

Schon vor Jahren sind Schwankungen des Fibrinogengehalts des Blutes nach parenteraler Proteinkörperzufuhr beobachtet worden. Da uns der zeitliche Verlauf dieser Aenderungen wichtig erscheint, geben wir eine Uebersicht der bisherigen Befunde:

Moll²⁾ fand 3 bis 6 Stunden (früher nicht untersucht!) nach intra-

1) Vgl. auch H. Schade, Die physikalische Chemie in der inneren Medizin. Dresden u. Leipzig 1921, p. 188 ff.

2) L. Moll, Wien. klin. Wochenschr., 1903, No. 44, p. 1215. Cf. besonders die Tabellen! Ders., Hofmeisters Beitr., Bd. 4, p. 563 u. 578.

venöser Gelatineinjektion Hebung des Fibrinogenspiegels mit häufigstem Höhepunkt nach etwa 24 Stunden; $\frac{1}{4}$ Stunde nach intravenöser Peptoninjektion tiefen Absturz, dem nach 24 Stunden mäßige Vermehrung folgte. Von den Velden¹⁾ beobachtete Vermehrung, die etwa 6 Stunden nach subkutaner Eiweißinjektion begann und tagelang anhielt. J. Löwy²⁾ bestätigte diese Resultate, bemerkte allerdings schon 3 Stunden nach subkutaner Injektion Anstieg (bei Aderlaß manchmal keine, zuweilen aber schon nach 1 Stunde Zunahme; in diesem Falle denkt er an Einschwemmung präformierter fibrinogenartiger Substanzen; anscheinend hält er diesen Mechanismus auch bei Proteininjektion für möglich, doch ist die dabei von ihm beobachtete Blutverdünnung, soweit überhaupt vorhanden, nur gering). Nach Modrakowsky und Orator³⁾ setzt in der dritten Stunde nach subkutaner Injektion eine Steigerung ein, die nach 4 bis 6 Stunden den Gipfel erreicht und mehr oder weniger rasch absinkt (zeitigere Befunde sind aus der Arbeit nicht ersichtlich); bei Reinjektion nach mindestens 4-tägigem Intervall erfolgte ein Absinken (als nicht absolut, aber doch gruppenspezifische Reaktion). Togawa⁴⁾ sah meist direkt oder seltener 15 Minuten nach intravenöser Gabe eine Vermehrung, die höchstens bis 30 Minuten anhielt (das Fibrinferment nahm nicht zu); auf 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung zunächst (15 Minuten p. i.) vorübergehende Verminderung.

Kaznelson und Lorant⁵⁾ fanden nach Röntgenbestrahlung, deren Fernwirkung sie als allgemeine Leistungssteigerung, gleichartig der nach Proteinkörpereinspritzung, betrachten, eine Zunahme des Fibrinogengehalts, deren Höhepunkt meist am Nachmittag des Bestrahlungstages lag und der gelegentlich eine negative Phase vorausging.

Nach Frisch und Starlinger⁶⁾ zeigt das Fibrinogen auf Tuberkulininjektion (0,02—0,2 mg) bei Lungentuberkulösen meist Zunahme, gelegentlich aber auch Abnahme oder Gleichbleiben des Fibrinogengehalts — gleichgültig ob Erst- oder Reinjektion; Zunahme erfolgte schon im Verlauf der ersten Stunden p. i. (in der Tabelle erste Untersuchung ca. 3 Stunden p. i.) und verlor sich meist am Abend des ersten Tages; 5 ccm Milch oder Pferdeserum intraglutäal ergaben dieselben Resultate. (Gesamteiweißgehalt des Serums zeigte bei allen genannten Maßnahmen keine gesetzmäßige Aenderung.) Den Befunden und Ausführungen von Frisch und Starlinger ist entgegenzuhalten, daß bei Lungentuberkulösen zweifellos be-

1) von den Velden, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 114, 1914, p. 298.

2) J. Löwy, Centralbl. f. inn. Med., 1916, No. 48, p. 833.

3) Modrakowsky und Orator, Wien. klin. Wochenschr., 1917, No. 35, p. 1091.

4) T. Togawa, Biochem. Zeitschr., Bd. 109, 1920, p. 25.

5) Kaznelson und Lorant, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 5, p. 132.

6) Frisch und Starlinger, l. c.

sonders labile Reaktionsverhältnisse¹⁾ vorliegen, die sich schon in den spontanen Tagesschwankungen kundtun, die nach ihrer eigenen Angabe beim Gesunden fehlen.

Entsprechend unserer Fragestellung haben wir in kurzen Abständen nach der Injektion auf Veränderungen gefahndet, auf deren frühzeitiges Vorhandensein auch die mit der empfindlichen Wohlgemuthschen Methode ermittelten Daten Togawas (l. c.) hinweisen.

III. (Fibrinogenfällung).

Nachdem wir einige Vorversuche nach den Vorschriften von Sachs und v. Oettingen angestellt und im Tierversuch eine Aenderung der Fällbarkeit nach intravenöser Proteingabe erzielt hatten, schlugen wir folgendes Verfahren in der Mehrzahl der Fälle ein:

Dem nüchternen, ruhig im Bett liegenden Patienten wurde mit der Spritze, die 0,2 oder 0,5 ccm 4-proz. Natriumzitratlösung enthielt, nach möglichst kurzer Stauung Blut aus der Armvene entnommen — bei Kindern und jüngeren Personen 1,8 ccm, bei Erwachsenen 4,5 ccm. Auf genaue Innehaltung der Mengenverhältnisse (1 Teil Zitratlösung auf 9 Teile Blut) wurde streng geachtet. Wenn möglich, folgte unmittelbar durch dieselbe Kanüle die Injektion der zu prüfenden Lösung und, nachdem die Kanüle durch Ansaugen und Zurückspritzen sowie Abtropfen geringer Blutmengen von der anhaftenden Injektionsflüssigkeit befreit war, etwa 3 Minuten nach der Einspritzung die zweite Blutentnahme. Manchmal (wenn sich Gerinnungserscheinungen zeigten) wurde zur zweiten Blutentnahme frisch punktiert (die Resultate zeigten keinen Unterschied). Die weiteren Blutproben wurden etwa $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde post injectionem gewonnen²⁾ — und zwar wurde, falls an-

1) Von Fall zu Fall und beim Individuum selbst wechselnde Allergie. Unter diesen Umständen ist eventuell die Dosierung entscheidend. Vgl. die Fibrinogensteigerung nach kleinen Peptonmengen am Menschen (Modrakowsky und Orator), Fibrinogenabsturz (und Gerinnungshemmung) nach größeren Peptongaben beim Tier. (Moll; Popielski, zit. nach Fähræus, Biochem. Zeitschr., Bd. 89, p. 355.) Beziehungen zwischen Peptonschock und anaphylaktischem Schock; bei letzterem je nach Größe der reinjizierten Dosis Fieber oder Temperaturabfall (Friedberger).

2) Die genauen Zeiten sind in den Tabellen angegeben.

gängig, jedesmal eine vorher unbenutzte Vene gewählt, um die Fehlerquelle intravasaler Blutveränderungen in der Nähe der früheren Stichstelle zu vermeiden. Aus äußeren Gründen haben wir von der weiteren Verfolgung der Plasmaeigenschaften in späteren Stunden und am nächsten Tage vorläufig abgesehen.

Nach dem Absetzen der roten Blutkörper wurden die einzelnen Portionen annähernd gleich lange zentrifugiert, die Plasmen abpipettiert und sogleich verarbeitet.

Da Sachs und v. Oettingen die Fällung mit Ammonsulfat als weniger deutlich bezeichnen, beim Inaktivieren zuweilen Gerinnung in allen Portionen eine sichere Unterscheidung der Flockung vereitelte, haben wir uns auf die Verwendung von Kochsalz und Alkohol nach den Angaben von Sachs und v. Oettingen beschränkt.

Alkoholfällung: 0,2 ccm Zitratplasma + 1 ccm 6-fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Alkohols.

Kochsalzfällung: 0,5 ccm Zitratplasma + 0,5 ccm gesättigter Kochsalzlösung.

Während die Kochsalzniederschläge meist rasch auftreten und mit der Zeit die Unterschiede häufig undeutlicher werden, zuweilen auch die Flocken sich wieder auflösen, erschienen die Alkoholpräzipitate manchmal erst nach längerem Abwarten, und die Differenzen vergrößerten sich oft — wofern nicht allmählich alle Plasmen eines Versuchs gerannen. Doch zeigten sich auch im Auftreten der Gerinnung selbst verwertbare Unterschiede.

Voraussetzung für eine sichere Bewertung der Fällungsdifferenzen ist das Ausbleiben jeglicher Gerinnung im Plasma vor Anstellung der Reaktionen. Da wir mehrfach bei Mischung eines Teils einer 2-proz. Natriumzitratlösung mit 9 Teilen Blut spontane Gerinnungen der Plasmen noch während der Verarbeitung beobachteten, besonders nach Proteinkörperinjektionen, so gingen wir (wie erwähnt) zur Verwendung einer 4-proz. Zitratlösung über, mit der wir nur ausnahmsweise Gerinnselbildung erhielten¹⁾. Wir haben aus diesem

1) In einigen Versuchen (36, 37, 38, 39, 40, 41) stammte das Plasma aus einer Mischung von 1 Teil 1,1-proz. Natriumzitratlösung (mit 0,7 Proz.

Grunde die äußere Beschaffenheit der Plasmen in den Tabellen gesondert aufgeführt. Die vereinzelt Fälle, in denen das Ergebnis der Fällungen von der Mehrzahl der gleichen Versuche abweicht, erklären sich wohl durchgehend auf diese Weise.

Schließlich ist zu erwähnen, daß nicht immer die Unterschiede der einzelnen Plasmen mit beiden Fällungsmitteln gleich stark ausgeprägt sind; daher wird gelegentlich der Eindruck erweckt, daß die Gruppenreaktion beider sich nur in einem mittleren Bezirk deckt. Wie wir den Ausfall der Reaktionen in den Tabellen bewertet haben, ergibt die beigefügte Flockungsskala.

Die klinischen Erscheinungen, die der Injektion folgten, sind in den Tabellen vermerkt; desgleichen ist das Verhalten der Wassermannschen Reaktion im Blut berücksichtigt. Die Beobachtungsreihe setzt sich zusammen aus Kontrollen ohne Einspritzungen und aus Versuchen mit Aqua destillata, 10-proz. NaCl-Lösung, 0,5 und 2-proz. Trypaflavinlösung, Ophthalmosan und Caseosan¹⁾.

IV.

Leerversuche.

Zunächst mußte festgestellt werden, ob die Plasmastabilität innerhalb der Versuchsdauer bei nüchternen, liegenden Personen genügend konstant ist, Vergleiche zwischen dem Verhalten vor und nach bestimmten Eingriffen zuzulassen. In 3 Fällen ergaben sich gar keine (einmal auch nach 24 Stunden) oder sehr geringfügige Unterschiede. In einem Falle (7), wo der Patient versehentlich einige Zeit vor der ersten Blutentnahme gefrühstückt hatte, war der Niederschlag in der zweiten, 1 Stunde später entnommenen Probe auffallend stärker. Wir haben den Einfluß der Nahrungsaufnahme bisher nicht weiter untersucht. Doch scheint auch die vereinzelt Beobachtung bemerkenswert im Zusammenhang mit noch

NaCl) mit 3 Teilen Blut und wurde unzentrifugiert, gelegentlich (Vers. 34) auch nach Verdünnung mit gleichen Teilen physiologischer Kochsalzlösung, gefällt.

1) Zur Raumerparnis beschränken wir uns auf die Zusammenstellung von Beispielen. S. Tabelle I (p. 48).

zu beschreibenden Befunden über Senkungsgeschwindigkeitsveränderungen, da Büscher¹⁾ ca. 2 Stunden post coenam meist eine Beschleunigung des Absetzens der roten Blutkörperchen sah²⁾. Uebrigens findet sich in Molls³⁾ Tabellen bei Hunden 4 Stunden nach Fleischfütterung eine Zunahme des Fibrinogengehalts bis über 100 Proz. (während Moll im Text erklärt, eine Vermehrung nicht beobachtet zu haben).

Aqua destillata.

Nach intravenöser Gabe von 2 ccm Wasser zeigte sich keine Schwankung der Fällbarkeit. Auf 10 ccm beobachteten wir in einem Falle (24) nach einigen Minuten eine geringe Zunahme, nach $\frac{1}{2}$ Stunde eine ebensolche Abnahme der Stabilität, die nach 1 Stunde auf den Ausgangspunkt zurückgekehrt war. Die Ausschläge waren nach beiden Seiten nur klein, doch war der Gegensatz zwischen 2. und 3. Portion mit beiden Fällungsmitteln deutlich. Größere Mengen einer hypotonischen Lösung werden wahrscheinlich durch Hämolyse wirksame Dosen von Eiweißkörpern freimachen oder unmittelbar durch Aenderung des kolloiden Milieus Einfluß ausüben können⁴⁾. Wir sahen keine klinischen Reaktionen — auch nicht bei der Pat. Z. (hartnäckige Polyarthrit. acuta), die auch Trypaflavin symptomlos ertrug (19), dagegen auf Caseosan heftige Allgemein- und Herderscheinungen aufwies (17), mit sehr verstärkter Flockung nach beiden Medikamenten (s. unten).

Chlornatrium.

Nach 10 ccm 10-proz. NaCl-Lösung scheint die Fällbarkeit vorübergehend etwas abzunehmen. Bei spontaner Sedimentierung der die Plasmen liefernden Zitratblutproben war das Blutkörpervolum bei Versuch 36 nach 2 Stunden in der 3. Portion sogar etwas größer, in der 4. etwas geringer als in der 1.; da aber Fibrinogengehalt und Senkungsgeschwindig-

1) J. Büscher, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 14, p. 323.

2) Neuerdings berichtet auch Leendertz (Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 137, 1921, p. 234) über Unterschiede der Senkungsgeschwindigkeit auf der Höhe der Verdauung nach Mittagessen.

3) Moll, l. c.

4) Vgl. Ilkewitsch, Centralbl. f. Gynäkol., 1913, p. 1399.

keit parallel zu gehen pflegen (s. unten), so erlaubt diese Beobachtung kein Urteil über etwaige Konzentrationsverschiebungen. In Versuch 37 zeigte nach 12 Stunden die 3. Portion ein wesentlich kleineres Blutkörpervolum als die übrigen Röhrrchen, doch wirkten wahrscheinlich Gerinnungserscheinungen (Retraktion) mit, die wohl auch dem zugehörigen Plasma einen Teil seines Fibrinogens entzogen haben. Wie weit also ein Flüssigkeitseinstrom ins Blut an der Herabsetzung der Fällbarkeit beteiligt ist, und welche Beziehungen zur oben erwähnten initialen Fibrinogenverminderung [nach Röntgenbestrahlung¹⁾] bestehen, müssen wir unentschieden lassen. Salzzusatz zum Plasma wirkt *in vitro* stabilisierend auf das Fibrinogen²⁾; doch ist die *in vivo* stattfindende Zunahme der Salzkonzentration nur gering und kurz dauernd; dagegen könnte ein späterer Zufluß von niederen Eiweißspaltstücken aus den Geweben die Stabilität erhöhen³⁾.

Trypaflavin.

10 (in Vers. 41 12) ccm 0,5-proz. Lösung (0,05 bzw. 0,06 g) des Farbstoffs verursachten in 4 Versuchen eine meist sehr wesentliche Vermehrung des Niederschlags, und zwar am stärksten in den Portionen, die am dunkelsten tingiert waren, d. h. mit abnehmender Intensität von der 2. zur 4. Probe. Unmittelbar nach Injektion von 2 ccm 2-proz. Lösung (= 0,04 Substanz) fanden wir keine deutliche Verfärbung und auch keine sichere Steigerung der Koagulierbarkeit.

Möglicherweise geht das Trypaflavin mit irgendwelchen Plasmabestandteilen physikochemische Verbindungen ein, die labiler gegen Fällungsmittel sind als die nativen Substanzen. Wie nämlich Raehlmann⁴⁾ nachwies, entsteht bei Einwirkung

1) Szenes (Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 27, p. 786) findet nach intravenöser Injektion hypertonscher NaCl-Lösung eine initiale Gerinnungsverzögerung (desgl. nach Röntgenbestrahlung).

2) Eigene Versuche. Ebenso Starlinger, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 123. 1921, p. 215 (Nachtrag bei der Korr.).

3) Vgl. W. Starlinger, *l. c.*

4) E. Raehlmann, *Arch. f. d. ges. Physiol.*, Bd. 112, 1906. p. 128 (besonders p. 148—155 und 164—166). Vgl. ferner J. Traube und F. Köhler, *Internat. Zeitschr. f. physik.-chem. Biol.*, Bd. 2, 1915, p. 197; R. Labes, *Arch. f. d. ges. Physiol.*, Bd. 186, 1921, p. 98. Betreffs

von zahlreichen Farbstofflösungen auf Eiweißlösung ultramikroskopisch ein flockenartiges Zusammentreten der Farbstoffsubmikronen mit Eiweißteilchen, wobei die z. B. im Serumalbumin vorhandenen Eiweißkörper verschiedene Affinität zu den Farbstoffpartikeln aufweisen. Bei Zusatz von Trypaflavin zu Zitratblut oder Zitratplasma in vitro in einer Menge, die etwa der auf intravenöse Injektion im Blut vorhandenen Farbstoffkonzentration entsprach (0,01—0,02 mg auf 1 ccm Blut), wurde die Flockbarkeit und Gelatinierbarkeit durch Fällungsmittel erheblich vermehrt. Auch in trypaflavinhaltigen Seren erfolgte auf Milchsäurezusatz eine verstärkte Trübung (s. unten).

Es scheint nicht ausgeschlossen, daß bluteigenes Eiweiß auf diese Art in ein „denaturiertes“, orts- oder mindestens zustandsfremdes (Abderhalden) Produkt übergeführt und der Farbstoff nicht oder nicht nur als Desinficiens, sondern (auch) auf indirekte („unspezifische“) Weise wirksam wird¹⁾. Es würde eine ähnliche Komplexbildung im Organismus stattfinden, wie sie Böttner²⁾ für das metallische und das organische (schützende) Kolloid des Heydenischen Kollargols in vitro annimmt³⁾, da das Silbereiweiß als einheitliche Substanz in vivo funktioniere. Für eine Eiweiß-Farbstoffbindung extra corpus und für ein gewissermaßen ungeteiltes Wirken dieses Komplexes auf den lebenden Orga-

weiterer theoretischer Möglichkeiten für eine Dispersitätsvergrößerung unter diesen Umständen verweisen wir auf R. Zsigmondy, Kolloidchemie, 3. Aufl., 1920, Abschnitt über Farbstoffe, p. 314 ff. Für eine gewisse (adsorptive?) Bindung an Zellbestandteile spricht eine die Trypaflavinbehandlung einige Zeit überdauernde Braunfärbung der Haut, gegen eine Ausfällung des Farbstoffs seine relativ rasche Ausscheidung. Nach Mitteilung der Fabrik Leopold Cassella & Co. ist Trypaflavin in Lösung zum Teil kolloidal gelöst. S. auch A. Abelman und R. E. Liesegang, Dermat. Wochenschrift, Bd. 67, 1918.

1) Vgl. die Umwandlung des homologen Körpereiwisses durch Jodeinwirkung in „heterologes“ sensibilisierendes Jodeiweiß (cf. M. Loewit, Infektion und Immunität. Berlin und Wien, 1921, p. 445). Diese Annahmen brauchen übrigens nicht auf die Blutflüssigkeit beschränkt zu werden; an Zellen können sich verwandte Erscheinungen abspielen.

2) A. Böttner, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 28, p. 876.

3) Beim Zusammenbringen spielen sich nach Mitteilung der Fabrik an beiden Komponenten Veränderungen ab.

Tabelle I.

| No. u. Datum | Name | Alter | Krankheit | Plasma | | | Alkohol | | | Kochsalz | | | Bemerkungen |
|------------------------|-------------------|-------|--|--|-------|-------|-----------|-------|------|----------|-----------|-------|---|
| | | | | a. i. | p. i. | | a. i. | p. i. | | a. i. | p. i. | | |
| 15 13. VI. 1921 | Eise Po. | 32 | Enteritis ac. (Rekon- valeszenz) | 0' | 20' | 50' | 0' | 20' | 50' | 0' | 20' | 50' | Kontrolle |
| | | | | etw. trüb Klar Weitere Blutentnahme nach 24 Stunden klar | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (±) | (+) | (±) | |
| 21 29. VI. 1921 | Wi. ♀ | 24 | Hysterie, WaR. im Blut und Liquor — | 2' | 32' | 62' | 2' | 32' | 62' | 2' | 32' | 62' | Aq. dest. 2 cem in- traven., keine klin. Reaktion |
| | | | | schwach opal | + | + | + | + | + | (+) | (+) | (+) | |
| 27 13. VII. 1921 | Ha. ♀ | 31 | Cystitis acuta (kulturell steril. Ge —). WaR. im Blut — (Re- konvaleszenz) | 5' | 35' | 65' | 5' | 35' | 65' | 5' | 35' | 65' | Kochsalz 10 Proz., 10 cem intravenös. Keine klin. Reak- tion |
| | | | | stark opal schwach mäßig opal | ± | ± | 0 bis (±) | ± | ± | ± | 0 bis (±) | ± | |
| 19 23. VI. 1921 | Gertrud 16 Za. | 16 | Polyarthrit. rheum. acuta. Fieberfrei. WaR. i. Blut — | 2' | 61' | 81' | 2' | 61' | 81' | 2' | 61' | 81' | Trypafavin 0,5 Proz., 10 cem intravenös. Keine klin. Reak- tion |
| | | | | mäßig trüb deutl. schwach Spur gelbgefärbt | + | +++ | ++ | (+++) | + | +++ | ++ | (+++) | |
| 17 16. VI. 1921 | Gertrud 16 Za. | 16 | Siehe No. 19. Subfebril. morq. 36,8° C. | 3' | 70' | 125' | 3' | 70' | 125' | 3' | 70' | 125' | Casocan, 2 cem intra- venös. Allgemein- u. Herdrektion (nach 50' stark Frost, nach 80' Temp. 39,5° C, nach 3 St. 37,3° C). |
| | | | | mäßig leicht Getrübt | (+++) | ++ | +++ | +++ | +++ | + | (+) | ++ | |
| 13 9. VI. 1921 | Hi. ♀ | 23 | Laves II (latens). WaR. im Blut +++ | 2' | 30' | 70' | 2' | 30' | 70' | 2' | 30' | 70' | Ophthalmosan 2 cem intravenös. Mäßige Allgemeinreaktion (nach 90' Temp.- anstieg auf 38,5° C, b. z. 10. VI. anhalt.) |
| | | | | opak | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | + | (+) | + | |
| | | | | | spät | rasch | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | ausflockend |

Hans Rosenberg und Lucie Adelsberger,

27

nismus sprechen auch die Beobachtungen Seifferts¹⁾. Eine Entstehung von Farbstoff-Eiweißmizellen in vivo würde die durch perorale Gabe von Yatren und Methylenblau ausgelösten Reaktionen²⁾ erklären. Wir teilen daher die Anschauung Stephans³⁾, daß die direkte antiseptische Wirkung des Trypaflavins in den Hintergrund trete gegenüber seinem stimulierenden Einfluß auf biologische Funktionen — nur setzen wir als Zwischenglied die Entstehung einer Substanz sogenannter unspezifischer Wirksamkeit im Organismus. Daß gerade solchen aus verschiedenartigen Komponenten aufgebauten Komplexen eine gewisse spezifische Fähigkeit innewohnen kann, darf nicht verwundern; so bleibt z. B. die spezielle katalytische Eigenschaft der Metalle auch in Eiweißverbindung erhalten [Schade⁴⁾].

Proteinkörper.

Im Gegensatz zum Trypaflavin, das kurz nach der intravenösen Injektion eine erhöhte Flockungsbereitschaft des Plasmas hervorruft, die im Laufe der nächsten Stunde allmählich abnimmt, erzeugen Caseosan und Ophthalmosan fast stets erst nach einiger Zeit eine deutlich vermehrte Fällbarkeit. Nur ausnahmsweise war das Plasma schon 3 Minuten p. i. etwa fällbarer. Dagegen war nach 30 Minuten regelmäßig eine weit stärkere Koagulation zu erzielen als vor dem Eingriff. Wir haben zur Beurteilung des Flockungsgrades meist unbefangene Beobachter zugezogen. Fast nie bestand ein Zweifel über die Verstärkung der Reaktion, die mehrfach bis zur massigen groben Flockenbildung führte. Zuweilen war diese Plasmaveränderung nach etwa 1 Stunde abgeklungen, manchmal war sie aber zu dieser Zeit noch ausgeprägter und in einem Falle (s. Versuch 17) noch nach 2 Stunden vorhanden (jedoch im Rückgang begriffen). Hier hatten allerdings eine halbe Stunde nach der Injektion Allgemeinbeschwerden begonnen, denen 49 Minuten p. i. ein heftiger Schüttelfrost

1) W. Seiffert, l. c.

2) A. Prinz, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 38, p. 1215.

3) R. Stephan, Med. Klin., 1921, No. 17, p. 492.

4) H. Schade, Die Bedeutung der Katalyse für die Medizin. Leipzig 1908, p. 70.

folgte; bei der 3. Blutentnahme (70 Minuten p. i.) bestand noch etwas Frost und quälendes Kopfweh; bald darauf betrug die Temperatur $39,5^{\circ}\text{C}$, 4 Stunden später war sie auf $37,3^{\circ}\text{C}$ abgesunken (unter Verringerung der Schmerzen am Krankheitsherd). In den übrigen Fällen war entweder eine mäßige fieberhafte oder gar keine klinische Reaktion eingetreten. Meist hatte das Fieber erst nach Beendigung der Blutentnahmen höhere Grade erreicht. Wenn auch die Koagulationstendenz bei schweren Allgemeinerscheinungen besonders ausgesprochen war, so sind diese doch keineswegs die notwendige Begleiterscheinung einer erhöhten Flockbarkeit, die auch bei klinisch gesunden und reaktionslosen Personen nach intravenöser Proteingabe sich entwickelt¹⁾. Ueber die Abhängigkeit der ursprünglichen Fällbarkeit vom Allgemeinzustande können wir keine sicheren Angaben machen, da wir möglichst in Rekonvaleszenz befindliche oder jedenfalls nicht schwerkranke und fieberlose oder nur wenig fiebernde Patienten untersucht haben. Zum Verhalten der Wassermannschen Reaktion im Blut scheinen direkte Beziehungen nicht zu bestehen.

In vitro wird durch die benutzten Milchpräparate keine erhöhte Fällbarkeit hervorgerufen, auch geben sie allein in entsprechender Verdünnung keinen Niederschlag. Eine Destabilisierung des Plasmas durch Zusatz grobdispenser, hochmolekularer Eiweißkörper ist durchaus möglich (vgl. Starlinger, l. c.); die von uns zur Kontrolle in vitro verwendeten, der Konzentration im Lebenden angepaßten Proteinkörpermengen waren vermutlich zur nachweisbaren Beeinflussung zu gering; bei Zusatz größerer Mengen (1 Tropfen Caseosan zu 7,5 ccm Blut plus 2,5 ccm 1,1-proz. Zitratlösung) wurde die Flockung etwas vermehrt.

V.

Anaphylaxie.

Nachdem zwei Tierversuche (an Kaninchen) ergeben hatten, daß durch intravenöse Proteinkörperinjektion das Plasma die-

1) Auch Modrakowsky und Orator (l. c.) fanden keine deutliche Beziehung der allgemeinen Reaktionssymptome nach Peptoninjektion zu den Aenderungen des Fibrinogenspiegels; ebenso Frisch und Starlinger (l. c.)

selbe Veränderung erfährt, wie sie soeben für den Menschen beschrieben wurde, haben wir das Verhalten der Fibrinogenfraktion nach Reinjektion bei sensibilisierten Kaninchen geprüft. Wir bedienten uns hierzu ebenfalls der Milcheiweißkörper, von deren anaphylaktogenen Eigenschaften der eine von uns (Rosenberg) im Blutdruckversuch, der beim Kaninchen den sichersten Aufschluß über den Eintritt des anaphylaktischen Schocks gibt¹⁾, sich schon früher mehrfach überzeugt hatte²⁾. Diese Erfahrungen wurden neuerdings von Gildemeister und Seiffert³⁾ durch Beobachtungen am Meerschweinchen bestätigt.

Die Verminderung der Gerinnbarkeit des Blutes ist ein längst bekanntes Symptom des anaphylaktischen Schocks, wenn auch über ihren Mechanismus bisher eine einheitliche Auffassung nicht zustande gekommen ist⁴⁾. Eine anfängliche Zunahme der Gerinnbarkeit als Minimalsymptom des Schocks zu betrachten, lehnt Loewit ab, da diese schon nach erstmaliger parenteraler Einverleibung von Eiweißstoffen eintrete. Diese vielfach bestätigte Feststellung von den Veldens⁵⁾ steht im Einklang mit der beschriebenen Fibrinogenvermehrung (wenn auch kein vollständiger Parallelismus zur Gerinnungszeit besteht, die bekanntlich noch von anderen Faktoren abhängt). Auf der Höhe des Schocks hat Sirenskij⁶⁾ eine Verringerung des Fibrinogengehalts des Blutes gesehen. Bei Reinjektion nach mindestens 4-tägigem Intervall fanden Modrakowsky und Orator⁷⁾ einen akuten Fibrinogensturz.

Zur Methodik ist zu bemerken, daß wir jedesmal 1,8 ccm Blut (plus 0,2 ccm 4-proz. Natrium-Zitratlösung) durch Herz-

1) Siehe Loewit, l. c., p. 497 ff.

2) Vgl. Anm. 1 und 2 auf p. 36.

3) E. Gildemeister und E. Seiffert, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 24, p. 629. Sonstige Literatur siehe bei Weichardt, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 31, p. 872.

4) Vgl. Loewit, l. c., p. 508 ff.

5) von den Velden, l. c.

6) Sirenskij, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912, p. 328.

7) Modrakowsky und Orator, l. c. Die Erscheinung war, wie bereits erwähnt, nicht streng auf das Anaphylaktogen beschränkt, jedoch halbspezifisch und wurde von den Autoren als Zeichen der Eiweißüberempfindlichkeit gedeutet.

punktion entnahmen. Bei mehrfach in relativ kurzen Abständen wiederholter Herzpunktion ließ sich trotz Anwendung feiner Kanülen eine Blutung in den Herzbeutel und seine Umgebung meist nicht vermeiden. Doch kommt diesem Ereignis wohl nur die Bedeutung eines unseren Resultaten entgegengerichteten Effekts zu, da die Blutung sowohl direkt als auch nach Art einer Proteinkörperwirkung¹⁾ — die in diesem Falle nicht von der anaphyloktogenen Substanz ausginge — Fibrinogenvermehrung herbeiführen könnte²⁾.

Wir verfügen nur über 3 Versuche, die aber sämtlich einheitlich ausgefallen sind: auf Reinjektion nach Ablauf der Inkubation entstand keine oder nur eine minimale Zunahme der Fällbarkeit des Plasmas. Eine Abnahme der Fällbarkeit war nicht zu konstatieren, da das normale Kaninchenplasma bei der angewandten Methode keine oder nur spurweise Trübung aufwies.

Ein Tier (Versuch 18), das vor Ablauf der Inkubation reinjiziert wurde, reagierte nach 20 Minuten mit deutlicher, nach 45 Minuten mit starker Steigerung der Fällbarkeit. Da die äußeren Erscheinungen des Schocks bei den anaphylaktischen Tieren nur gering waren, und auch der Sektionsbefund — wie häufig beim Kaninchen — nicht unbedingt beweisend schien, wurde an demselben Tier einen Monat später die Reinjektion bei gleichzeitiger Blutdruckschreibung vorgenommen (Versuch 29). Unglücklicherweise ereignete sich bei der ersten Herzpunktion ein kurzer Herzstillstand, der zum Einlaufen von etwas Magnesiumsulfatlösung in den Kreislauf führte (selbstverständlich wurde nach leidlicher Erholung des Tieres vor der Reinjektion eine weitere „normale“ Blutprobe aspiriert). Daher können wir, obwohl die Reinjektion eine vorübergehende Drucksenkung um etwa 30 Proz. veranlaßte, das Ergebnis des Versuchs: Ausbleiben der Stabilitätsver-

1) Siehe Löwy, Centralbl. f. inn. Med., 1916, No. 48, p. 833; Luithlen, Wien. klin. Wochenschr., 1913, No. 45, p. 1836.

2) Da der gesamte Blutentzug durch die Punktionen selbst etwa 7–8 Proz. der Blutmenge eines Tieres von ca. 1500 g betrug, so trifft dieser Einwand das ganze Verfahren (besonders bei der Untersuchung der Folgen der Erstinjektion — diese sind übrigens auch mit Venenpunktion bei einem schwereren Tier geprüft worden).

minderung 20 Minuten p. i. — nicht als unbedingt beweisend ansehen.

Trotzdem scheint uns das unterschiedliche Verhalten der Plasmafällbarkeit bei Reinjektion nach der Inkubationsfrist für die abgeänderte Reagibilität des sensibilisierten Tieres kennzeichnend. Im Hinblick auf die geschilderten Befunde von Sirenskij sowie von Modrakowsky und Orator darf man sogar auf eine Verminderung des durch Fällungs- und Gerinnungsmethoden nachweisbaren Fibrinogenanteils schließen.

Auch hier kann es sich um qualitative oder quantitative oder um beide Veränderungen der Fibrinogenfraktion handeln. Mit anderen Worten: entweder liegt eine echte Stabilitätsänderung der unverminderten Fibrinogenmenge vor. In Anwendung der Anschauungen von Herzfeld und Klinger¹⁾ sowie von Starlinger²⁾ auf die Friedbergersche Lehre ließe sich im Schock eine Ueberschwemmung mit hochdispersen, hydrophilen Eiweißspaltlingen vermuten, die sich auf die Oberfläche der Fibrinogenteilchen heften, deren Löslichkeit erhöhen und auf diese Weise die niederdispersen Phasen vor der Ausfällung schützen³⁾. Oder die Fibrinogenkonzentration im Plasma ist vermindert. Während für eine vermehrte Fibrinogenzerstörung im Schock bisher kein experimenteller Anhalt besteht, kommt eher eine Ausflockung innerhalb der Gefäßbahn in Frage⁴⁾;

1) Herzfeld und Klinger, l. c.

2) W. Starlinger, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 114, 1921, p. 129; Zweite Mitteilung, ebenda, Bd. 122, 1921, p. 105.

3) Derartige Gedankengänge sind vielleicht geeignet, zwischen den physikalischen und chemischen Theorien des anaphylaktischen Schocks zu vermitteln. Man könnte z. B. annehmen, daß ins Serum eingesäte Mikroben der Oberfläche der grobdispersen Globuline die löslichkeitsvermittelnden Spaltlinge entziehen und auf diese Art eine Trübung des Serums hervorrufen, die also mit der Anaphylatoxinbildung nicht unmittelbar zusammenhängt. Vgl. die Kontroverse Dolds mit Friedberger und Putter in dieser Zeitschrift (s. auch Loewit, l. c., p. 509 ff.).

4) Cf. Loewit, l. c. p. 509. Ferner: W. Kopazewski, *Compt. rend. de l'acad. des sciences*, T. 172, 1921, p. 337; ebenda, T. 172, 1921, p. 936; A. Lumière, ebenda, T. 172, 1921, p. 544 u. 1071; E. Zunz et van Geertruyden-Bernard, *Compt. rend. de la soc. de Biol.*, T. 84, 1921, p. 287. Sämtlich zitiert nach dem *Kongresscentralbl. f. d. ges. inn. Med.*, Bd. 18, 1921, p. 249 f., 552; Bd. 19, 1921, p. 338 f. — Daß übrigens die Erhöhung der Oberflächenspannung für den anaphylaktischen

ferner wäre an eine verminderte Produktion durch die Leber, die man mindestens als eine Hauptbildungsstätte des Fibrinogens ansehen darf, zu denken, da, wie erwähnt, nach Hashimoto und Pick¹⁾ die Autolyse der Leber durch Reinjektion am sensibilisierten Tier gehemmt wird²⁾. Schließlich können diese Vorgänge zusammenwirken. Eine Entscheidung zwischen den Möglichkeiten ist vorerst nicht zu treffen.

VI.

Senkungsgeschwindigkeit, Oberflächenspannung, Globulinfällung; Wassermannsche Reaktion.

Im Anschluß an Sachs und v. Oettingen meinten wir, in den Fällbarkeitsänderungen der Fibrinogenfraktion des Plasmas einen Indikator für weiter reichende Variationen der kolloiden Konstitution des Blutes erblicken zu sollen. Wir haben daher einerseits nach Qualitäts- (und eventuell Quantitäts-)Schwankungen der Serumglobuline gesucht, andererseits die Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen und die Oberflächenspannung des Plasmas zur Charakterisierung des physikochemischen Zustandes nach intravenösen Injektionen herangezogen.

Ueber die Beziehungen zwischen diesen Einzelfaktoren liegt in der Literatur eine Anzahl von Beobachtungen vor, auf die wir noch eingehen werden. Parallelbestimmungen der verschiedenen Charakteristiken des jeweiligen Zustandes, besonders nach bestimmten Eingriffen, scheinen noch auszustehen. Wir selbst können aus äußeren Gründen zunächst auch nur einen teilweise unvollständigen Beitrag liefern, der sich auf neuen Beobachtungen nach intravenöser Verabreichung von Caseosan, Trypaflavin und 10-proz. NaCl-Lösung erstreckt (s. Tabelle II). Außerdem haben wir einige ergänzende Versuche in vitro ausgeführt.

Schock nicht ausschlaggebend ist, folgt aus seiner Hervorrufung durch das stark oberflächenspannungserniedrigende Caseosan.

1) Hashimoto und Pick, l. c.

2) Der akuten, kurz dauernden Zunahme der parenteralen Eiweißzersetzung und Uberschwemmung mit relativ niedrigen Zerfallsprodukten im Schock folgt unmittelbar ein Darniederliegen des Gesamtstoffwechsels. Cf. Loewit, l. c. p. 483.

Die Senkungsgeschwindigkeit ermittelten wir nach dem Verfahren Plaut¹⁾.

In Röhrchen von ca. 1 cm lichtigem Durchmesser wurde bis zur Höhe von 25 mm Natriumzitratlösung (Natr. citric. 1,1; Natr. chlorat 0,7; Aq. dest. ad 100,0) gefüllt und dann bis zur Höhe von 100 mm (anfänglich nur bis 75 mm) Venenblut aufgefangen; nunmehr wurde zweimal umgeschwenkt und nach einer Stunde und später der Stand der Blutsäule abgelesen. In dem überstehenden Plasma wurde nach Verdünnen mit gleichen Teilen physiol. NaCl-Lösung die Tropfenzahl mit einem Traubenschen Stalagmometer (für H₂O bei 20° C = 94) gemessen. Gleichzeitig entnahmen wir Blut zur Serumgewinnung. Die zeitlichen Verhältnisse waren dem früher angegebenen Vorgehen angepaßt.

Zur Globulinfällung diente eine von Bruck²⁾ mitgeteilte Methode, die ihr Urheber zum Nachweis qualitativer Aenderungen im Sinne erhöhter Labilität für besonders geeignet hält:

Je 0,2 ccm eine Stunde bei 56° C inaktivierten Serums werden mit je 2 ccm sehr schwacher Milchsäure verschiedener Konzentration versetzt; die entstehende Trübung wird sofort, nach einer halben und nach einer Stunde abgelesen. Zweckmäßig wählt man eine Verdünnung, die im normalen Serum eben eine Opaleszenz gibt, und setzt zum Vergleich noch einige Röhrchen mit etwas stärkeren Lösungen an. Wir verwendeten als schwächste Konzentration eine Lösung von 8 oder 9 ccm 1-prom. Milchsäure plus 60 ccm Aq. dest. und stiegen bis auf 12, mitunter bis auf 15 ccm 1-prom. Milchsäure plus 60 ccm Aq. dest.³⁾.

Kochsalzlösung.

Nach intravenöser Injektion von 10 ccm 10-proz. NaCl verlangsamte sich die Senkungsgeschwindigkeit in dem etwa 1/2 Stunde, noch mehr in dem etwa 1 Stunde p. i. entnommenen Blut. Diese Verlangsamung markierte sich deutlich bei Ablesung der Röhrchen nach der ersten halben Stunde und verwischte sich später; sie schien nicht auf einer Blutverdünnung zu beruhen. Die Oberflächenspannung war nicht

1) Plaut, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 33.

2) Bruck, Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 35 u. 36.

3) Bruck gibt an, daß Wassermann-positive Seren mit einer Lösung von 13–14 ccm 1-prom. Milchsäure plus 60 ccm Aq. dest. eine Fällung aufweisen. Das Wasser soll säurefrei sein, 5 ccm 1-prom. Milchsäure sollen 6,5 ccm n/100 NaOH (gegen Phenolphthalein) verbrauchen; 5 ccm unserer Milchsäure wurden durch 4,6 ccm, 100 ccm unserer Aq. dest. durch 3,2 ccm n/100 NaOH neutralisiert. Unser Material gibt über die Beziehung zur Wassermannschen Reaktion keinen Aufschluß.

wesentlich verändert (sie nahm zwar in beiden Versuchen in der 35 Minuten p. i. entzogenen Probe etwas ab, doch sind die Differenzen zu gering, einmal wohl in teilweiser Gerinnung mitbegründet). Die Globulinfällungen (nur in einem Versuch durchgeführt) zeigten keine verwertbaren Unterschiede; dergleichen die Plasmafällungen in demselben Versuch; in dem anderen wiesen sie die früher beschriebene vorübergehende Abnahme auf.

Salzzusatz zum Plasma verzögert die Sedimentierung der Erythrozyten¹⁾. Da das intravenös in hypertonischer Lösung verabreichte Kochsalz die Blutbahn äußerst rasch verläßt²⁾, könnte es sich nur um eine nachträgliche Konzentrationsverschiebung handeln, falls überhaupt das Salz als solches im vorliegenden Falle noch wirksam ist. Eine geringe Verminderung (oder Stabilisierung) des Fibrinogens ist wohl vorhanden, doch ist es bereits zu einer Zeit wieder vermehrt nachweisbar, wo die Senkungsverzögerung noch wächst. Vielleicht strömen zu dieser Zeit sowohl grobdisperse (fibrinogenartige) als auch hochdisperse Eiweißabbauprodukte aus den Geweben in die Blutbahn ein, wobei die niederen Spaltstücke einerseits löslichkeitsvermittelnd die höheren bis zu gewissem Grade vor dem Fällungsnachweis schützen, andererseits „benetzungs“-fördernd die Suspensionsstabilität der roten Blutkörper erhöhen³⁾ (s. auch später).

Trypaflavin.

Trypaflavin (0,05 bzw. 0,06 g in 0,5-proz. Lösung) ließ bei intravenöser Gabe die Senkungsgeschwindigkeit eines sehr rasch und eines langsam sedimentierenden Blutes unbeeinflusst und die Oberflächenspannung fast unverändert⁴⁾. Auch Zusatz des Farbstoffs in entsprechender Konzentration *in vitro*

1) G. Leendertz, l. c.; cf. auch Berceller und Stanker, Intern. Zeitschr. f. physik.-chem. Biol., Bd. 3, 1917, p. 133 (zitiert nach Leendertz).

2) Siehe z. B. H. Rosenberg, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. 20. 1919, p. 460.

3) Siehe Klinger und Herzfeld; Starlinger, l. c.

4) Die gefundene Erniedrigung der Oberflächenspannung lag innerhalb der Fehlergrenze.

Tabelle II.

| No. u. Datum | Name | Krankheit | Senkungsgeschwindigkeit in mm | | Tropfenzahl | | Fällbarkeit | | Bemerkungen |
|-------------------------|----------|--|-------------------------------------|---------------------------|--------------------|----------------------|---|--|-------------|
| | | | a. i. | p. i. | a. i. | p. i. | a. i. | p. i. | |
| 36 22. VIII. 1921 | Pe. ♀ 56 | Taboparalyse WaR. im Blut. +++ | 3': 35' 21 18 70': 38.5 38 39 | 35' 16.5 37.5 | 3' 93.5 93.7 | 35' 94.2 93.7 | 3' 35' 70' Plasma (Alkohol) (+) ± ± (±) bis ± | Kochsalz 10 Proz. 10 ccm intra- venös. Keine klin. Reaktion | |
| 41 6. X. 1921 | Pa. ♀ 26 | Seps. post abort. Seit 3 Tagen fiebertfrei | 3': 30' 48.5 51 | 30' 50.5 96.8 | 3' 97.2 96.8 | 30' 96.8 | 3' 30' 70' Globulin (8 ccm 1% Ac. lact. + 60 ccm Aq. dest.) (+) +! (+) bis + Plasma (Alkohol) (+) +! (+) (+) (+) | Trypaflavin 0,5 Proz. 12 ccm in- travenös. Keine klin. Reaktion; bleibt fiebertfrei! | |
| 33 6. VIII. 1921 | We. ♀ 25 | Hysterie? WaR. i. Blut — Non gravida | 3': 30' 19 22 105': 24 29 | 65' 18.5 20 25.5 27 | 3' 99.4 96.9 | 30' 65' 97.9 98.1 | 3' 30' 65' Globulin (Ac. lact. wie sub 41) 30': (±) ± (±) (±) 60': ± (+) ± ± | Caseosan 1 ccm intravenös. Kei- ne klin. Reak- tion | |

Flockungsskala.

- 0 klar
- (±) schwächste Opaleszenz
- ± Opaleszenz
- (+) deutliche Trübung
- + wolkige Trübung
- (++) spärliche feine Flockung
- +++ reichliche feine Flockung
- (++++) spärliche mittelgroße Flocken
- (+++++) reichliche mittelgroße Flocken
- (++++++) spärliche grobe Flocken
- (++++++) reichliche grobe Flocken
- (++++++) d. h. sehr reichlich

Beachte ferner: Unterschiede der Schwelligkeit des Ausflockens.

zeitigte dasselbe Ergebnis (allerdings wurde die Senkungsgeschwindigkeit nur an einem langsam absetzenden Blute untersucht). Die Globulinfällung erfolgte am stärksten in der unmittelbar nach der Injektion gewonnenen Serumportion, die deutlich intensiver gefärbt war, als die später entnommenen Sera. Diese zeigten nur in einem Falle etwas vermehrte Fällbarkeit. Die den gleichen Zeiten zugehörigen Plasmen wiesen ebenfalls, wie vorn erörtert, eine dem Farbstoffgehalt proportionale Zunahme der Flockbarkeit auf.

Daß trotz Destabilisierung des Plasmas gegenüber den Fibrinogenfällungsmitteln sich die Senkungsgeschwindigkeit nicht geändert hat, weist auf die früher geäußerte Möglichkeit hin, daß bei dieser Mizellarbildung Körper in den Bereich der Fällungsreaktion rücken, die vielleicht gar nicht mit dem Fibrinogen zu identifizieren sind — entsprechend der schon geschilderten Tatsache, daß zwischen ultramikroskopischen Farbstoff- und Eiweißteilchen eine gewisse elektive Affinität besteht.

Caseosan.

Die Senkungsgeschwindigkeit war in allen Versuchen unmittelbar nach der intravenösen Injektion von 1 ccm Caseosan mehr oder weniger beschleunigt; in den später entnommenen Blutportionen war das Verhalten nicht einheitlich: die Senkungsgeschwindigkeit kann in ihnen zunächst erhöht bleiben oder allmählich abfallen oder noch weiter (und sogar beträchtlich) wachsen und dann sich dem Ausgangspunkt zubewegen; oder sie wird zunächst wieder etwas geringer, eventuell nahe der Norm, und nimmt hernach aufs neue zu. Die Senkungsbeschleunigung setzt also vor der deutlichen Fällbarkeitssteigerung des Plasmas ein, nach einiger Zeit entwickelt sich jedoch ein gewisses Zusammengehen beider Erscheinungen. Es erweckt den Anschein, als ob die erste, der Injektion unmittelbar folgende, von keiner nachweisbaren Fibrinogenveränderung begleitete Senkungsbeschleunigung zu raschem Rückgang tendiert, jedoch in irgendeinem Zusammenhange mit der früher oder später auftretenden Fällbarkeitszunahme des Fibrinogens wieder eine Steigerung erfährt. Eine geringe Verstärkung der Globulinflockung zeigte sich in allen Fällen:

zweimal schon bald nach der Injektion, zweimal erst später — doch waren die Unterschiede meist nur wenig ausgeprägt¹⁾. Die Oberflächenspannung war unmittelbar nach der Caseosangabe deutlich erniedrigt (2,5—3 Tropfen an unserem Stalagmometer), weiterhin stieg sie meist allmählich, hielt sich aber manchmal noch längere Zeit unter dem Ausgangswert; einmal sank sie jedoch während der Beobachtungsdauer noch merklich weiter. Das Verhalten der Oberflächenspannung ähnelt also dem der Senkungsgeschwindigkeit — ohne strengen Parallelismus im Einzelfalle.

Bald nachdem Fähræus²⁾ die verminderte Suspensionsstabilität der Erythrozyten in der Gravität wiederentdeckt hatte, bemerkte Linzenmeier³⁾, der als erster diese Beobachtungen nachgeprüft und wesentlich erweitert hat, daß zwischen Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen und Fibrinogengehalt⁴⁾ des Plasmas ein Zusammenhang besteht, auch hat er schon auf die Möglichkeit physikalischer Zustandsänderungen des Fibrinogens hingewiesen. Die meisten Forscher, die sich experimentell-theoretisch mit diesem Gegenstand beschäftigten, haben diese funktionelle Verknüpfung anerkannt, gleichgültig ob sie mehr die qualitative oder die quantitative Seite hervorkehrten⁵⁾. Unsere Befunde stimmen mit denen der übrigen Untersucher insofern überein, als Vermehrung bzw. Destabilisierung des Fibrinogens von einer Senkungsbeschleunigung begleitet war (die Sedimentierungsgeschwindigkeit bei der Anaphylaxie haben wir leider nicht geprüft⁶⁾). Wir dürfen daher auf eine Darstellung der ver-

1) Einige Male schien übrigens die Retraktion des Blutkuchens nach der Caseosaneinspritzung wesentlich verstärkt.

2) R. Fähræus, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 89, 1919, p. 355; *Ber. über die ges. Physiol.*, Bd. 2, 1920, p. 178.

3) G. Linzenmeier, *Arch. f. Gyn.*, Bd. 113, 1920, p. 608; *Arch. f. d. ges. Physiol.*, Bd. 181, 1920, p. 169; 2. *Mitteil. ebenda*, Bd. 186, 1921, p. 272; daselbst auch die alte Literatur.

4) in nächster Reihe auch der Menge ähnlicher hochmolekularer Eiweißkörper.

5) Besonders Sachs und v. Oettingen, l. c.; W. Starlinger, l. c.; v. Oettingen, l. c.

6) Leendertz (l. c.) beschreibt in einer nach Abschluß dieser Arbeit veröffentlichten Mitteilung Steigerung der Senkungsgeschwindigkeit nach

schiedenartigen Anschauungen über den Mechanismus dieses Vorganges verzichten — um so mehr, als eine sämtliche Einzelerscheinungen umfassende Theorie bei dem heutigen Wissensstande kaum zu entwickeln wäre — und wenden uns zu der Frage, worauf die initiale Senkungsbeschleunigung beruht; bei der wir eine Veränderung der Fibrinogenfällbarkeit vermißten. Auf Zusatz von Caseosan zum Zitratblut *in vitro* beobachteten wir (sowohl bei einer Verdünnung, die der des Caseosans im menschlichen Blut entsprach, als auch bei stärkerer Konzentration) in mäßig rasch absetzendem Blut eine ausgesprochene Verlangsamung, in langsam bei niedriger Außentemperatur sedimentierendem Blut keine Veränderung der Senkungsgeschwindigkeit. Wir schließen daraus, daß Caseosan *in vitro* die Sedimentierung verzögert. Es beeinflußt also die Senkungsgeschwindigkeit im lebenden Organismus und im Reagenzglas in entgegengesetzter Art.

Ein ähnliches, widerspruchsvolles Verhalten bietet das Pepton. Zwar fand Abderhalden sein Organpepton¹⁾, das wohl als reines, hochmolekulares Präparat anzusprechen ist, senkungshemmend; dagegen Wittepepton, das ein Gemisch höherer und niederer Eiweißbausteine darstellt, erwies sich Linzenmeier²⁾ als indifferent, und Brat³⁾ beobachtete, daß es in einer Konzentration von 1:120 auf das Absetzen des rasch sedimentierenden defibrinierten unverdünnten Pferdebluts gar nicht oder nicht deutlich, ebensolchen, langsam sedimentierenden Rinderbluts eher hemmend einwirkte. Bei intravenöser Injektion von 0,3 g Pepton pro Kilogramm Hund (entsprechend etwa einer Konzentration von etwa 1:360 im Blut) sah Brat⁴⁾ aber schon zuweilen 3 Minuten p. i. eine

Typhusimpfung und erwähnt ihre gleichartige Beeinflussung durch parenterale Proteingabe.

1) E. Abderhalden, *Fermentforschung*, Bd. 4, 1921, p. 230.

2) G. Linzenmeier, *Arch. f. d. ges. Physiol.*, Bd. 186, 1921, p. 272.

3) H. Brat, *Zeitschr. f. klin. Med.*, Bd. 56, 1905, p. 380. Der beschleunigende Einfluß, soweit er auf grobdispersen Anteilen der Peptonlösung beruhen könnte, hätte nach Starlinger (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. 120, 1921, p. 105) auch im Serum sehr deutlich hervortreten müssen. Vielleicht kompensieren die höher und niedriger molekularen Spaltstücke *in vitro* ihre entgegengesetzte Wirkung.

4) H. Brat, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1902, No. 49 u. 50, p. 1146.

ausgesprochene Senkungsbeschleunigung im nativen (!) Blut, wobei er noch ausdrücklich bemerkt, daß die angewandte Dosis genügte, um mit Regelmäßigkeit die Gerinnbarkeit innerhalb der ersten Stunden p. i. aufzuheben. Es bestand also eine, höchst wahrscheinlich mit Fibrinogenabnahme verknüpfte¹⁾, übrigens längere Zeit anhaltende Steigerung der Senkungsgeschwindigkeit schon unmittelbar nach der Einspritzung (für spätere Stadien ist der Parallelismus dieser Erscheinungen längst bekannt). Obwohl durchaus keine vollkommene Analogie zu unseren Beobachtungen vorliegt, so wird doch die verschiedene Wirksamkeit eines Proteinkörpers auf die Suspensionsstabilität intra und extra corpus bestätigt. Der Mechanismus der initialen Senkungsbeschleunigung ist jedenfalls nicht geklärt — falls man nicht zur Deutung unserer Beobachtungen annehmen will, daß die von Togawa (wie erwähnt) schon 3 Minuten p. i. mit biologischer Methode gefundene Fibrinogenvermehrung unserem chemischen Nachweis entgangen sei — eine Möglichkeit, die wir immerhin offen lassen müssen.

Die Oberflächenspannung des mit gleichen Teilen physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Plasmas wird schon bei Zusatz sehr geringer, der Blutkonzentration im Lebenden äquivalenter Mengen Caseosan in vitro um denselben Betrag erniedrigt wie in vivo. Damit ist die anfängliche Abnahme der Oberflächenspannung p. i. hinreichend begründet, wenn auch die Mitwirkung von reaktiven Vorgängen im Organismus nicht auszuschließen ist. Ob und in welchem Betrage diese späterhin die Oberflächenspannung niedrig halten oder weiter senken (das auch beobachtete weitere Abnehmen spricht für vitale Prozesse), wie weit und wie lange das injizierte Caseosan daran beteiligt ist, ist kaum zu entscheiden. Ein gewisser, aber keineswegs strikter Parallelismus der verschiedenen Faktoren in den späteren Blutproben schien vorhanden: Senkungsbeschleunigung, Verminderung der Oberflächenspannung, Vermehrung der Plasmafällbarkeit. Denselben Zusammenhang konstatierten Sachs und v. Oettingen²⁾ am Graviden-

1) Vgl. Moll, l. c.

2) Sachs und v. Oettingen, l. c.

plasma, während das Neugeborenenplasma umgekehrt Senkungsverzögerung, vergrößerte Oberflächenspannung und verringerte Plasmafällbarkeit aufwies. Dagegen haben Fuhrmann und Kisch¹⁾ die Oberflächenspannung des Schwangerenserums höher gefunden als die des Nabelschnurblutserums. Wir möchten vermuten, daß das Schwangerenblut bei seiner reichlichen Fibrinogengerinnung mehr oberflächenaktive Stoffe einbüßt als das Nabelschnurblut bei seiner spärlichen Fibrinogengerinnung²⁾ (in Analogie zu den Verhältnissen bei der Senkungsgeschwindigkeit). Andererseits stellten Bechhold und Reiner³⁾ fest, daß gewisse oberflächenspannungserniedrigende, von ihnen Stalagmone genannte Stoffe des Harns bei den gleichen pathologischen Zuständen auftreten wie die Senkungsbeschleunigung des Blutes und daß die Stalagmone selbst in vitro die Sedimentierung der Erythrozyten begünstigen (die Identität der Stalagmone mit den im Körper zirkulierenden, senkungsfördernden Substanzen scheint uns auf diese Weise allerdings nicht bewiesen). Auch die schon oben beschriebene Zunahme der Oberflächenspannung des Serums mit Fibrinogenverlust im anaphylaktischen Schock sei in diesem Zusammenhang nochmals aufgeführt. Eine Aufdeckung der hier verborgenen Beziehungen wäre sehr wünschenswert.

Wassermannsche Reaktion.

Nathan und Herold⁴⁾ haben beobachtet, daß die roten Blutkörperchen im Zitratplasma Luetischer um so rascher absetzen, je ausgebreiteter die Manifestationen der Allgemeindurchseuchung sind. Unter denselben Bedingungen ist der Fibrinogengehalt meist vermehrt [Winternitz⁵⁾]. Eine erhöhte Fällbarkeit der Serumglobuline bei positiver Wasser-

1) Fuhrmann und Kisch, l. c.

2) Vielleicht verbleiben gerade gallensaure Salze in größerer Menge im Neugeborenen Serum; cf. Fuhrmann und Kisch.

3) H. Bechhold und L. Reiner, Münch med. Wochenschr., 1920, No. 31, p. 891.

4) E. Nathan und G. Herold, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 24. Dasselbst weitere Literatur über Lues und Senkungsbeschleunigung.

5) R. Winternitz, Arch. f. Dermat. u. Syph., Bd. 101, 1910, p. 227.

mannscher Reaktion ist häufig nachgewiesen worden¹⁾. Da wir dieselben Blutveränderungen bei intravenöser Caseosaninjektion fanden, sind wir der Frage nähergetreten, ob auf diese Weise ein unspezifischer oder ein spezifischer (bei seronegativer Lues) Umschlag der Wassermannschen Reaktion hervorgebracht werden könnte. Bei Literaturdurchsicht ergab sich, daß schon Uddgren²⁾ zufällig ein spezifisches Positivwerden der Wassermannschen Reaktion mehrmals gesehen hat. Wie lange p. i. er die Blutentnahme ausgeführt hat, gibt er nicht an. Wir selbst haben etwa eine Stunde p. i. punktiert, bisher aber keine positiven Resultate zu verzeichnen³⁾ — doch ist unser Luesmaterial zur Klärung dieser Frage wenig geeignet.

VII.

Kehren wir zum Ausgangspunkt zurück: nach intravenöser Einverleibung von Proteinkörpern, speziell von Caseosan, waren am Gesamtblut, in Plasma und Serum Veränderungen nachzuweisen. Wieweit diesen nur qualitative, wieweit auch quantitative Abweichungen zugrunde liegen, ist meist nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Für unsere Fragestellung sind die unmittelbar nach der Injektion erhobenen Befunde besonders wichtig, da man für diesen Zeitpunkt noch am ehesten erwarten darf, primäre Zustandsänderungen des Blutes ohne komplizierende Zellreaktionen anzutreffen.

Mit einiger Gewißheit ist nur die initiale Herabsetzung der Oberflächenspannung als rein physikalische Wandlung anzusprechen; denn die gleichzeitige Senkungsbeschleunigung der Erythrozyten tritt nur im Organismus ein, während Caseosanzusatz im Reagenzglas die Suspensionsstabilität der roten Blutkörperchen erhöht. Da Kolloidreaktionen im allgemeinen

1) Vgl. Bruck, l. c.; weitere Literatur bei Loewit, l. c. p. 202 ff.

2) Uddgren, Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 15, p. 354.

3) Trotzdem sei vermerkt, daß ein unmittelbar vor der Injektion mit 2 Extrakten stark positives Serum 45 Minuten nach intravenöser Gabe von 1 ccm Caseosan Eigenhemmung aufwies. (Wir danken Herrn Dr. Bernhardt für die bereitwillige Ausführung der Wassermannschen Reaktion.) Nach der Auffassung von Sachs (Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 32, p. 1033; Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 36) ist in diesem Vorgang eine weitere Labilitätserhöhung der Serumglobuline zu erblicken.

nicht mit ionaler Geschwindigkeit verlaufen, könnte auch die Fällbarkeitszunahme sich allmählich als qualitative Abartung im Sinne einer Kondensation ausbilden; dafür spräche, daß eine Fibrinogenvermehrung mit anderen Methoden (außer durch die biologische Wohlgemuths von Togawa l. c.) zu diesem Zeitpunkt bisher anscheinend nicht nachgewiesen wurde, daß die Fällbarkeitszunahme bald zurückgeht und daß der Injektion erst nach einigen Stunden ein länger anhaltender (quantitativer) Fibrinogenanstieg als zelluläre Reaktion zu folgen scheint (das Verhalten der Globuline während dieses späteren Zeitabschnitts ist unseres Wissens noch nicht untersucht) — doch wird noch auf andere Möglichkeiten einzugehen sein.

Nach Traube¹⁾ befördert die Erniedrigung der Oberflächenspannung die Osmose im allgemeinen und das Eindringen des oberflächenaktiven Stoffes in die Zellen im besonderen. Das Caseosan bahnt sich also gleichsam durch seine physikalischen Eigenschaften den Weg zur reaktiven Substanz des Organismus. Ob andere Proteinkörper denselben Mechanismus zeigen, bedarf noch der Untersuchung. Daß bei den üblichen Dosen die von Seiffert hervorgehobene adsorbierende, diffusions- und dialysehemmende Eigenschaft der Proteinkörper in vitro auch in dem an sich kolloidreichen Milieu des Organismus zur Geltung kommt, ist uns nicht wahrscheinlich²⁾.

Zunächst dürften die zelligen Elemente des Blutes dem Einfluß der oberflächenaktiven Stoffe unterworfen sein, und

1) Z. B. Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912, p. 470 und an vielen anderen Stellen.

2) Seine Annahme der Undurchgängigkeit fast aller Zellarten für Proteinkörper begründet Seiffert (l. c.) auf Untersuchungen über das Eindringen eines Farbstoff-Eiweißkomplexes. Dieser Folgerung ist entgegenzuhalten, daß in einem solchen Komplex eine starke Teilchenvergrößerung statthat (s. oben); daher ist seine Durchwanderung gegenüber seinen höherdispersen Einzelbestandteilen behindert; die Einzelkomponenten können leichter in Zellen (daher auch in weniger permeable) eintreten — wofür das Verhalten der reinen Farbstofflösung der sichtbare Beweis ist. Die Versuche Seifferts ergeben vielmehr, daß sogar mizellare Farbstoff-Eiweißverbindungen in gut permeable (vor allem also wohl auch in kranke) Zellen einwandern können, stützen daher unsere Auffassung des „unspezifischen“ Trypflavinmechanismus, der sich demnach durch ausgewählte und protrahierte Wirkung auszeichnen würde.

als erste wohl seine gebrechlichsten Gebilde, die Thrombozyten. Freund¹⁾ hat gezeigt, daß beim Zerfall der Blutplättchen Stoffe frei werden, die bestimmte pharmakologische Wirkungen ausüben sowie die Reaktivität des Organismus gegen verschiedene Reize umstimmen, und hat das Erscheinen derartiger freier Substanzen im strömenden Blut nach Caseosan-Injektion (und anderen „unspezifischen“ Maßnahmen) nachgewiesen; und Dresel²⁾ konnte feststellen, daß nach intravenöser Caseosaninjektion (nach Farb- und Impfstoff usw.) beim Kaninchen die normalerweise fast nur in den Plättchen vorhandenen milzbrandfeindlichen Stoffe („Plakine“) reichlich in die Blutflüssigkeit (Plasma und Serum) übergehen. Freund und Dresel vermuten daher, daß die Proteinkörper zum Teil auf dem Umwege über den Thrombozytenzerfall wirken (doch käme bei anderen Vorgängen und Objekten auch der Einfluß auf andere Zellen in Betracht). Die rasch einsetzende Wirkung auf die Blutplättchen ist vielleicht auch die Ursache der initialen Senkungsbeschleunigung der Erythrozyten, aus der wir nach unseren Untersuchungen die frühzeitige Anwesenheit eines im Organismus entstandenen Faktors ablesen³⁾. Derselben Quelle könnte die vorübergehende Fällbarkeitszunahme der Fibrinogenfraktion entstammen. An den resistenteren Zellen wird die Förderung der Osmose und eventuell die Aenderung der Permeabilität durch den oberflächenaktiven Stoff Funktion und Stoffwechsel beeinflussen.

Außer der Oberflächenaktivität sind nach den Untersuchungen Hoebbers und seiner Schule⁴⁾ die elektrischen Eigenschaften der parenteral zugeführten Substanzen bzw. die durch sie hervorgerufene „Sensibilisierung“ für Ladung, Entladung und Umladung als primäre Bedingungen einer Zustandsänderung sowohl an Zellen als auch an hochmolekularen

1) Vgl. H. Freund und R. Gottlieb, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 13, p. 383. Literatur!

2) G. Dresel und H. Freund, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 30, p. 961.

3) Man müßte allerdings ergänzend annehmen, daß im Zitratblut die Plättchen irgendwie geschützt sind.

4) Zuletzt K. Heesch, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 190, 1921, p. 198.

Aggregaten zu berücksichtigen — besonders auch bei Metallkolloiden und Farbstoffen.

Nach der gangbaren, nur von wenigen Autoren (z. B. Döllken) nicht geteilten Auffassung der „unspezifischen“ Therapie kommt diesen und anderen physikalischen und chemischen Differenzen der betreffenden Pharmaka nur eine geringe oder gar keine Bedeutung zu. Doch ist abzuwarten, ob es nicht einer verfeinerten Analyse gelingt, die Phänomene bis zu einem gewissen Grade voneinander abzusondern — etwa in dem Sinne, daß in dem Konzert der vielfältigen Reaktionen des Organismus nicht nur die „mißgestimmten“ Zellinstrumente vortönen, sondern auch bald diese, bald jene entsprechend ihrem Resonationsbereich leichter ansprechen. Auch unter diesem Gesichtspunkt verdienen die kolloidchemischen Untersuchungen auf andere Stoffe ausgedehnt zu werden.

Eine offene Frage bleibt schließlich, ob die veränderte Fällbarkeit der Fibrinogenfraktion und der Globuline nur als Zeichen — in späteren Stadien z. B. auch einer erhöhten Zelltätigkeit¹⁾ — zu bewerten ist oder ob und wie die qualitativ bzw. quantitativ veränderten Bestandteile selbst in den Mechanismus irgendwelchen Geschehens eingreifen — wie es z. B. bei der Beeinflussung der Suspensionsstabilität der Erythrozyten und der Blutgerinnung anzunehmen ist.

Die verschiedenen Momente, die zum Ausbleiben einer Fällbarkeitsvermehrung oder sogar zur Fibrinogenabnahme im anaphylaktischen Schock beitragen können, sind bereits eingehend erörtert worden, wobei eine einseitige Entscheidung vermieden wurde. Die Annahme einer Verwandtschaft von anaphylak-

1) s. Zuntz und v. Mering, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 32, 1883, p. 173; cf. auch J. Potthast, ebenda, p. 280. Auf 10 ccm Rinderserum oder 10-proz. Peptonlösung intravenös beim Kaninchen alsbald Steigerung des O₂-Verbrauchs und der CO₂-Ausscheidung. Man wird daraus auf einen Stoffwechselreiz schließen dürfen. Aus diesen und vielen anderen Gründen können wir der Ansicht von Frisch und Starlinger (l. c.), die Proteinkörperwirkung bestehe nicht in einer Anspornung der Zellen zu vermehrter Tätigkeit, sondern beschränke sich auf die Ausmerzungen minderwertiger Zellen durch Zerfall, aus deren Ausschaltung und dadurch angeregter Regeneration frischer, junger Zellen die Leistungssteigerung resultiere, nicht beipflichten.

toiden und anaphylaktischen Erscheinungen weist auf die bestimmtere Vermutung, daß die differenten Verhaltensweisen der Fibrinogenfraktion nach Erst- und schockerregender Reinjektion ein innerer Zusammenhang verknüpfe. Betrachtet man die baldige, vorübergehende Fällbarkeitszunahme nach der ersten Injektion als Ausdruck einer Kondensation der Fibrinogensubmikronen, zum Teil auch als Folge eines Blutplättchenzerfalls, so läßt sich der Fibrinogenbefund des Plasmas nach der Reinjektion auf eine äußerst rasche Verdichtung des Fibrinogens bis zur intravasalen Flockenbildung zurückführen¹⁾, zu der eine akute Thrombozytolyse weitere flockende Substanzen beisteuern könnte²⁾. Auf diese Weise käme eine Verminderung des „gelösten“ Fibrinogens im Plasma und die Ungerinnbarkeit des Blutes zustande. Die fraglichen anaphylaktoiden und anaphylaktischen Phänomene sind nach dieser Auffassung nur graduell unterschieden. Ueber dieser Vereinheitlichung dürfen selbstverständlich, auch wenn man die Flockung als unmittelbare Ursache des Schocks gelten läßt³⁾, die durch die Präparation des Tiers bedingten Besonderheiten nicht vernachlässigt werden. Eine Analyse der kausalen Genese der Anaphylaxie wird aber die angedeuteten Beziehungen der Plasmabeschaffenheit berücksichtigen müssen.

Zusammenfassung.

I. Beim gesunden oder leichtkranken (d. h. nicht von aufzehrenden oder hochfieberhaften Leiden befallenen) Menschen in Nüchtern-Ruhelage bleibt die Fällbarkeit der Fibrinogenfraktion des Zitratblutplasmas (durch Alkohol und

1) Daß der Schock am hirudinisierten Tier hervorgebracht werden kann, ist kein Gegenbeweis. Hirudin hemmt angeblich die Aktivität des sogenannten Fibrinferments (s. Heinz, Handb. d. exp. Path. u. Pharm., I, 1, p. 456, Jena 1904) und unterbindet auf diese Weise die Fibrinbildung, d. h. den typischen Gerinnungsprozeß, braucht aber eine auf anderem Wege erfolgende Dispersitätsvergrößerung des Fibrinogens nicht zu beeinträchtigen. Uebrigens erfordert die wirksame Reinjektion am Hirudintier größere Antigen Dosen (Zunz und van Geertruiden-Bernard, l. c.).

2) Vgl. Loewit, l. c. p. 509.

3) Vgl. Kopazewski, Lumière, l. c.

Kochsalz) während der geprüften Dauer von mindestens einer Stunde konstant. Auf diesen Zeitraum beziehen sich die folgenden Angaben:

Nach intravenöser Injektion zeigt sich die Plasmafällbarkeit auf Aqua destillata (2 ccm) gar nicht, bei größeren Dosen (10 ccm) kaum verändert;

auf NaCl-Lösung (10 ccm 10-proz.) meist vorübergehend leicht vermindert;

auf Trypaflavin-Lösung (10—12 ccm 0,5-proz.) nach 3 Minuten erheblich, später entsprechend dem Rückgang der Färbung etwas oder gar nicht vermehrt;

auf Caseosan und Ophthalmosan (1—2 ccm) sofort meist gar nicht, gelegentlich etwas, nach einer halben Stunde mehr oder minder stark, zuweilen sehr intensiv gesteigert — manchmal bis 1 Stunde p. i. zunehmend, öfter zu dieser Zeit aber bereits wieder rascher oder langsamer absinkend, mitunter aber 2 Stunden p. i. noch wesentlich über dem Ausgangswert.

Auch beim Tier (Kaninchen) folgt der Einspritzung von Milch bzw. Ophthalmosan in die Blutbahn eine ausgesprochene Erhöhung der Fällbarkeit; ebenso bei Reinjektion vor Ablauf der Inkubation; bei Reinjektion des sensibilisierten Tieres nach Ablauf der Inkubation (im anaphylaktischen Schock) tritt keine Fällbarkeitszunahme des Plasmas auf.

Die Fällbarkeit der Serumglobuline (mittels Milchsäure) wird bei derselben intravenösen Dosierung

durch Kochsalz nicht verändert;

durch Trypaflavin in derselben Art wie die Fibrinogenfraktion proportional der Verfärbung;

durch Caseosan bald rasch, bald allmählich vermehrt (nach Caseosan bisher kein Positivwerden der Wassermannschen Reaktion im Blut innerhalb der ersten Stunde p. i. beobachtet).

Im Reagenzglas wird bei Innehalten der im lebenden Organismus waltenden Konzentrationsverhältnisse die Fällbarkeit des Plasmas durch Zusatz von Ophthalmosan und Caseosan nicht verändert, durch Zufügen von Trypaflavin (auch die der Serumglobuline) deutlich vermehrt.

II. Die Oberflächenspannung des Zitratplasmas wird durch Caseosan in vitro wesentlich herabgesetzt; in vivo in demselben Grade unmittelbar p. i., später nimmt sie meist allmählich wieder zu, kann aber gelegentlich weiter sinken; Trypaflavin ist ohne deutlichen Einfluß; ebenso Kochsalzlösung (10-proz.) im Lebenden.

III. Die Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen wird durch intravenöse Gabe von Caseosan sofort beschleunigt, während der nächsten Stunde kann sie konstant bleiben, oder allmählich absinken oder auch, zuweilen nach vorhergehender Verlangsamung, weiter steigen; in vitro erzeugt Caseosan eine Erhöhung der Suspensionsstabilität. In vivo führt 10-proz. Kochsalzlösung zu einer während der ersten Stunde allmählich wachsenden Verzögerung der Sedimentierung. Trypaflavin schien intra und extra corpus ohne Einfluß.

IV. Oberflächenspannung, Senkungsgeschwindigkeit und — nach Ablauf der ersten halben Stunde — Plasmafällbarkeit zeigen nach Caseosaninjektion einen gewissen, wenn auch nicht strengen Parallelismus im Sinne einer Zusammengehörigkeit von Oberflächenspannungserniedrigung, Senkungsbeschleunigung, Fällbarkeitszunahme.

V. Die Fällbarkeitszunahme durch Trypaflavin in vivo und in vitro wird auf die Entstehung einer mizellaren Verbindung des Farbstoffes mit Eiweißkörpern des Plasmas bzw. Serums zurückgeführt; die pharmakologische Wirkung des Trypaflavins bei intravenöser Applikation am Menschen wird als „unspezifischer“ Effekt dieses im Organismus entstehenden, „zustandsfremde“ Proteine umschließenden Komplexes gedeutet.

VI. Aus dem differenten Einfluß des Caseosans auf die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten in vitro und unmittelbar p. i. in vivo folgt, daß schon innerhalb weniger Minuten im Organismus tiefgreifende Veränderungen vor sich gehen, die bereits als Folgezustände der auch in vitro stattfindenden physikochemischen Umstrukturierung aufzufassen sind. Als Zeichen dieser primären Umwandlungen kann die intra und extra corpus gleich große Erniedrigung der Oberflächenspannung

gelten. Der weitere Verlauf im Organismus kann mittelbar auf der humoralen Umstimmung wie auf der unmittelbaren Weiterwirkung des eingebrachten Agens beruhen; es ist wahrscheinlich, daß das jeweilige Mittel auch die solidaren Apparate zunächst wesentlich durch seine physikalischen Eigenschaften angreift. Den veränderten Bedingungen könnten die zelligen (bzw. zellartigen) Gebilde je nach ihrer Resistenz mehr oder minder passiv unterliegen (besonders die Thrombozyten) oder aktiv begegnen. Ob die baldige, vorübergehende Fällbarkeitszunahme (in Plasma und Serum) aus derartigen Prozessen oder aus allmählicher Teilchenvergrößerung resultiert, ist unentschieden; eine länger anhaltende Reaktion der Gewebe erzeugt vermutlich die spätere, dauerhaftere (von anderer Seite nachgewiesene) Erhöhung des Fibrinogenspiegels. Das Zusammenspiel der physikalisch-chemischen Faktoren — besonders im Lebenden — sowie die biologische Bedeutung der Fällbarkeitszunahme ist in vielen Punkten noch ungeklärt, eine Verallgemeinerung der am Caseosan gemachten Erfahrungen und Schlüsse vorerst nicht angängig.

VII. Das Ausbleiben der Fällbarkeitszunahme (bzw. der Fibrinogenverlust) bei Reinjektion sensibilisierter Tiere nach der Inkubation könnte durch rapide Verdichtung des Fibrinogens bis zur Flockenbildung entstehen, wodurch es zur Verminderung der — durch akute Thrombozytolyse möglicherweise sogar vermehrten — flockenden Substanzen im Plasma und zur Ungerinnbarkeit des Blutes käme. Der Vorgang im anaphylaktischen Schock würde also einer Ueberstürzung des der Erstinjektion folgenden anaphylaktoiden Geschehens nach Tempo, In- und Extensität gleichzusetzen sein. Doch könnten auch andere Momente — besonders auch beim protrahierten Schock — sich am Verhalten des Plasmas beteiligen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut f. Immunitätswissenschaft Hamburg-Eppendorf.]

Zur Milchsäureaktivierung.

Von Dr. Carl Timm.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. November 1921.)

Wie M u c h in Jahrg. 1921 No. 23 der D. med. Wochenschrift schon kurz mitteilte, ist es uns gelungen, durch Zusatz von Milchsäure zu Bouillon darin gezüchtete Heubazillen mäusevirulent zu machen.

Da diese Versuche ganz unerwartete Ausfälle zeigten, die immer wieder mit Sicherheit eintraten, mögen sie hier ausführlicher mitgeteilt werden.

Der Heubazillus zeigte sich in den Vorversuchen als „harmloser“ Keim, der, auch wenn er in sehr großer Menge Mäusen intraperitoneal oder subkutan einverleibt wurde, unschädlich war.

Ich versuchte nun, wie das bei Mycoides und Proteus gelungen war, durch gleichzeitiges Einverleiben einer dicken Heubazillenaufschwemmung und einer 0,1-proz. Milchsäurelösung den Heubazillus mäusevirulent zu machen. Es ist das in mehrfach angestellten Versuchen nicht gelungen. Sämtliche Mäuse blieben am Leben.

Bevor sich diese Versuche als nicht geglückt herausgestellt hatten, ging ich nach einer anderen Versuchsanordnung vor:

Ich versetzte in verschiedenen Röhrchen gewöhnliche Nährbouillon mit fallenden Mengen von Milchsäure:

| | | | | |
|-------------|------------------|-------------------------------|---|---|
| Röhrchen I. | 4,5 ccm Bouillon | + 0,5 ccm 10-proz. Milchsäure | | |
| „ II. | 4,5 „ „ | + 0,5 „ 1- „ | „ | „ |
| „ III. | 4,5 „ „ | + 0,5 „ 0,1- „ | „ | „ |
| „ IV. | 4,5 „ „ | + 0,5 „ 0,01- „ | „ | „ |

Ich hatte somit eine 1-proz., eine 0,1-proz., eine 0,01-proz. und eine 0,001-proz. Milchsäurebouillon hergestellt. Der In-

halt der Röhrrchen reagierte gegenüber Lackmuspapier verschieden. Die Bouillon aus Röhrrchen I und II reagierte stark und schwach sauer, die aus Röhrrchen III und IV schwach und stark alkalisch.

Jetzt beimpfte ich die vier Röhrrchen sowie ein fünftes Kontrollröhrrchen gewöhnlicher Bouillon mit je $\frac{1}{10}$ Oese einer gewöhnlichen Heubazillenagarkultur.

Das Wachstum der Heubazillen in den fünf Röhrrchen war schon nach 24 Stunden Aufenthalt im Brutschrank (37 °) ein verschiedenes. Während in den alkalisch reagierenden Nährmedien der Röhrrchen III bis V (0,01-proz., 0,001-proz. Milchsäurebouillon, gewöhnliche Bouillon) die Heubazillen in einer festen Haut an der Oberfläche gewachsen waren, die bei Berührung zu Boden fiel und hier einen dicken Bodensatz bildete, außerdem die Bouillon allgemein getrübt war, war der sauer reagierende Inhalt der Röhrrchen I und II (1-proz. und 0,1-proz. Milchsäurebouillon) völlig klar, und es zeigte sich nur ein spärliches Wachstum von Heubazillen am Boden der Röhrrchen.

Nun brachte ich aus den fünf Röhrrchen je 0,4 ccm des gut geschüttelten Inhaltes intraperitoneal auf Mäuse.

| | | | |
|----------|---------|--|-----|
| Maus 35. | 0,4 ccm | 1-proz. Milchsäurebouillon-Heubazillenkultur | ip. |
| „ 36. | 0,4 | „ 0,1-proz. „ „ | ip. |
| „ 37. | 0,4 | „ 0,01-proz. „ „ | ip. |
| „ 38. | 0,4 | „ 0,001-proz. „ „ | ip. |
| „ 39. | 0,4 | „ gewöhnliche Bouillon-Heubazillenkultur | ip. |

Die Mäuse 36, 37 und 38 starben nach 24 Stunden, Maus 35 nach 14 Tagen; Maus 39 blieb am Leben und ließ keine Zeichen einer Erkrankung erkennen.

Makroskopisch war bei der Sektion der gestorbenen Tiere lediglich ein ganz geringes seröses Exsudat in der Bauchhöhle zu finden, doch konnten wir sowohl aus der Bauchhöhle wie aus dem Herzblut Heubazillen in Reinkultur züchten.

Die Wiederholungen fielen immer im gleichen Sinne aus. Hierbei war es übrigens gleichgültig, ob der sterilen Bouillon unter sterilen Bedingungen die Milchsäure zugesetzt, oder ob nach Zusatz der Milchsäure die fertige Milchsäurebouillon nochmals sterilisiert wurde.

Ich hatte also die Tatsache vor mir, daß Heubazillen, die auf Agar oder gewöhnlicher Bouillon gewachsen, allein oder gleichzeitig mit Milchsäure Mäusen einverleibt, diese weder zu töten noch krank zu machen vermögen, fähig sind, Mäuse schon nach 24 Stunden zu töten, wenn sie in Gegenwart von geringen Spuren von Milchsäure gewachsen waren.

Eine reine Säurewirkung als solche kann nicht vorliegen, denn der Tod trat ebenfalls ein, wenn es sich um alkalische reagierende Milchsäurebouillon handelte.

Es war aber die Frage zu klären, ob die tötende Fähigkeit an den Heubazillus selbst geknüpft war, oder ob etwa irgendwie toxisch wirkende Substanzen in der Bouillon entstanden waren.

Ich zentrifugierte den Inhalt der Röhren III mehrere Stunden lang und trennte so die Heubazillen von der Nährflüssigkeit. (Ganz ist das allerdings nicht gelungen, denn aus der abzentrifugierten Flüssigkeit konnten, wenn auch nur spärlich, Heubazillen gezüchtet werden.)

Der Bazillenrückstand wurde mehrfach mit steriler Kochsalzlösung gewaschen, um die Bazillen gänzlich von der Flüssigkeit zu befreien. Sowohl die Nährflüssigkeit wie die gewaschenen Bazillen brachte ich jetzt intraperitoneal auf Mäuse.

Maus 42. Gewaschene Heubazillen aus Röhren III in 0,4 ccm NaCl ip.
Maus 43. 0,4 ccm Nährflüssigkeit aus Röhren III ip.

Maus 42 starb wieder nach 24 Stunden, Maus 43 erst nach 4 Tagen. Bei der Maus 42 wurden wieder sowohl aus dem Herzblut wie aus der Bauchhöhle Heubazillen gezüchtet. Bei der Maus 43 gelang es nicht. Die Organe waren schon in Fäulnis übergegangen, und die Kultur aus der Bauchhöhle ließ Kokken, die aus dem Herzblut gramnegative kurze Stäbchen erkennen.

Trotzdem glaube ich, daß auch der Tod der Maus 43 durch die geringe Menge Heubazillen, die noch in der Flüssigkeit vorhanden waren, zurückzuführen ist. Jedenfalls ist der 24 Stunden nach der Infektion eintretende Tod auf den Heubazillus selbst zurückzuführen, der, unter gewöhnlichen Bedingungen gewachsen, harmlos ist, dagegen eine Mäusevirulenz erlangt, wenn er in Gegenwart von Milchsäure wächst.

Diese Virulenz ist eine vorübergehende Eigenschaft. Bleiben die Kulturen aus den Tierleichen längere Zeit bei Zimmertemperatur stehen, so verlieren sie wieder diese Virulenz; ebenso ist eine aus der Milchsäurebouillonkultur angelegte Agarkultur wieder harmlos.

Das spricht aber nicht dagegen, daß tatsächlich eine echte Virulenz bestanden hat. (Cf. Pneumokokken, Streptokokken.) Daß Virulenz nichts absolut Feststehendes bedeutet, sondern vielmehr eine relative Eigenschaft ist, war uns bekannt.

Bekannt war die gegenseitige Abhängigkeit der „Virulenz“ und „Immunität“ voneinander, bekannt war die Abschwächung und Steigerung der bestehenden Virulenz ein und desselben Erregers. Neu ist an diesen Versuchen die Tatsache, daß unter gewissen künstlichen Bedingungen für gewöhnlich harmlose Keime eine starke Virulenz gewinnen können, und daß diese Virulenz abhängig ist von chemischen Substanzen.

Inwieweit sich in diesem Verhalten Unterschiede einzelner Heubazillen-Stämme zeigen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Zusammenfassung.

1) Während Heubazillen, allein oder gleichzeitig mit Milchsäure Mäusen eingespritzt, sich als völlig „harmlos“ erweisen, werden sie sofort für Mäuse hochvirulent, wenn sie in Gegenwart von geringen Spuren von Milchsäure gewachsen sind.

2) Es scheint sich hierbei um eine neue biologische Eigenschaft der Heubazillen selbst zu handeln, nicht etwa um in die Nährflüssigkeit übergegangene Toxine oder um reine Säurewirkung.

3) Diese angezüchtete Virulenz ist vorübergehend.

Nachdruck verboten.

[Aus der staatl. Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling b. Wien
(Vorstand: Privatdozent Tierarzt Dr. F. Gerlach.)]

Serumkrankheit bei Rind und Pferd¹⁾.

Von Privatdozent Dr. F. Gerlach.

Mit 4 Kurven und 2 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Dezember 1921.)

Nicht selten vernehmen wir von mehr oder minder schweren Erkrankungsfällen bei Rindern im Gefolge von Simultanschutzimpfungen gegen Milzbrand, die zumeist als Anaphylaxie, hervorgerufen durch Reinjektion eines von Pferden gewonnenen Milzbrandserums, gedeutet werden. In diesem Sinne ist in den letztvergangenen Jahren unter anderem auch mehrfach in der Berliner und Deutschen tierärztl. Wochenschrift berichtet worden, und ich selbst habe vor mehr als Jahresfrist über Anaphylaxie bei Rindern des Mattigtales in Oberösterreich nach Milzbrandschutzimpfungen mit Mödlinger Impfstoffen in der Berliner tierärztlichen Wochenschrift Mitteilung gemacht.

Bei dieser Gelegenheit habe ich planmäßige Untersuchungen einiger noch fraglicher und praktisch wichtiger, auf diesem Gebiete liegender Probleme im Laboratorium und in der Praxis in Aussicht gestellt, die seither systematisch zur Durchführung gekommen und vor kurzem zum Abschluß gebracht worden sind und deren Ergebnisse nachstehend zur Besprechung gelangen sollen.

Vor allem war mein Bestreben darauf gerichtet gewesen, einen klaglosen Ablauf der im heurigen Frühjahr im Mattigtale vorzunehmenden Schutzimpfungen der Rinder gegen Milzbrand zu bewirken, nachdem dort diese Impfung durch die im Jahre 1919 bei 3 Rindern und im Vorjahre bei 18 Rindern

1) Vortrag, gehalten in der Gesellschaft der Tierärzte in Wien, am 14. November 1921.

aufgetretenen Erkrankungsfälle schon recht erheblich in Verruf geraten war. Um also ein neuerliches Auftreten anaphylaktischer Erscheinungen bei den zumeist schon öfter mit Pferdeimmunserum vorgeimpften Tieren hintanzuhalten, mußte für diesen Zweck ein anallergisches, also ein nicht wie bisher beim Pferde, sondern bei einer anderen Tierart hergestelltes Milzbrandimmunserum zur Anwendung kommen. Es war nahelegend, ein solches Immunserum vom Rind zu gewinnen, das als artgleiches Serum von vornherein in dieser Hinsicht als besonders geeignet erachtet werden mußte. Das für die Immunisierung anzukaufende Rind sollte aber gleichzeitig auch als Studienobjekt für meine Anaphylaxieversuche dienen und deshalb wurde für unser Institut eine der im Vorjahre nach der Milzbrandschutzimpfung unter den schwersten anaphylaktischen Symptomen erkrankten Kühe aus Uttendorf im Mattigtale, die übrigens schon vorher einmal im Frühjahr 1919 anaphylaktisch gewesen war, käuflich erworben.

Da sich die bestehenden Meinungen darüber, ob bei Rindern, die bereits einmal anaphylaktisch gewesen sind, späterhin neuerlich Anaphylaxie auftreten kann, widersprechen, wurden dem Rind am 22. November 1920, alsbald nach seiner Ankunft im Institut, 5 ccm Milzbrandimmunserum vom Pferd an der linken Halsseite subkutan injiziert, wodurch schwerste und äußerst bedrohliche anaphylaktische Erscheinungen ausgelöst werden konnten. Das Rind zeigte demnach neuerdings, und zwar schon zum dritten Male, die gleichen Krankheitserscheinungen nach Einverleibung von Pferdeimmunserum.

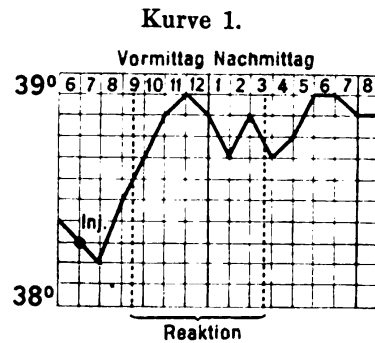
$\frac{1}{2}$ Stunde nach erfolgter Injektion des Pferdeimmunserums begann das Rind ängstlich zu brüllen. Im Verlaufe einer weiteren Stunde stellten sich Unruheerscheinungen ein, die sich allmählich steigerten. Zunächst zitterte das Tier am ganzen Körper, dann trippelte es beständig umher; führte plötzlich Sprünge aus und schlug wie rasend um sich, so zwar, daß der starke lederne Halsriemen der Anhängervorrichtung zerrissen wurde. Nahezu momentan entwickelte sich dann unter heftigem Juckreiz an der Haut im Bereiche des Halses, der Schulter, der Brust- und Bauchgegend eine Eruption verschieden großer, dicht beisammen liegender Quaddeln, nachdem schon vorher an der Injektionsstelle eine mächtige ödematöse Anschwellung von der Gestalt und Größe eines Brotlaibes aufgetreten war. An verschiedenen Körperstellen kam es zur Ausbildung von Ödemen, namentlich an den Augenlidern, und zwar so stark, daß die Augen fast vollständig geschlossen waren, ferner in der After- und Schamgegend und

am Euter. Die sichtbaren Schleimhäute waren dunkelblaurot verfärbt, besonders die Scheiden- und Mastdarmschleimhaut nahezu von schwarzroter Farbe. Während des Anfalles erfolgte häufiger Harn- und Kotabsatz. Diese Krankheitserscheinungen hielten durch nahezu 2 Stunden mit unverminderter Heftigkeit an. Dann aber beruhigte sich das Rind allmählich, im Liegen setzte Wiederkauen ein und es erfolgte verhältnismäßig rasch die Rückbildung der Urticaria und der Oedeme, so daß nach einer sechsstündigen Dauer des Anfalles sämtliche Merkmale der bestandenen schweren Erkrankung vollkommen unkenntlich geworden waren und das Rind wieder ein durchaus normales Verhalten an den Tag legte.

Die Körpertemperatur des Rindes war an diesem Tage vom frühen Morgen an, also auch während des Anfalles, in $\frac{1}{4}$ -stündigen Pausen gemessen worden, ohne daß sich dabei wesentliche Verschiedenheiten gegenüber der Norm ergeben hätten. Nur während jener Zeit, innerhalb welcher die vorhin geschilderten klinischen Symptome zu verzeichnen waren, und noch einige Stunden darüber hinaus, war die Körpertemperatur um ein geringes angestiegen, ohne jedoch febril zu werden.

Am 23. November 1920, also 24 Stunden später, erhielt das Rind unter den ganz gleichen Verhältnissen wie am Vortage neuerlich 5 ccm der gleichen Op.-Nummer des Pferd milzbrandimmenserums subkutan injiziert, ohne daß in seinem Verhalten die mindeste Veränderung hätte ermittelt werden können. Gegenüber einer am selben Nachmittag vorgenommenen intravenösen Injektion des gleichen Serums in der Dosis von 5 ccm erwies sich das Tier gleichfalls refraktär.

Dieses Verhalten wurde nach unseren Kenntnissen von der Anaphylaxie als antianaphylaktischer Zustand gedeutet. Es wurde nun des weiteren versucht, die Dauer dieses Stadiums der Unempfindlichkeit gegenüber dem Pferd milzbrandimmenserum festzustellen. Deshalb wurden in der Folge dem Rind in Zwischenräumen von 2—3 Wochen wiederholt je 5 ccm des Pferdeimmenserums subkutan appliziert. Erst am 13. März 1921, also mehr als $3\frac{1}{2}$ Monate später, sind bei diesem Tiere abermals 2 Stunden nach Injektion des Serums die gleichen Erscheinungen aufgetreten, wie sie gelegentlich des vorigen



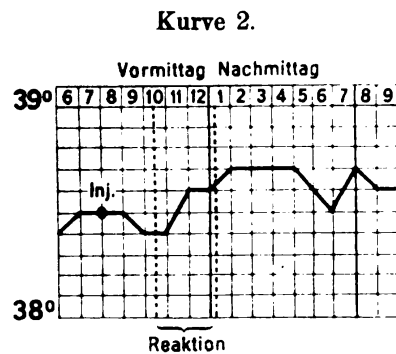
Rind, 5 ccm Pferdeserum sk.
22. XI. 1920.

Anfalles beobachtet worden sind, die durch 3 Stunden, jedoch in erheblich geringerem Grade, andauerten. Die Körpertemperatur erhöhte sich inzwischen nur um wenige Zehntelgrade.

So wie vorhin, verhielt sich das Rind am Tage nach diesem Anfall wie auch in den folgenden Wochen refraktär gegenüber subkutanen und intravenösen Injektionen des gleichen Antigens, bis erst am 9. Juni 1921, das ist nahezu nach 3 Monaten, durch eine solche subkutane Injektion wieder ein gleichgearteter anaphylaktischer Anfall, nunmehr also zum 5. Male, ausgelöst werden konnte. Diesmal waren $2\frac{3}{4}$ Stunden verstrichen, ehe die ersten klinischen Symptome bemerkbar wurden. Auch in diesem Falle war der Verlauf der $2\frac{1}{2}$ Stunden

dauernden Erkrankung milder als bei dem erstmals im Institute versuchsweise provozierten Anfall.

Weder die bisher in der Praxis gemachten Beobachtungen, noch die Ergebnisse meiner vorangeführten Versuche geben uns Gewißheit darüber, ob es sich bei diesen nun schon wiederholt geschilderten Krankheitserscheinungen bei Rindern nach Re-



Rind, 5 ccm Pferdeserum sk.
9. VI. 1921.

injectionen von artfremdem Immunserum um eine echte Anaphylaxie handelt, wenngleich der ganze Symptomenkomplex den bekannten Erscheinungen der Anaphylaxie ungemein ähnlich ist und auch das beim Rind nach jedem solchen Anfall festgestellte Stadium der Unempfindlichkeit einer Antianaphylaxie gleichzukommen scheint. Erst das Gelingen einer passiven Uebertragung der Ueberempfindlichkeit von Rindern gegen das Pferd milzbrandimmunserum auf kleine Versuchstiere würde uns berechtigen, die nach Reinjektion von Pferdeimmunserum bei Rindern auftretenden Krankheitserscheinungen als echte Anaphylaxie zu klassifizieren. Von diesem Gedanken ausgehend, wurde meinem Versuchsrind, unmittelbar bevor eine Injektion von Pferdeimmunserum erfolgte, Blut zwecks

Gewinnung anaphylaktischen Serums entnommen. Diejenigen Sera vom Rind, die am Tage des Auftretens eines der vorhin erwähnten Anfälle, vor der Injektion des Pferdeimmunserums gewonnen worden waren, sind dann für die Versuche der passiven Uebertragung der Ueberempfindlichkeit des Rindes auf kleine Laboratoriumstiere in Anwendung gekommen.

Mit je 3—5 ccm dieser Sera, in denen das Vorhandensein des die Ueberempfindlichkeit des Rindes bedingenden Reaktionskörpers mit Sicherheit angenommen werden darf, wurden mehrere Reihen von Meerschweinchen und Kaninchen subkutan, intravenös und intraperitoneal sensibilisiert, um dann zu den verschiedensten Zeiten, 1 Stunde bis 14 Tage nach der sensibilisierenden Injektion von Serum des überempfindlichen Rindes, mit 6 bis 10 ccm des Pferd milzbrandimmunserums injiziert zu werden. Als Kontrollen dienten solche Tiere, die mit normalem Rinderserum sensibilisiert worden waren.

Das Ergebnis dieser Versuche muß als negativ bezeichnet werden, da keines der Versuchstiere Reaktionen gezeigt hat, die als positiver Ausfall der passiven Uebertragung der Ueberempfindlichkeit des Rindes hätten gedeutet werden können und da außer den Kontrolltieren auch alle übrigen Meerschweinchen und Kaninchen überlebend geblieben sind. Die Versuche über die Möglichkeit einer passiven Uebertragbarkeit dieser Ueberempfindlichkeit beim Rind betrachte ich damit jedoch noch keineswegs als abgeschlossen, um so weniger als sich aus den folgenden Ausführungen ergibt, daß diese Ueberempfindlichkeit individuell außerordentlich verschieden ist, so daß erst die Prüfung eines genügend zahlreichen Rinder- und Pferdmaterials unter Hinzuziehung großer Versuchsreihen von kleinen Laboratoriumstieren in dieser Hinsicht ein abschließendes Urteil gestatten wird. Bei den gegenwärtig unerschwinglichen Kosten solcher Massenversuche muß aber die weitere Verfolgung dieser Frage aufgeschoben werden.

Daß die bei den simultan mit Serum und Kultur geimpften Rindern beobachtete Ueberempfindlichkeit möglicherweise auch eine Folge der Milzbrandkulturinjektion sein oder daß die Milzbrandkultur prädisponierend auf das Zustandekommen dieser Reaktionen wirken könnte, war im vorhinein wenig wahrscheinlich, da meines Wissens überall dort, wo nach der Pasteurschen Methode, also mit Milzbrandvakzin I und II allein geimpft worden ist, ähnliche Reaktionen wie die

nach der Serovakzination auftretenden nicht beobachtet worden sind. Trotzdem bin ich auch dieser Frage näher getreten, und ich kann berichten, daß mein Versuchsrind durch wiederholte subkutane und intravenöse Injektionen der Aufschwemmungen verschiedener Milzbrandkulturen in der Dosis von 1 Oese bis zu 4 Petrischalen wohl ganz vorzüglich immunisiert worden ist und heute ein hochwertiges Milzbrandimmunserum liefert, daß aber irgendwelche an Anaphylaxie erinnernde Symptome nach den Kulturinjektionen niemals wahrzunehmen waren.

So weit waren meine Untersuchungen gediehen, als ein Ereignis eintrat, auf das meine weiteren Versuche zurückzuführen sind.

2 Rinder einer Herde im Bezirke Bruck a. L. waren einer Milzbrandinfektion auf der Weide zum Opfer gefallen. Daraufhin wurde die aus 23 Stück Rindern einer Kuhländer-Bernerkreuzung bestehende Herde unverzüglich der Notimpfung unterzogen, die von Herrn Tierarzt R. Plaim mit Mödlinger Pferdeimmunserum ausgeführt wurde. Jedes der Tiere erhielt 12 ccm des Impfstoffes subkutan an der Seitenfläche des Halses. Während der Impfung des 23. Rindes wurde gemeldet, daß die als erste vor 50 Minuten geimpfte Kuh zusammengestürzt sei. Die Besichtigung des inzwischen binnen weniger Minuten verendeten Tieres ergab folgenden Befund:

Starke Aufblähung, Verschwellung der Augenlider, die Zunge blaurot verfärbt aus dem mit Schaum und Speichel erfüllten Maule hängend, Urticaria über den ganzen Körper, After und Scheide ödematös geschwollen, Zyanose.

Zerlegungsbefund: Gelbsulzige Infiltrationen im Unterhautbindegewebe an den ödematösen oder mit Quaddeln besetzten Körperstellen. Die Lunge auffallend stark vergrößert, hell gefärbt, emphysematös, unter der Pleura pulmonalis zahlreiche kleine Blutungen. Die übrigen Organe o. B.

Das 5. und 6. ebenso wie das 11. und 12. Rind zeigten, 30 Minuten nach der Seruminjektion beginnend, gleichfalls Verschwellung der Augen, Speichelfluß, Urticaria und Oedeme um After und Wurf, die 12. Kuh überdies auch Tympanitis. Die Erscheinungen hielten durch 2 Stunden an, um dann allmählich zurückzugehen. Außerdem waren noch einige andere Rinder leichtgradig erkrankt, bei denen eine Reaktion aber nur an starkem Speichelfluß und leichter Unruhe kenntlich war.

Diese Vorfälle stimmen mit den schon bekannten vollkommen überein, und sie würden daher kaum verdienen besonders angeführt zu werden, wenn sie nicht durchwegs Rinder betreffen würden, die außer einer vor Jahresfrist erfolgten Impfung gegen infektiösen Abortus mit dem Reisingerschen Abortusimpfstoff (Vakzine aus dem Bangschen Abortusbazillus) noch keiner Impfung, insbesondere aber keiner Serumimpfung unterzogen worden waren. Die Erhebungen waren in diesem Falle deshalb leicht zu führen, weil die Rinder der Eigenzucht des Besitzers entstammten, bei dessen gesamtem Viehbestand schon seit Jahren der die Notimpfung durchführende Kollege Plaim zu Rate gezogen wurde.

Bei der 8 Tage später überdies noch als Schutzimpfung vorgenommenen Serovakzination der restlichen 22 Rinder ist in einem Uebermaße von Vorsicht bei einem Teil derselben Rinderimmunserum, bei den übrigen Pferdeimmunserum, letzteres in fraktionierten Dosen, zur Anwendung gekommen. Diese Impfung ist denn auch, wie vorauszusehen war, vollkommen reaktionslos verlaufen. Ihr Ergebnis wäre vermutlich auch nicht anders ausgefallen, wenn je 5 ccm des Pferdeimmunserums ohne jedwede Vorsichtsmaßnahmen verimpft worden wären, da bekanntlich die anaphylaktisierende Dosis größer sein muß, als die sensibilisierende, in unserem Falle aber das umgekehrte Verhältnis bestanden hat, nachdem zur Notimpfung (sensibilisierende Dosis) 12 ccm, zur nachträglichen Schutzimpfung (anaphylaktisierende Dosis) 5 ccm Pferdeimmunserum verbraucht worden sind. Bei den gelegentlich der Notimpfung reaktionslos verbliebenen Rindern hätte die Gefahr eines anaphylaktischen Anfalles auch deshalb nicht bestanden, weil das Inkubationsstadium der Anaphylaxie länger als 8 Tage dauert. Von jenen Rindern aber, die auf die Notimpfung reagiert haben, wäre die Reinjektion des Pferdeimmunserums gleichfalls anstandslos vertragen worden, da sie sich während dieser Zeit gegen die neuerliche Injektion desselben Serums refraktär verhalten hätten.

Weitere 24 Rinder eines anderen Stalles desselben Besitzers, die gleichzeitig erstmals unter Anwendung von Rinderimmunserum simultan schutzgeimpft worden sind, sind vollkommen gesund geblieben.

Ich fühle mich verpflichtet, Herrn Kollegen Plaim an dieser Stelle für das mir bewiesene Entgegenkommen gelegentlich der Erhebungen dieser Fälle und bei den Impfungen im Seuchenhofe bestens zu danken.

Die heuer im Frühjahr erfolgte Milzbrandschutzimpfung von 268 Rindern des Mattigtals in Oberösterreich, für welche, wie eingangs erwähnt wurde, ausschließlich Immunsérum vom Rind in Verwendung genommen worden ist, hat nach den eingelangten Berichten den erwarteten Erfolg gehabt, da sämtliche Impflinge vollkommen gesund geblieben sind, im Gegensatz zu den dort in den letzten Jahren durchgeführten Schutzimpfungen mit Pferdeimmunsérum, auf die sich, wie schon berichtet wurde, schwere Erkrankungsfälle ereignet haben.

Der Uebersichtlichkeit halber wurden in der nachstehenden Tabelle die Daten über die in den Jahren 1919–1921 bei Rindern mit Mödlinger Impfstoffen vorgenommenen Milzbrandschutzimpfungen, soweit sie verlässlich kontrolliert werden konnten, zusammengestellt.

| Ort | Jahr | Immunsérum vom | Zahl der Impflinge | Mit anaphylaktischen Symptomen reagierten | Anmerkung |
|-------------|------|----------------|--------------------|---|-------------------------------|
| Mattigtal | 1919 | Pferd | 851 | 3 (0,35 Proz.) | — |
| | 1920 | „ | 316 | 18 (5,70 „) | — |
| Brück a. L. | 1921 | „ | 23 | 5 (21,73 „) | Erstmalige Impfung der Rinder |
| | 1921 | Rind | 24 | — | |
| Mattigtal | 1921 | „ | 268 | — | — |

Auf die Gesamtheit unserer Beobachtungen hin braucht wohl nicht erst besonders betont werden, daß in Zukunft für die Impfung von Rindern nur artgleiches Sérum in Betracht kommen kann, während die Anwendung von Pferdesérum für diesen Zweck unter allen Umständen zu unterbleiben hat.

Es war nun naheliegend, auch das Verhalten anderer Tierarten nach parenteraler Einverleibung artfremden Sérums eingehender als es bisher geschehen ist, zu prüfen. Ich habe deshalb in der Folge nach und nach auch 42 Pferde in den Gang der Untersuchungen einbezogen, obzwar bei Pferden in der Praxis kaum jemals heterologe Séra zur Anwendung kommen und aus diesem Grunde ernsthafte Folgen einer

Serumimpfung nicht zu befürchten sein dürften. Dennoch halte ich auch diese Versuche für belangreich, da hieraus ein Rückschluß auf die Wirkung der bei der Proteinkörpertherapie zur Injektion kommenden artfremden Eiweißarten (z. B. Kuhmilch) statthaft sein dürfte.

Am 23. Juni 1921 wurden bei einem zur Schlachtung bestimmten Schweinerotlaufserumpferde zum ersten Male 5 ccm Rindermilzbrandimmuns-
serum an der seitlichen Halsfläche subkutan injiziert. 2 $\frac{1}{2}$ Stunden hernach waren bei dem Tier Unruheerscheinungen wahrzunehmen, die sich allmählich zusehends steigerten. Das Pferd schlug um sich, stieg in die Krippe und zeigte überaus heftigen Juckreiz. Nahezu über den ganzen Körper, an beiden Halsseiten, Schultern, Außen- und Innenfläche beider Vorderextremitäten, Vorder-, Seiten- und Unterbrust, Flanken, Unterbauch, Kruppe und Innenfläche der hinteren Extremitäten entwickelte sich in kürzester Zeit ein hochgradiger Quaddelausschlag. Die sichtbaren Schleimhäute waren dunkelrot gefärbt und glasig geschwollen. After- und Schamgegend diffus ödematös geschwollen. Während des Anfalles wurde öfter Harn und Kot abgesetzt. Allmähliches Abklingen und vollständiges Verschwinden der Krankheitserscheinungen im Verlauf von weiteren 6 $\frac{1}{2}$ Stunden.

Ein gleichzeitig in ganz der gleichen Weise mit Rinderimmuns-
serum behandeltes Versuchspferd zeigte 3 Stunden nach vorgenommener Injektion ebenfalls ein geringgradiges Exanthem, das sich jedoch nur auf die Seitenfläche der Brustwandungen, die Kruppe und die Innenfläche der Oberschenkel beschränkte. Unter ähnlichen Bedingungen sind dann noch 40 andere Pferde mit Rindermilzbrandimmuns-
serum, Rekonvaleszentens-
serum von Rindern, wie es gegenwärtig zur Impfung gegen die böartige Form der Maul- und Klauenseuche in Anwendung kommt, und normalem Rinderserum in der Dosis von 5 ccm subkutan geimpft worden. Von diesen 42 Pferden reagierten 14 (33,3 Proz.), gleichgültig welche von den 3 Arten der Rindersera im einzelnen Falle injiziert worden war, in ganz der gleichen Weise, wie das zuerst erwähnte Pferd. Dabei konnte auch die Feststellung gemacht werden, daß es unrichtig ist, wenn behauptet wird, daß Sera, die über 2 Monate gelagert haben, erheblich an Giftigkeit abnehmen. Die von mir verwendeten bis zu 1 Jahr alten Sera entfalteten die gleiche Giftwirkung, wie die jüngeren Datums. Unterschiede ergaben sich nur hinsichtlich des Grades der Reaktion, insofern als sich dieselbe bei einzelnen Pferden ausschließlich auf ein mehr

oder weniger stark entwickeltes Exanthem mit Hyperalgesie der Haut beschränkte, während bei anderen außerdem auch noch andere Symptome, wie Schweratmigkeit, Zyanose und Oedeme zu beobachten waren. Nach wenigen Stunden schon waren in jedem Falle die krankhaften Erscheinungen wieder

Fig. 1.



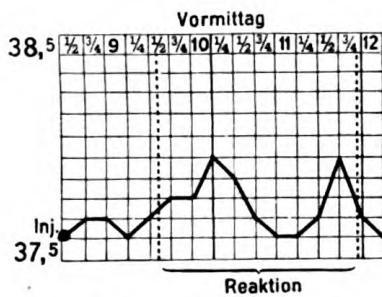
Fig. 2.



Fig. 1 und 2. Abbildungen von Pferden, bei denen nach subkutaner Injektion von je 5 ccm Rinderserum neben anderen Erscheinungen der Ueberempfindlichkeit gegen artfremdes Serum Urticaria aufgetreten ist.

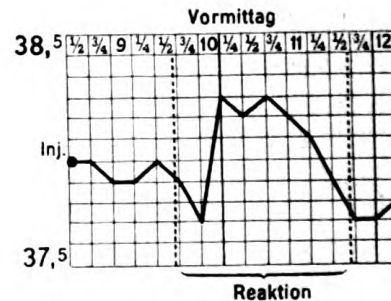
vollständig zurückgebildet. Während derartiger Erkrankungen ergaben oftmalige thermometrische Messungen nur außerordentlich geringe Schwankungen der Körpertemperatur. Temperatursturz oder Fieber war nie aufgetreten.

Kurve 3.



Pferd, 5 ccm Rinderserum sk.
28. IX. 1920.

Kurve 4.



Pferd, 5 ccm Rinderserum sk.
3. X. 1920.

Die durch Injektion größerer Serummengen (10—20 ccm) erzeugten Krankheitsbilder waren der Art und dem Grade nach ganz die gleichen, wie die nach einer Dosis von 5 ccm entstandenen.

Von 5 mit je 5 ccm Menschenserum, das ich durch Blutentnahmen aus Armvenen bei mir selbst und bei meinen Institutskollegen gewonnen habe, subkutan behandelten Pferden reagierte eines prompt mit Urticaria. Ein mit 5 ccm Kaninchenserum injiziertes Pferd zeigte gleichfalls einen starken Quaddelausschlag. Bei 7 mit derselben Dosis von normalem Schweineserum geimpften Pferden konnte keine Reaktion verzeichnet werden.

So wie das Rind, erwiesen sich auch die auf die erste Injektion des artfremden Serums reagierenden Pferde vom Ablauf der hierbei auftretenden Krankheitserscheinungen an auf längere Zeit unempfindlich gegen wiederholte Einverleibung desselben Serums. Bei Reinjektionen der Sera in Zwischenräumen von 14—24 Tagen, bzw. 4 Wochen verhielt sich die Mehrzahl der überempfindlich befundenen Pferde refraktär, hingegen konnte bei der 2. Impfung nach 23 Tagen bei einem der Pferde, bzw. nach 34 Tagen bei zweien der Tiere schon wieder eine neuerliche, in Form einer Urticaria auftretende Reaktion ausgelöst werden. Im allgemeinen ist die Dauer des Stadiums der Unempfindlichkeit gegen artfremdes Serum beim Pferd kürzer befunden worden, als beim Rind.

Sowohl bei dem Versuchsrind als auch bei den Pferden konnte übereinstimmend die Erfahrung gemacht werden, daß die nach Wochen oder Monaten nach einer Serumreaktion neuerlich auftretende Ueberempfindlichkeit gegen das gleiche heterologe Serum zunächst äußerst geringgradig entwickelt ist, um dann späterhin ganz allmählich bis zu einem gewissen Grenzwert an Intensität zuzunehmen, da jene Reaktionen, die in einem früheren Zeitpunkte dieser erneuten Ueberempfindlichkeit ausgelöst werden, graduell viel schwächer ausfallen, als die bei längerem Zuwarten nach einem solchen Anfälle bei denselben Tieren erzielten Reaktionen.

Wie sich ferner gezeigt hat, ist die Unempfindlichkeit gegen artfremdes Serum im Gefolge einer Ueberempfindlichkeitsreaktion streng spezifisch, da es mir gelungen ist, bei einem

Pferde 2 Tage nach einer durch Rinderserum hervorgerufenen Allgemeinreaktion, zu welcher Zeit es sich nach wiederholter Einverleibung des Rinderserums gegen dasselbe refraktär verhielt, durch subkutane Injektion von 5 ccm Kaninchenserum ein heftige Urticaria hervorzurufen. Ein im Beginne der Immunisierung stehendes Schweinerotlaufserumpferd („Martha“) reagierte nach einer der ersten immunisierenden Dosen einer Bouillonkultur von Schweinerotlaufbazillen mit einem mächtigen, über den ganzen Körper verbreiteten Nesselausschlag. Bei der 48 Stunden später versuchsweise applizierten subkutanen Injektion von 5 ccm Rinderserum, wo dieses Exanthem schon längst verschwunden war, wurde neuerlich, wenn auch in schwächerem Grade, das Auftreten einer Urticaria beobachtet.

Schließlich wurden der Vollständigkeit halber bei 6 Pferden je 5 ccm Rinderserum erstmals intravenös injiziert, um zu beobachten, ob sich bei der direkten Einbringung des artfremden Serums in die Blutbahn Besonderes ereignen würde. Bei 2 Pferden trat eine sichtbare Reaktion nach der intravenösen Injektion des Rinderserums überhaupt nicht ein, 4 Pferde aber reagierten heftig in ganz der gleichen Weise, wie die in den vorhin besprochenen Fällen mit Juckreiz, Nesselausschlag, Schweratmigkeit u. a. m. Diese Erscheinungen traten bei 3 Tieren sehr rasch nach erfolgter Einspritzung auf, und zwar in 9, 10 und 14 Minuten, während bei dem 4. Pferde erst nach einer Stunde der Beginn der Erkrankung feststellbar war. In jedem Falle aber war die Inkubationszeit der Erkrankung, wenn ich von einer solchen sprechen darf, hier auffallend kürzer als jene, die sich nach subkutaner Injektion ergibt.

Bei einem Pferde, dem am 25. Juni 1921 5 ccm Rinderserum subkutan injiziert worden sind, worauf es mit einer leichtgradigen Urticaria reagierte, erhielt versuchsweise am 4. Oktober 1921 10 ccm Rinderserum intravenös, mit dem Effekt, daß nach Ablauf von 1 Stunde an verschiedenen Körperstellen ein mittelstarker Quaddelausschlag aufgetreten ist. Stürmische und lebensbedrohende Erscheinungen einer Anaphylaxie, wie wir sie bei der gleichen Versuchsanordnung an kleinen Laboratoriumsversuchstieren erwarten würden, waren nicht zu verzeichnen. Es hatte also eine intravenöse Reinjektion

von Rinderserum beim Pferde, die unter Bedingungen erfolgt war, welche einen schweren anaphylaktischen Anfall hätten vermuten lassen, Erscheinungen von Ueberempfindlichkeit zur Folge, die in ihrem Charakter vollständig übereinstimmen mit jenen Symptomen von Serumüberempfindlichkeit, wie sie sich bei großen Haustieren nach subkutanen Reinjektionen heterologen Serums und gelegentlich bei manchen von ihnen, auch nach erstmaliger Injektion eines artfremden Serums einstellen.

Damit bin ich mit der Mitteilung meiner eigenen Untersuchungsbefunde zu Ende, und ich möchte, ehe ich abschließe, kurz noch auf einige Literaturangaben zu sprechen kommen.

Auf die eigentümlichen, unmittelbar nach Serumimpfung von Rindern sich ergebenden Reaktionserscheinungen ist man schon seit Jahren aufmerksam geworden. Die hierüber in der Literatur enthaltenen Angaben stimmen in vieler Hinsicht miteinander überein. Namentlich über ihren anaphylaktischen Charakter besteht kaum eine Meinungsverschiedenheit. Versuche, das Wesen dieser Erkrankungen eingehender zu studieren, sind aber meines Wissens nicht zur Durchführung gekommen. Viel mehr als die Tatsache, daß besonders solche Tiere, am häufigsten Rinder nach Impfung mit Milzbrand(Pferde)serum, auf die Seruminjektionen reagieren, die nach längeren Zwischenpausen wiederholt geimpft werden, daß aber auch mitunter bei einzelnen Individuen in erstmals geimpften Beständen solche Erscheinungen wahrzunehmen sind, und daß die Einverleibung von artfremdem Serum diese Anfälle verursacht, ist bisher nicht bekannt geworden (Sobernheim, Jensen u. a.). Ueberall dort, wo nach dem Vorschlage Sobernheims mit dem der betreffenden Tierart homologen Serum geimpft worden ist, sind Reaktionen der beschriebenen Art nicht mehr beobachtet worden.

Die Angabe im Lehrbuche von Hutyra-Marek, wonach die bei Tieren beobachteten Fälle von Serumüberempfindlichkeit zumeist von einer Serumidiosynkrasie oder Diathese herrühren, während echte Anaphylaxie seltener vorkommt, möchte ich auf Grund meiner Versuchsergebnisse dahin erweitern, daß ein Auftreten von echter Anaphylaxie unter den gelegentlich von Serumimpfungen in der Praxis beobachteten Bedingungen bisher noch nicht mit Sicherheit festgestellt worden ist.

Wenn wir daran festhalten, daß als echte Anaphylaxie nur jene Fälle von Ueberempfindlichkeit gegen artfremdes Serum zu bezeichnen sind, die nach erfolgter Sensibilisierung des Organismus mit solchem Serum, nach Ablauf einer gewissen Inkubationszeit, im Anschlusse an eine Reinjektion desselben heterologen Serums auftreten, so müssen wir recht oder

schlecht die nach Erstinjektionen mit artfremdem Serum gelegentlich bei manchen unserer Haustiere sich einstellenden Reaktionen, trotzdem unstreitbar ihr anaphylaktischer Charakter nicht von der Hand zu weisen ist, von der echten Anaphylaxie trennen und mit einem Sondernamen bezeichnen. Ich halte es für angebracht, die von Pirquet und Schick für derartige Erkrankungsfälle bei Menschen gewählte Bezeichnung „Serumkrankheit“ auch für die nach Injektion von artfremdem Serum, jedenfalls aber für die nach Erstinjektion desselben bei unseren Haustieren auftretenden Reaktionen allgemein und gleichmäßig in Anwendung zu bringen. Nicht nur infolge der ätiologischen Gleichheit, sondern auch in Anbetracht der vielen Aehnlichkeiten, welche die bei Menschen und Tieren nach Einverleibung artfremder Sera entstehende Krankheit aufzuweisen hat, dürfte dieser Vorschlag nicht ungerechtfertigt erscheinen. Ich bin der Ansicht, daß die wenigen Verschiedenheiten, wie das relativ lange, bis zu 12 Tagen dauernde Inkubationsstadium, die lange Dauer der Krankheit selbst und die sogenannte beschleunigte Reaktion nach Reinjektionen, die sich durch kürzere Inkubation und stürmischere Krankheitserscheinungen kundgibt, durch die sich die Serumkrankheit des Menschen von der bei unseren Haustieren vorkommenden unterscheidet, da wir ja diese Eigentümlichkeiten bei unseren Haustieren vermissen, nicht der Anlaß sein sollen, um nach einer anderen Bezeichnung für diese Reaktionen bei den Haustieren zu suchen.

Wenn ferner in der Literatur Angaben gemacht werden, daß manchmal sogar auf arteigenes, jedoch körperfremdes Blutserum (also auf Serum von der gleichen Tierart, aber von einem anderen Individuum) schwere Vergiftungserscheinungen, die als Isoanaphylaxie bezeichnet worden sind, zu beobachten waren, so dürften dieselben unzutreffend sein. Ich verfüge reichlich über Erfahrungen hinsichtlich der Verimpfung homologer Sera, doch habe ich derartiges niemals eintreten gesehen. Es erscheint vielmehr naheliegend, daß in solchen Fällen Mischsera zur Anwendung gekommen sind. Wenigstens ersehe ich dies aus einer Mitteilung Bartels (Deutsche tierärztl. Wochenschr., 1909), der nach Impfung von Pferden mit Willerdingschem Brustseuchenserum bei 30 Proz. aller

Impflinge die uns wohlbekannten Erscheinungen der Serumkrankheit auftreten sah. Da das Willerding'sche Brustseuchenserum durch Immunisierung von Pferden und Rindern mit Diplokokken gewonnen wurde, also ein Mischserum darstellte, ist die beobachtete Erkrankung einzelner Tiere im Gefolge der Impfung weiter nicht verwunderlich.

Erst kürzlich ist in der Münch. med. Wochenschr. (1921, No. 39, p. 1244) eine Arbeit von R. Kraus, Bonorino Cuenca und A. Sordelli erschienen, aus der hervorgeht, daß nicht nur normales Rinderserum bei der Behandlung des menschlichen Milzbrandes, sondern auch das von Rindern gewonnene antitoxische Diphtherie- und Tetanusserum bei der prophylaktischen und kurativen Behandlung im Gegensatz zum Diphtherie- bzw. Tetanuspferdeserum relativ nur selten die gefürchtete Serumkrankheit hervorruft. Diese Erfahrungen treffen nach meinen Versuchsergebnissen auf die Anwendung von Rinderserum beim Pferd nicht zu, doch kann als feststehend die Tatsache angeführt werden, daß das Rinderserum bei Pferden mildere Formen der Serumkrankheit auslöst, die sich hier nicht selten auf eine Urticaria allein beschränkt, daß also das Rinderserum beim Pferd in geringerem Maße toxisch wirkt, als umgekehrt das Pferdeserum beim Rind. Die Impfung von Rindern mit Pferdeserum hat ja bekanntlich nicht allein häufig schwerste Krankheitserscheinungen, sondern mitunter auch den Tod der Impflinge zur Folge.

Auf meine im Januar 1921 in der Berliner tierärztlichen Wochenschrift veröffentlichte Mitteilung über die nach Schutzimpfungen gegen Milzbrand bei Rindern des Mattigtales in Oberösterreich aufgetretenen Erkrankungsfälle sind in No. 14 derselben Wochenschrift Bemerkungen von Dr. M. Jöhns erschienen, die den anaphylaktischen Charakter der von mir bei den reagierenden Tieren angeführten Krankheitssymptome in Frage zu stellen geeignet sind. Der Anschauung Jöhns, daß es sich in diesen Fällen einfach um „die Urticaria des Rindes“ gehandelt hat, die er beispielsweise auch nach dem Abdasseln von Rindern gesehen hat, kann ich nicht beipflichten, da nicht die Erscheinungen einer Urticaria allein die sich hier ergebenden Krankheitsbilder beherrschen und weil ferner auch bei Pferden durch artfremdes Serum die gleichen Symptome

in die Erscheinung treten. Ganz abgesehen davon, müßte meines Erachtens der Ausdruck „die Urticaria des Rindes“ eine ätiologisch einheitliche Ursache zur Voraussetzung haben.

Wenn wir bedenken, wie häufig Serumkrankheit nach Injektion von artfremdem Serum bei unseren großen Haustieren auftritt, muß es in hohem Maße befremden, daß wir gelegentlich der ständigen prophylaktischen und kurativen Massenimpfungen von Schweinen kaum jemals von Reaktionen im Zusammenhang mit den unter Anwendung von Pferde-rotlaufserum vorgenommenen Injektionen Kunde erhalten. Die Fälle, in denen über solche Vorkommnisse im Anschlusse an die Rotlaufimpfung berichtet worden ist, lassen sich an den Fingern einer Hand aufzählen (Jensen, Koudelka, Roos). Sie stehen daher in keinem Verhältnisse zu den Tausenden und Abertausenden von Rotlaufimpfungen im Verlaufe einer einzigen Impfsaison. Sollte das Schwein von Haus aus so unempfindlich sein gegen die parenterale Einverleibung von heterologem Serum oder gelangen die Krankheitssymptome bei dieser Tierart nur so undeutlich zur Entwicklung, daß sie der Beobachtung leicht entgehen? Ich möchte am ehesten glauben, daß das letztere der Fall ist. Ich selbst habe oft beobachtet, daß bei Schweinen in den ersten Stunden nach erfolgter Serumimpfung die Kennzeichen eines besonderen Unbehagens wahrzunehmen sind, wo die Tiere Apathie, die Sucht, zu liegen, Unlust zum Fressen u. dgl. mehr zeigen. Aber auch Affektionen der Haut stellen sich zuweilen ein. Daß darüber wenig oder nichts zu unserer Kenntnis gelangt, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß mancher Hautausschlag nach Serumimpfung des Schweines auf Rechnung der exanthematischen Form des Schweinerotlaufs, der sogenannten Backsteinblattern, gesetzt wird, der in Wirklichkeit eine Ueberempfindlichkeitsreaktion nach Injektion des Pferdeimmunserums darstellen dürfte. Es wäre daher in Zukunft von Interesse, wenn die Impftierärzte und Tierbesitzer das Verhalten von Schweinen nach Impfungen genau beobachten und darüber berichten würden. Besonders günstig gestalten sich hierfür die Verhältnisse dann, wenn in größeren Intervallen aufeinander folgend gegen zwei Schweinekrankheiten mit Immunseris von derselben Tierart geimpft wird, wie dies in neuester Zeit in Oesterreich, wo außer dem Stäbchenrotlauf

auch die Schweineseuche gehäuft auftritt, der Fall ist, und wo sowohl das Rotlaufserum als auch das Schweineseucheserum von Pferden gewonnen wird, ebenso wie man auch besonders dann das Auftreten von Serumkrankheit beim Schwein erwarten sollte, wenn trotz vorgenommener Rotlaufschutzimpfung späterhin dennoch eine Erkrankung von Schweinen an Stäbchenrotlauf erfolgt ist, die mit relativ großen Dosen von Pferdeimmunserum behandelt wird. Da wir derzeit die Kosten der Beschaffung von Schweinen zu Versuchszwecken nicht erschwingen können, sind wir darauf angewiesen abzuwarten, ob uns auf diese Anregung hin aus der Praxis Mitteilungen über das Vorkommen von Ueberempfindlichkeitsreaktionen beim Schwein nach Injektionen von Pferdeimmunserum zahlreicher zukommen werden als bisher.

Schließlich und endlich sei es mir noch gestattet, im Zusammenhange mit der bei unseren Haustieren vorkommenden Serumkrankheit die in neuerer Zeit in der Veterinärmedizin so sehr in Schwung gekommene Proteinkörpertherapie zu berühren. Wie aus den von mir mitgeteilten Beobachtungen und Versuchen klar hervorgehen dürfte, birgt die Einleitung einer Proteinkörpertherapie für viele unserer Haustiere sehr bedeutende Gefahren. Ich erinnere nur an den von Dr. Schreiber (Retz) erst kürzlich in der Gesellschaft der Tierärzte in Wien gehaltenen Vortrag über „Versuche mit der Proteinkörpertherapie in der Veterinärmedizin“, und stelle es jetzt dem Ermessen von jedermann frei, zu beurteilen, was sich gelegentlich solcher Einspritzungen artfremder Eiweißarten ereignen kann. Sollten z. B. Kühe nach Injektionen von 25--50 ccm Schweinerotlaufserum, wie sie bei Mastitis und Puerperalfieber, Pferde nach subkutan oder intramuskulär einverleibten Dosen von 30 ccm Kuhmilch, wie sie bei chronisch abszedierender Phlegmone zur Anwendung gekommen sind, nach dem was ich im Verlaufe meiner Untersuchungen in Erfahrung bringen konnte, niemals unter den schweren Erscheinungen von Ueberempfindlichkeit gegen artfremdes Eiweiß erkranken? Wohin dürfte es führen, wenn nach Schreiber nach allen Rindergeburten, bei denen der Verdacht auf Infektion besteht, 100 ccm Schweinerotlaufserum oder Pferdenormalserum, wenn bei Maul- und Klauenseuche in jedem Falle 100—200 ccm Pferdeserum intramuskulär zur

Injektion gelangen würden? Ich zweifle nicht daran, daß die bekannten Ueberempfindlichkeitsreaktionen bei Rindern und Pferden sich um so mehr häufen werden, je mehr die Proteinkörpertherapie in Anwendung genommen werden wird. Ich muß wohl bei einer parenteralen Anwendung artfremder Eiweißarten, wie sie die Verfechter der Proteinkörpertherapie propagieren, mindestens zur äußersten Vorsicht mahnen.

Vor einiger Zeit sind in No. 44 der Berl. tierärztl. Wochenschr., 1921, Referate zweier Arbeiten über das Kapitel „Anaphylaxiegefahr bei Proteinkörpertherapie“ erschienen, aus denen ich entnehme, daß in der Humanmedizin dem Umstande Rechnung getragen wird, daß sich als schädliche Folgen einer Eiweißtherapie gelegentlich Anaphylaxie einstellen könnte. Kaznelson vertritt in seiner Arbeit über „Praktische Proteinkörpertherapie“ den Standpunkt, daß die Befürchtung der Anaphylaxie unberechtigt ist, nachdem mit Ausnahme des Serums bei keinem der Proteine, die gegenwärtig zur Anwendung kommen, echte Anaphylaxie beim Menschen beobachtet worden ist. Dennoch gibt er zu, daß zuweilen Fieber, Schüttelfrost, Brechreiz, Kopfschmerz, Diarrhöe als unangenehme Nebenerscheinungen vorkommen. Gildemeister und Seiffert äußern sich zur Frage der Anaphylaxiegefahr bei Proteinkörpertherapie dahin, daß, nachdem schon Wells, Uhlenhuth und Haendel die anaphylaktische Wirkung der Milch festgestellt haben, nun auch sie gefunden haben, daß verschiedene Präparate, die sie in dieser Hinsicht näher untersuchten, sehr wohl imstande sind, eine Anaphylaxie hervorzurufen. Es sind übrigens derartige Vorkommnisse in der Praxis bereits beobachtet worden. Die Verfasser empfehlen daher dem Praktiker, bei Anwendung der Proteinkörpertherapie beim Menschen mit Vorsicht zu Werke zu gehen.

Diese Angaben, von denen ich erst nach Abschluß meiner Arbeit Kenntnis erhielt, dürften meinen vorigen Ausführungen als Bestätigung dienen.

Jedenfalls aber ergibt sich künftighin für die Durchführung von Serumimpfungen bei den großen Haustieren auf Grund der Ergebnisse meiner vorangeführten Versuche und zufolge unserer bereits in der Praxis gesammelten Erfahrungen die Notwendigkeit, stets, d. h. auch bei Erstinjektionen, das der betreffenden Tierart homologe Serum, beim Rind also nur Rinder-, beim Pferd nur Pferdeserum zu verwenden, wenn das Auftreten von Serumkrankheit vermieden werden soll.

Zusammenfassung.

- 1) Ein Rind hat nach subkutanen Injektionen von je 5 ccm Pferdemilzbrandimmunserum, die in größeren Zeit-

räumen wiederholt worden sind, 5mal mit schweren anaphylaktischen Erscheinungen reagiert, wobei nur minimale Schwankungen der Körpertemperatur verzeichnet worden sind. Nach diesen Serumreaktionen verhielt sich das Rind jedesmal ungefähr 3 Monate hindurch refraktär gegenüber Reinjektionen des Pferdeimmunserums.

2) Es ist nicht gelungen, diese Ueberempfindlichkeit des Rindes gegen Pferd milzbrandserum passiv auf Meerschweinchen und Kaninchen zu übertragen.

3) Die bei manchen simultan mit Pferdeimmunserum und Kultur gegen Milzbrand schutzgeimpften Rindern unmittelbar nach der Impfung auftretenden Erscheinungen einer Anaphylaxie sind weder eine Folge der Milzbrandkulturinjektion, noch wirkt die Injektion der Milzbrandbazillen prädisponierend auf ihr Zustandekommen.

4) Mehrere mit Pferd milzbrandserum notgeimpfte Rinder, die zum ersten Male einer Serumimpfung unterzogen worden sind, reagierten mit anaphylaktischen Erscheinungen. Eines dieser erstmals geimpften Rinder ist im Verlaufe der Serumreaktion binnen weniger Minuten verendet. Bei der Sektion wurden für Anaphylaxie typische pathologisch-anatomische Veränderungen vorgefunden.

5) Seitdem für die Milzbrandschutzimpfung von Rindern Rindermilzbrandimmunserum Verwendung findet, sind Serumreaktionen bei den Impflingen nicht mehr beobachtet worden.

6) Von 42 Pferden reagierten 14 (33,3 Proz.) auf die erstmalige Injektion von Rinderserum gleichfalls mit anaphylaktischen Symptomen. Die Krankheitserscheinungen setzten schon wenige Stunden nach der Seruminjektion ein und waren stets wieder nach Ablauf einiger Stunden vollkommen abgeklungen. Rinderserum erzeugte bei Pferden keine so schweren Erkrankungen wie Pferdserum bei Rindern.

7) Sera, die über 2 Monate bis zu 1 Jahr gelagert haben, wirkten ebenso toxisch wie frische Sera. Größere Serumdosen hatten auf Art und Grad der Serumreaktion keinen Einfluß.

8) Anaphylaktische Symptome sind bei Pferden auch nach subkutanen Injektionen von je 5 ccm Menschen- bzw. Kaninchenserum festgestellt worden. Auf die Impfung mit normalem Schweineserum sind die Pferde nicht erkrankt.

9) Auch die Pferde erwiesen sich innerhalb einer längeren Frist nach einer Serumreaktion unempfindlich gegen wiederholte Injektionen desselben heterologen Serums. Diese Frist ist kürzer befunden worden als beim Rind.

10) Die nach einem solchen Stadium der Unempfindlichkeit neuerlich einsetzende Ueberempfindlichkeit gegen das heterologe Serum ist zunächst nur geringgradig entwickelt und nimmt allmählich bis zu einem oberen Grenzwert an Intensität zu.

11) Die Unempfindlichkeit gegen artfremdes Serum nach einer Ueberempfindlichkeitsreaktion ist streng spezifisch, da innerhalb der Zeit, während welcher sich ein Tier gegen Reinjektionen desselben artfremden Serums refraktär verhält, ein anderes artfremdes Serum bei demselben Tier Ueberempfindlichkeitsreaktionen auszulösen imstande ist.

12) Intravenöse und subkutane Injektionen eines artfremden Serums erzeugen die gleichen Krankheitserscheinungen. Nach intravenöser Injektion treten sie jedoch viel rascher auf.

13) Die intravenöse Reinjektion eines artfremden Serums, die unter Bedingungen erfolgt ist, welche einen schweren anaphylaktischen Anfall hätten erwarten lassen, hat ganz die gleichen Erscheinungen der Ueberempfindlichkeit hervorgerufen, wie sie schon nach erstmaligen und nach wiederholten subkutanen Injektionen eines artfremden Serums beim Rind und Pferd beobachtet worden sind.

14) Ein Auftreten echter Anaphylaxie gelegentlich von Serumimpfungen ist bei den großen Haustieren bisher noch nicht mit absoluter Sicherheit festgestellt worden.

15) Es wird vorgeschlagen, für die nach Injektion von artfremdem Serum, jedenfalls aber für die nach Erstinjektion desselben bei den Haustieren auftretenden Reaktionen die Bezeichnung „Serumkrankheit“ allgemein und gleichmäßig anzuwenden.

16) Im Hinblick auf die Möglichkeit einer Giftwirkung erscheint bei der parenteralen Einverleibung artfremder Eiweißarten, wie sie bei der Proteinkörpertherapie in Anwendung kommt, die größte Vorsicht geboten.

17) Für Serumimpfungen bei den großen Haustieren kommt stets, d. h. unbedingt auch bei Erstinjektionen, nur artgleiches Immunserum in Betracht, wenn die Serumkrankheit vermieden werden soll.

Nachdruck verboten.

[Aus dem hygienisch-bakteriologischen Laboratorium der Universität Amsterdam (Direktor: Prof. Dr. R. H. Salt et).]

Beitrag zur Kenntnis der Bereitung von cholesteriniertem Organextrakt für die Serodiagnose der Lues (Sachs-Georgi-Reaktion).

Von **P. S. F. Vermast.**

Mit 3 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Dezember 1921.)

Schon als Wassermann unter Benutzung des Prinzips von Bordet und Gengou die Serodiagnostik der Lues ins Laboratorium einführte, gab die Verwicklung der Technik der Komplementbindungsreaktion den Anreiz, nach einer brauchbaren Vereinfachung zu suchen. Die neue Methode mußte aber mindestens von gleicher klinischer Spezifität sein, wie sie die nun klassisch gewordene Reaktion offenbar besaß. Dadurch wurde einerseits eine Anzahl von mehr oder minder erfolgreichen Veränderungen der Originaltechnik ins Leben gerufen, andererseits hatten auch einige prinzipiell neue Reaktionen ihr Entstehen dem fortwährenden Wunsche, die Serodiagnose der Lues der Sprechzimmerpraxis zugänglich zu machen, zu danken. — Die Aenderungen in der offiziellen Technik brachten unter dem Gesichtspunkt der Vereinfachung keine stark auffallenden Veränderungen; die neuen Reaktionen hatten ihrerseits im allgemeinen nur theoretische Bedeutung und konnten so auch keinen Eingang in die Praxis finden.

Eine Ausnahme bilden jedoch die zwei neuesten Reaktionen von Meinicke und von Sachs und Georgi. Diese erfreuen sich schon seit 3 Jahren des wachsenden Interesses der Serologen und praktischen Aerzte, nur diese Reaktionen haben sich bisher neben der Wassermannschen Reaktion halten können. Aber dabei genügt die Erfahrung mit diesen beiden Ausflockungsreaktionen doch noch nicht vollkommen,

um wirklich ihren genauen Wert für die Luesdiagnose im allgemeinen und im besonderen ihr Verhältnis zur Wassermannschen Reaktion deutlich zu übersehen. Die verschiedenen Aenderungen, welche die Entdecker selbst in ihrer Technik anbrachten, verstärken den Eindruck, das eigentlich noch keine der beiden Reaktionen das Stadium experimenti überwunden hat. Es erscheint uns daher nur richtig, mit einem Urteil über ihre selbständige Brauchbarkeit noch zurückzuhalten so lange, bis beide Serumreaktionen als technisch einwandfrei erkannt sind, und dann erst das so erhaltene Tatsachenmaterial, vor allem aus dem Grenzgebiet der Spezifität genau zu studieren, ehe man ein kritisch einwandfreies Urteil über die Anwendung der neuen Methode in der Klinik ausspricht. Um hier jedoch noch einmal recht ins Licht zu rücken, daß die Ausflockungsreaktion Anrecht auf weitere Untersuchungen hat, möge hier eine tabellarische Uebersicht folgen, welche die Resultate der Reaktion Sachs und Georgi enthält. Die Uebereinstimmung mit der Wassermann-Reaktion ist demnach:

| | |
|---|-------|
| A.-J. de Nooij, Geneesk. Tijdschr. van Nederl. Indië, Afl. 2, Teil 60, 1920 | 96,— |
| S. T. Bok, Nederl. Tijdschr. van Geneesk., 1. helft, 1920, p. 1328 | 95,9 |
| Lesser, Berl. klin. Wochenschr., 1919, p. 224 | 95,73 |
| E. Fränkel, Dtsch. med. Wochenschr., 1919, p. 1022 | 95,7 |
| M. Löns, Dtsch. med. Wochenschr., 1919, p. 579 | 95,5 |
| E. Nathan und R. Weichbrodt, Münch. med. Wochenschr., 1918, p. 1280 | 94,9 |
| H. Sachs und W. Georgi, Med. Klinik, 1918, No. 33 | 94,9 |
| E. Meyer, Med. Klinik, 1919, p. 262 | 94,— |
| K. Scheer, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 902 | 93,94 |
| Ammenhäuser (Luesleberextrakt), Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 84, p. 521 | 93,8 |
| K. Scheer, Münch. med. Wochenschr., 1921, p. 1352 | 93,75 |
| W. Gaethgens, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 933 | 93,7 |
| Lesser, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 32 | 93,4 |
| H. Lipp, Med. Klinik, 1918, p. 1235 | 93,2 |
| Wodtke, Münch. med. Wochenschr., 1921, p. 419 | 93,16 |
| L. Hauck, Münch. med. Wochenschr., 1921, p. 369 | 93,— |
| Ammenhäuser, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 84, p. 521 (Extrakt 26) | 93,— |
| Ammenhäuser, (Extrakt Caviaherz), Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 84, p. 521 | 92,6 |
| Reichel, Dtsch. med. Wochenschr., 1919, No. 7 | 92,27 |
| M. Münster, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 505 | 92,— |
| F. Baumgärtel, Münch. med. Wochenschr., 1921, p. 421 | 91,43 |

| | |
|--|-------|
| L. Kumer, Wien. klin. Wochenschr., 1920, No. 26 | 91,— |
| M. Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 43 | 91,— |
| H. Eicke, Med. Klinik, 1919, p. 1314 | 91,— |
| E. Nathan, (Mittel von 3 Extrakten), Med. Klinik, 1918, p. 1006 | 90,2 |
| K. Pesch, Münch. med. Wochenschr., 1921, p. 1232 | 90,— |
| Anna Raabe, Berlin. klin. Wochenschr., 1919, p. 1012 | 90,— |
| Ammenhäuser, (Extrakt 27), Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 84, p. 521 | 88,5 |
| E. Zurhelle, Dermatol. Zeitschr., Bd. 28, 1919, p. 129 | 87,1 |
| Kafka, Berlin. klin. Wochenschr., 1919, p. 22 | 86,— |
| K. Merzweiler, Dtsch. med. Wochenschr., 1919, p. 2273 | 86,— |
| P. Konitzer, Med. Klinik, 1919, p. 338 | 86,— |
| Th. Messerschmidt, Dtsch. med. Wochenschr., 1920, p. 150 | 85,7 |
| H. Schröder, Med. Klinik, 1919, p. 515 | 85,2 |
| Wolfenstein, Berl. klin. Wochenschr., 1919, No. 47 | 85,— |
| W. Weichardt und E. Schrader, Med. Klinik, 1919, p. 139 | 82,— |
| L. Hauck, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 1413 | 80,66 |

Wenngleich also nach diesen Zahlen nach keiner der beiden Richtungen ein festes Urteil gefällt werden darf, geben die Ergebnisse doch den Eindruck, daß die Reaktion der vollen Beachtung wert ist. Dies um so mehr, als vor ungefähr 1½ Jahren durch Bok gezeigt wurde, daß mit dem cholesterinierten Extrakt sich eine äußerst einfache quantitative Luesreaktion ausführen läßt, die wie Bok meint, der quantitativen W.-Reaktion an Spezifität sicherlich gleichsteht, sie aber in der Einfachheit bei weitem übertrifft. Man muß sich daher auch wundern, daß die ursprüngliche Reaktion trotz des großen Vorsprungs vor der W.-Reaktion nicht so schnell ihren Weg in die Praxis gefunden hat, wie ihre Einfachheit erwarten ließ.

Der Grund hierfür ist jedem, der sich mit dieser Reaktion beschäftigt hat, aus der Erfahrung bekannt: die Schwierigkeit, einen guten Extrakt zu machen. Das Cholesterinieren des alkoholischen Herzextraktes verläuft nicht immer glatt und zur völligen Zufriedenheit des Untersuchers.

Sachs und Georgi selbst geben über diesen wichtigen Punkt ungenügende technische Aufklärungen. Die ganze Extraktfrage findet man bei ihnen nur in der einzigen Mitteilung zusammengefaßt, daß nicht alle Herzextrakte gleich gut für die Reaktion ausfallen. Sie dringen jedoch nicht bis zum Kern der Schwierigkeiten vor, und sie scheinen bei der

Anfertigung ihrer Extrakte dem Zufall eine große Rolle zu überlassen.

Wo also die Empirie bei ihnen über die Brauchbarkeit jedes Extraktes Auskunft geben soll, erscheint diese meines Erachtens noch bedenklich. Da, wo man durch Vereinfachung der Luesreaktion vor allem bezweckt, die Serodiagnostik dieser Krankheit möglichst in den Bereich auch des Nicht-Serologen, also des praktischen Arztes zu bringen, bildet hier die Empirie, welche, um brauchbare Resultate zu liefern, immer ein gewisses Maß von Laboratoriumstechnik erfordert, eine schwache Seite der sonst vielleicht ausgezeichneten Reaktion. Es wäre sicherlich zu bedauern, wenn diese technische Schwierigkeit die allgemeine Anwendung der Reaktion so stark hemmte, daß sie sich dadurch nur auf die Laboratorien beschränkte. Außerdem bringt die Extraktsschwierigkeit die Gefahr mit sich, daß durch ihre Rückwirkung auf die praktischen Resultate das Vorurteil gegen die neuen Reaktionen vermehrt wird. Mit Recht sagt Ammenhäuser: „Der wichtigste und zugleich schwierigste Punkt bei der S.G.R. ist die Herstellung eines brauchbaren Organextraktes mit der optimalen Cholesterindosis, die aber bei verschiedenen Extrakten ziemlich schwankt.“ Und weiter: „Die Brauchbarkeit der S.G.R. für die Praxis ist daher lediglich eine Extraktfrage oder noch besser eine Frage der grade zu dem gewählten Extrakt geeigneten Cholesterindosis. Diese Frage kann man aber so lange als noch nicht gelöst ansehen, als es lediglich der subjektiven Beurteilung überlassen bleibt, wie empfindlich man gerade seine Reaktion einstellen will.“ Kurz und klar werden hier die in weiteren Kreisen über diese Reaktion geteilten Ansichten zusammengefaßt, doch wird hiermit auch die Richtung angegeben, in der man der Reaktion wenn möglich zu einem bleibenden und gebietenden Platz in der Serodiagnostik der Lues verhelfen kann.

Ein erster Schritt in dieser Richtung wurde von Bok getan (Nederl. Tijdschr. van Geneesk., 1920, No. 16, p. 1328). Dieser Forscher sieht in dem Gebrauch von absolutem Alkohol bei der Extraktbereitung einen wichtigen Vorteil und beschreibt weiter die von ihm befolgte Technik, um die optimale Cholesterindosis des alkoholischen Extraktes festzustellen. Am meisten fällt auf, daß seine Methode so viel mehr Cholesterin verlangt, als Sachs und Georgi nötig hatten. Rechnet man um, dann fügten die

letzteren per 100 ccm Extrakt nur 62,3 mg, Bok dagegen nicht weniger als 375 mg auf dieselbe Menge Extrakt zu. Auch Bok fiel dieser große Unterschied auf. Eine Erklärung der bemerkenswerten Tatsache wird jedoch von ihm nicht gegeben.

Aus den Resultaten, die sowohl mit dieser wie jener Methode in der Praxis erhalten wurden (s. in d. Tabelle Bok und Sachs u. Georgi) zeigt sich, daß, wie diese Erklärung auch laufen möge, man scheinbar auf verschiedenen Wegen zu einem gut wirkenden Extrakt kommen kann. Auch andere Verfasser berichten über die Mengen Cholesterin in ihren Extrakten, die wesentlich von der Angabe von Sachs und Georgi abweichen. So z. B.:

Messerschmidt (Dtsch. med. Wochenschr., 1919, p. 156), 19,61 mg
 Gaethgens (Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 933), 80–100 mg
 Nathan (Med. Klinik, 1918, p. 1007), 76,92 mg (Extrakt VII)
 " " " " " " 38,46 mg (" IX)
 Scheer (Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 902), 69,77 mg (Extrakt 4)
 " " " " " " 41,27 mg (" 10)
 (Alles umgerechnet auf 100 ccm.)

Fügen wir dies zu den Erfahrungen von Sachs und Georgi selbst hinzu, daß man also unter Umständen zu Extrakten kommen kann, die unbrauchbar für die Reaktion sind, so zeigt dies nachdrücklich, daß nicht nur hinsichtlich der Theorie, sondern auch in der Praxis der Reaktion unsere Kenntnis des Extraktes noch sehr hinderliche Lücken enthält. Solange diese Verschiedenheiten nicht erklärt und sogar ausgeschaltet sind, muß man meines Erachtens damit rechnen, daß der Grund für die ziemlich untereinander verschiedenen Resultate der zahlreichen Untersucher (s. Tabelle) im Vergleich mit der erprobten Wa.R. in der abweichenden Technik der Extraktbereitung gefunden werden kann. Eine gleichmäßige Methode der Extraktbereitung, die die Forderung erfüllt, daß sie auch in den verschiedensten Händen auf möglichst einfache Weise zu einem möglichen Endresultat mit konstanter Wirkung führt, ist also wohl erwünscht. Erst wenn die technische Standardisierung des Sachs und Georgi-Extraktes verwirklicht sein wird, kann man erwarten, daß die Geeignetheit dieser Reaktion für die Praxis richtig beurteilt werden kann.

Eine offene Frage bleibt allerdings dabei, ob nicht Qualitätsunterschiede des Herzmuskelgewebes verhindern, daß die technische Standardisierung des Extraktes parallel mit einem biologischen Standardwert läuft. Diese Möglichkeit soll jedoch in dieser Untersuchung außer acht gelassen werden. Sollten in der Tat bei dieser Reaktion auf Syphilis Qualitätsunterschiede des Ausgangsmaterials des Extraktes eine Rolle spielen, dann werden diese sich von selbst in den Resultaten widerspiegeln, die hinsichtlich der technischen Bereitung mit einem standardisierten Extrakt erhalten wurden. — Seinerzeit kann dann beurteilt werden, ob die Extraktbereitung vielleicht in andere Bahnen gelenkt und zum Beispiel Resultate gesucht werden müßten in der Richtung der Isolation des Principium agens des Extraktes. Vorläufig würde ein technisch standardisierter Extrakt schon ein Schritt vorwärts sein. Mir scheint Bok den Schwerpunkt der Qualitätsveränderungen des Extraktes im Gebrauch von stärkerem Alkohol bei der Extraktion zu suchen. Was dies betrifft, so habe ich aber gegen diese Technik das Bedenken, daß meines Erachtens es sehr wenig ausmacht, ob man mit Spiritus fortior (96-proz.) oder mit absolutem Alkohol (höchstens 99,5-proz.) extrahiert. Man kann gerechterweise erwarten, daß der Vorteil, den der wenige Prozent stärkere Alkohol liefert, seine Bedeutung gegenüber den normalerweise vorkommenden Schwankungen im Feuchtigkeitsgehalt des so wasserreichen Muskelgewebes des Kuhherz (ich fand ungefähr 80 Proz. Wasser) verliert. Schon gleich nach dem Aufguß auf das gemahlene Herzmuskelgewebe wird der Alkohol bedeutend verdünnt und man kann bequem nachrechnen, daß nach Extraktion mit 96-proz. Alkohol das Endprodukt einen Alkoholprozentsatz von ungefähr 82 Proz., und nach Extraktion mit absolutem Alkohol ungefähr einen von 85 Proz. besitzen wird, und dann nur unter der Bedingung, daß man in beiden Fällen dasselbe gleich viel Flüssigkeit enthaltende Herz extrahiert, und daß der absolute Alkohol auch wirklich 99,5 Proz. stark ist. Letzteres ist oft, besonders wenn man ihn selbst mit ausgeglühtem Kupfersulfat bereitet, nicht der Fall. Die Unsicherheit, in der man sich über den Feuchtigkeitsgehalt des zu extrahierenden Herzens befindet, ist zu groß, als daß der Gebrauch von absolutem Alkohol bedeutende

Qualitätsunterschiede des Extraktes wahrscheinlich macht. Endlich besteht meines Wissens keine positive Anweisung, daß eine 3 Proz. höhere Alkoholkonzentration bei der Extraktion eine ausschlaggebende Bedeutung für die Brauchbarkeit des Extraktes als Reagens auf das luetische Serum hat. Meiner Meinung nach muß man seinen Blick in andere Richtung wenden. Um die Optimaldosis Cholesterin für den Extrakt kennen zu lernen, legt Bok, wie bekannt, eine Reihe von Röhrchen an, die jedes 10 ccm Extrakt enthalten, und wozu nach und nach 2,5, 3,0, 3,5 bis 10 ccm einer 1-proz. alkoholischen Cholesterinlösung zugefügt werden. Durch darauffolgende 6-fache Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung von einer bestimmten Menge des Gemisches aus jedem Röhrchen erhält man jetzt eine Reihe trüber Flüssigkeiten, wovon der makroskopische Anblick einen Hinweis gibt auf die gesuchte Cholesterinkonzentration. Die Flüssigkeiten der ersten Verdünnungen, mit dem geringsten Cholesteringehalt, sind bei Durchsicht homogen, gelblichweiß opaleszent; die folgenden, stets mehr Cholesterin enthaltenden Verdünnungen zeigen eine regelmäßig bis zu einem Maximum zunehmende Trübung und seidenartige Schlierenbildung in einem opaleszenten Medium, welches dabei stets undurchsichtiger wird. In den Extraktverdünnungen mit dem höchsten Cholesteringehalt tritt in der nun vollkommen undurchsichtigen milchartigen Flüssigkeit Ausflockung, d. h. ein deutliches, auf den Grund sinkendes oder nach der Oberfläche steigendes Präzipitat auf, wonach im Anfang noch einige Trübung zu sehen ist, während in den letzten Röhrchen oft genug vollkommene Klärung eintritt. — Man findet nun die optimale Cholesterindosis meistens in dem Röhrchen mit der maximalen Trübung und Schlierenbildung ohne eine Spur von beginnender Ausflockung, manchmal in einem vorhergehenden Röhrchen. Eine Trübung, wie man sie hier sieht, findet ihr Entstehen in der Reflexion des Lichtes durch suspendierte Teilchen, wovon eine der 3 Dimensionen erheblich von den beiden anderen abweicht, wie man dies bei dem platten Cholesterinkristall findet. Die in der Reihe von Verdünnungen des cholesterinierten Extraktes wahrgenommenen Erscheinungen erkennt man zweifellos als Kolloidphänomene, es sind die Lecithine des alkoholischen

Herzextraktes, die als „Schutzkolloid“ das Niederschlagen des Cholesterins verhindern. Die Beständigkeitsbedingungen von Solen, welche mit Hilfe von sie beschützenden hydrophilen Kolloiden verfertigt sind, sind sehr verwickelt. Nach Paal (Berl. Ber. Bd. 35, 1902, p. 2234) hängt die Beständigkeit an erster Stelle ab vom Gehalt an „Schutzkolloiden“ und nimmt zu, je mehr von diesem hydrophilen Kolloid anwesend ist. Dies zeigt, daß bei eintretender Trübung eine bestimmte Korrelation zwischen hydrophilem Kolloid und Suspensoid besteht.

Zufügung von Elektrolyten bringt in dies gegenseitige Verhalten eine Störung im Sinne einer eher auftretenden Trübung.

In diesem Licht gesehen, ist also die Bedeutung des Cholesterinierens eines alkoholischen Extraktes: den genauen Mischwert von Lipoid und Cholesterin zu finden derart, daß in der erhaltenen Mischung latent das Vermögen vorhanden ist, bei folgender Verdünnung mit einer abgemessenen elektrolytischen Lösung von bestimmter Stärke die für die Reaktion geeignete Trübung auftreten zu lassen.

Die Trübung darf nicht so weit gehen, daß es zur Präzipitatbildung des Cholesterins kommt. Man muß dafür sorgen, in der Zone der beständigen Suspension zu bleiben; tritt bei der Extraktverdünnung Präzipitat auf, dann ist entweder zu viel Cholesterin oder zu wenig Lipoid oder zu viel Elektrolyt anwesend. Die beschützenden Fähigkeiten der anwesenden Lipoide sind dann unzureichend und der Extrakt demgemäß durch die Autopräzipitatbildung vollkommen unbrauchbar für die auszuführende Reaktion.

Beim Cholesterinieren des Extraktes nach der Methode Bok fiel mir häufig auf — ich sah dies auch bei anderen — daß in den letzten Röhrchen, denen die größte Menge Cholesterin beigegeben war, ein Teil hiervon auskristallisierte. Wo in diesen Röhrchen die Alkoholkonzentration, grob geschätzt, zwischen 83 und 90 Proz. lag, und die Auskristallisation im Verhältnis ziemlich bedeutend war, lag der Gedanke nahe, daß die Löslichkeitskurve des Cholesterins in dem Gemisch Aethyl-Alkohol-Wasser einen steilen Verlauf haben würde. Auf den Gang des Cholesterinierens wird dies nun nicht ohne Einfluß sein.

Doch muß man sich das Treffen des genauen Mischwertes von Lipoid und Cholesterin im Extrakt in bedeutendem Maße

abhängig vorstellen von dem Alkoholgehalt des Extraktes; der variable Wassergehalt des Herzmuskelgewebes würde somit ein Faktor von Bedeutung sein können, der einen sehr fühlbaren Einfluß auf die Cholesterinierbarkeit und dadurch auf die Brauchbarkeit des Extraktes haben würde.

Um dies jedoch beurteilen zu können, muß man den Richtungskoeffizienten von oben genannter Löslichkeitskurve kennen. Da in der Literatur keine Löslichkeitstabelle von Cholesterin in Aethylalkohol bekannt ist, wurde diese erst bestimmt.

Bestimmung der Löslichkeitskurve des Cholesterins in dem Gemisch Aethyl-Alkohol-Wasser.

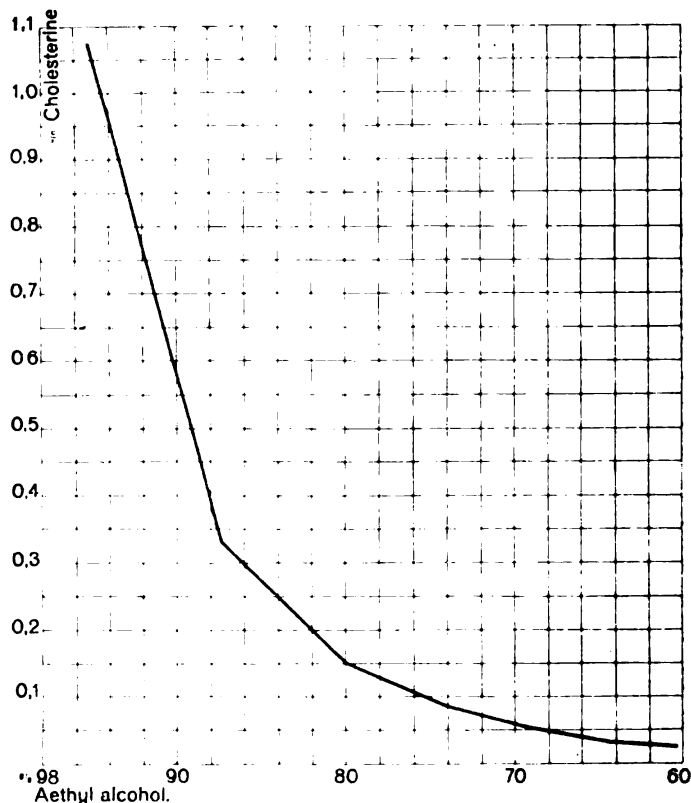
Für diese Untersuchung standen zwei Muster von Cholesterin zur Verfügung. Aeüßerlich unterschieden sich beide nur darin, daß die Kristallplättchen von Cholesterin „L“ etwas gröber und grauer von Farbe waren als die von Cholesterin „B“. Um ihre Reinheit zu untersuchen, wurde von beiden Kristallen der Schmelzpunkt festgestellt. Als Durchschnitt für eine Anzahl Bestimmungen wurde für Cholesterin „L“ ein Schmelzpunkt von $143,5^{\circ}\text{C}$, und für Cholesterin „B“ $141,2^{\circ}\text{C}$ gefunden (unkorrigiert). Für den Schmelzpunkt von Cholesterin wird $148,5^{\circ}\text{C}$ angegeben (korrigiert). Vollkommen rein war also keines der beiden Präparate.

Mit dem Pyknometer wurde nun bei 15°C das spezifische Gewicht des Spiritus fortior aus der Standflasche des Laboratoriums bestimmt, dann wurden 5 Flaschen mit je 50 ccm von diesem Alkohol nacheinander zugefügt: 10, 15, 20, 25 und 30 ccm Aqua dest. Von diesem Gemisch wurde nun wieder bei 15°C mit dem Pyknometer das spezifische Gewicht bestimmt. Das Resultat siehe in der folgenden Tabelle.

Tabelle I.

| | Spezifisches Gewicht | Alkoholprozentatz nach Brix |
|-------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| Spiritus fortior | 0,81409 | 95,15 |
| idem 50 ccm + 10 cm Aq. dest. | 0,86149 | 80,19 |
| „ 50 „ + 15 „ „ „ | 0,87736 | 74,24 |
| „ 50 „ + 20 „ „ „ | 0,88996 | 69,24 |
| „ 50 „ + 25 „ „ „ | 0,90122 | 64,53 |
| „ 50 „ + 30 „ „ „ | 0,91056 | 60,39 |

In verschiedene Reagenzröhrchen wurden 10 ccm von jedem dieser Alkoholgemische und außerdem eine bestimmte Menge Cholesterin „L“ gebracht, alle diese Röhrchen wurden mit Kautschukpfropfen abgeschlossen, geschüttelt und zusammen mit einem Wasser enthaltenden Kontrollröhrchen in einen Steintopf gestellt, worin sie in ihrer ganzen Höhe von



Kurve 1.

Löslichkeitskurve von Cholesterine in Aethylalkohol-Wasser bei 20,5° C.

Watte umgeben waren. Der Topf mit den Röhrchen wurde in einen Thermostaten von 22° C gebracht. 8 Tage lang wurden alle Röhrchen umgeschüttelt, endlich wurde nach Ablesung der Temperatur in der Kontrollröhre mit Wasser aus jedem Rohr mit einer geeichten Pipette 5 ccm Flüssigkeit entnommen und in ein tariertes Wiegegglas gebracht. Der Inhalt hiervon wurde bei 56° C eingedampft und der Cholesterinrückstand bis auf $\frac{1}{10}$ mg genau gewogen. Gleichzeitig sei bemerkt, daß man, um grobe Fehler zu vermeiden, die Pi-

pette lieber nicht auf den Boden der Röhren, wo noch un- aufgelöstes Cholesterin liegt, bringen soll. Man versieht am besten die Pipette am unteren Ende mit einem kleinen Watterpfropfen, welcher die beim Aufsaugen mitkommenden kleinen Kristalle zurückhält.

Wenn man nun bis über das Zeichen aufsaugt, dann den Watterpfropfen entfernt und bis zum Zeichen auslaufen läßt, erhält man den Inhalt der Pipette vollkommen kristallfrei. Man muß so schnell als möglich vorgehen; bei den Temperaturen 37° C und 56° C wärmte ich die Pipette vor. Man blüßt dann wohl etwas Genauigkeit ein, doch die hinderliche Auskristallisation blieb so wenigstens fort.

Das Bruttogewicht des Wiegeglasses darf man nicht unmittelbar, nachdem man es aus der Temperatur von 56° C in Zimmertemperatur gebracht hat, bestimmen. Erst muß das Gläschen völlig abkühlen und man muß dem Wasserdampf Gelegenheit geben, sich auf das Glas niederzuschlagen, um ins Gleichgewicht zu kommen mit der Wasserdampfspannung im Zimmer — man muß also das Gläschen genau wieder in dieselben Bedingungen bringen, wie zur Zeit der ersten Bestimmung. Da dieser Versuch sich um technischer Gründe willen über verschiedene Tage ausstreckt, weichen die Temperaturen, in dem Kontrollröhrchen gemessen, ein wenig voneinander ab. Die Resultate sind in beifolgender Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle II.

| Alkohol Prozentsatz | Temperatur | Milligramm Cholesterin per | |
|------------------------|------------|----------------------------|---------------|
| | | 5 ccm Alkohol | 1 ccm Alkohol |
| 95,15 | 20,6 | 53,8 | 10,76 |
| 87,4 | 21,— | 16,7 | 3,34 |
| 80,19 | 20,8 | 7,7 | 1,54 |
| 74,24 | 20,2 | 4,4 | 0,88 |
| 69,24 | 20,4 | 2,7 | 0,54 |
| 64,53 | 20,4 | 1,7 | 0,34 |
| 60,39 | 20,— | 1,3 | 0,26 |

Die Bestimmung der Löslichkeit in Alkohol von 87,4 Proz. wurde später eingefügt. Zum Vergleich wurde auch Cholesterin „B“ in Alkohol von 95,15 Proz. aufgelöst bei 20,6° C. Auf 5 ccm lösten sich hiervon 56,3 mg auf, also auf 1 ccm 11,26 mg. Tiefer Schmelzpunkt ging also gepaart mit etwas

größerer Löslichkeit. Aus der Tabelle wird schon die steile Abnahme der Löslichkeit von Cholesterolin deutlich. Eine graphische Vorstellung (Kurve 1) macht dies noch anschaulicher, und läßt leicht, wenn nötig, Interpolation zu. Ein anderer Punkt von Bedeutung für die Extraktfrage ist die Kenntnis des Temperaturkoeffizienten der Löslichkeit des Cholesterins in Alkohol. Auch dieser wurde bestimmt.

Bestimmung der Löslichkeit von Cholesterolin in Aethylalkohol von 94,5 Proz. bei verschiedenen Temperaturen.

Der Alkohol, der für diese Versuche gebraucht wurde, hatte mit dem Densimeter ein spezifisches Gewicht von 0,816, was nach der Tabelle von Brix übereinstimmt mit einem Alkoholprozentsatz von 94,5 Proz.

Der Versuch wurde in der Hauptsache so eingerichtet wie der vorige. Nur wurden die Röhren jedes für sich allein in einen Steintopf mit Watte gestellt, jedes mit einem Wasser-Kontrollröhren, um die Temperatur zu messen. In den Röhren befand sich jetzt Cholesterolin „B“. Unter täglichem Schütteln wurden die Röhren hintereinander während 8 Tagen in dem Frigoapparat bei einer Temperatur von 0,5° C, in dem Eiskasten bei 8° C, in einem Thermostaten bei 22° C, in einem zweiten Thermostaten bei 33,4° C, und in einem dritten Thermostaten bei 55° C gehalten.

Eines der Röhren wurde während derselben Zeit in strömendes Wasser gehalten, dessen Temperatur während der letzten 6 Stunden konstant 14° C betrug. Auch jetzt wurde die auspipettierte Flüssigkeit bei 56° C eingedampft und bis auf $\frac{1}{10}$ mg genau gewogen. Das Resultat folgt hier:

Tabelle III.
Alkohol 94,5 Proz.

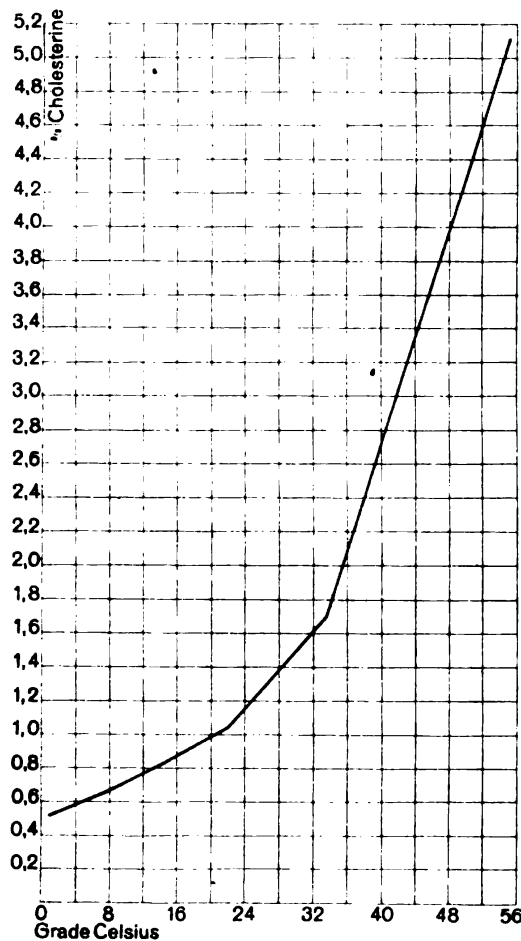
| Röhren No. | Temperatur in Graden Celsius | Milligramm Cholesterolin per | |
|---------------|---------------------------------|------------------------------|---------------|
| | | 5 ccm Alkohol | 1 ccm Alkohol |
| 1 | 0,5 | 26,1 | 5,22 |
| 2 | 8,0 | 33,3 | 6,66 |
| 3 | 14,0 | 41,1 | 8,22 |
| 4 | 22,0 | 52,0 | 10,40 |
| 5 | 33,4 | 84,3 | 16,86 |
| 6 | 55,3 | 255,8 | 51,16 |

Die graphische Projektion (Kurve 2) läßt deutlich erkennen, daß man bei Zimmertemperatur nur eine mäßige Zunahme der Löslichkeit antrifft, die bei höheren Temperaturen ebenso schnell steigt. Dieses erste ist für die Extraktbereitung natürlich von Vorteil; der große Temperaturkoeffizient zeigt nichtsdestoweniger darauf hin, daß man beim Cholesterinieren und beim Bereiten der Extraktverdünnungen auf die Temperatur achten muß.

Bestimmung der Menge Extraktivstoff in Extrakten, bereitet mit Alkohol von verschiedener Stärke.

Weil es für die Alkoholbereitung der Extrakte weniger leicht war, von feuchtem Herzmuskelgewebe auszugehen, wurde das fein gemahlene Fleisch erst so schnell wie möglich getrocknet, was in der Tat ohne Anzeichen eingetretenen Verderbens gelang. Danach wurde der Rest fein pulverisiert.

Früher ausgeführte Bestimmungen hatten erwiesen, daß das Herzmuskelgewebe ungefähr 80 Proz. Wasser enthält, und da Sachs und Georgi nun bei der Extraktion 5mal soviel Alkohol in Volumina nehmen als Gewichtsteile von Muskelgewebe, wurde jetzt auf 50 ccm Alkohol 2 g pulverisiertes Herzmuskelgewebe verwendet. So wurden 3 Extrakte gemacht



Kurve 2.
Löslichkeitskurve von Cholesterine in
94,5-proz. Alkohol bei 55° C.

mit Alkoholprozenten von 95,15 Vol.-Proz., 87,4 und 71 Proz. Die Extraktion wurde während 10 Tagen in der Weise fortgesetzt, daß anfänglich 300 mal hintereinander geschüttelt wurde, und weiter jedes Fläschchen täglich 100mal. Nach dem 10. Tag wurde filtriert. Die Farben dieser 3 Extrakte wichen etwas voneinander ab, in dem Maße wie der Alkoholgehalt stieg, war der Extrakt etwas intensiver gelb gefärbt. Bei einer Temperatur von 21 ° C wurde jedem der Extrakte 5 ccm entnommen und bei 56 ° C eingedampft:

Tabelle IV.

| Alkohol Proz. des Extraktes | Milligramm Extraktivstoff per 5 ccm | Prozent Extraktivstoff |
|-----------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| A. 95,15 | 40,5 | 0,81 |
| B. 87,4 | 43,7 | 0,874 |
| C. 71,0 | 42,7 | 0,854 |

Innerhalb der in der Tabelle vermeldeten Grenzen, zwischen denen, wie man annehmen mag, wohl stets die Alkoholkonzentration eines brauchbaren Sachs-Georgi-Extraktes liegen wird, hat also der Alkoholgehalt keinen Einfluß auf die Menge extrahierten Stoffes.

Ich kontrollierte dies außerdem noch an 3, auf die offiziell vorgeschriebene Weise bereiteten Sachs-Georgi-Extrakten, wovon die ersten beiden sehr regelmäßig auf die oben angegebene Weise geschüttelt waren; der dritte war etwas weniger genau behandelt, hatte dagegen viel länger auf dem Herzmuskelgewebe gestanden, ehe er abfiltriert wurde.

Tabelle V.

| Stärke des gebrauchten Alkohols Proz. | Milligramm Extraktivstoff per 5 ccm | Prozent Extraktivstoff |
|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| 96 | 40,2 | 0,818 |
| 98 | 37,3 | 0,746 |
| 99,5 | 36,5 | 0,73 |

Der Rest eines nach Bordet gefertigten und ausgezeichnet wirkenden Extraktes (96-proz. Alkohol) für die Wassermann-Reaktion betrug per 2 ccm 19 mg, was mit 0,95 Proz. Extraktivstoff übereinstimmt. — Den geringen Abweichungen im Prozentsatz an Extraktivstoff in der letzten

Tabelle kommt, besonders bei den absoluten Werten in der zweiten Reihe, keine besondere Bedeutung zu. Aus Tabelle IV und V zeigt sich im Vergleich, daß das Trocknen des Herzmuskelgewebes die Extraktion quantitativ scheinbar nicht oder nur kaum beeinflußt.

Zum Schluß wurde noch nachgewiesen, ob die Löslichkeit des Cholesterins in dem Extrakt vielleicht abnimmt, verglichen mit der in Alkohol von derselben Stärke. Diese Bestimmung wurde auch bei 21° C ausgeführt.

Tabelle VI.

| Alkoholgehalt des Alkoholgemisches und des Extraktes | Milligramm Cholesterin aufgelöst in dem Alkoholgemisch per ccm | Milligramm Cholesterin aufgelöst in dem Extrakt per ccm |
|--|--|---|
| 95,15 Proz. | 10,76 | 9,5 |
| 87,4 „ | 3,78 | 3,34 |
| 71,0 „ | 0,6 | 0,6 |

Wie zu erwarten war, sieht man die Löslichkeit des Cholesterins im Extrakt sinken. In dem 71 Proz. Alkohol enthaltenden Extrakt kommt dies nicht mehr zum Ausdruck, was seine Erklärung in der Tatsache finden mag, daß bei diesen kleinen absoluten Werten sich die Fehler des Wiegens und Messens geltend machen.

Bestimmung der Korrelation, welche in dem Extrakt zwischen der Menge Extraktivstoff und Cholesteringehalt, um die für die Sachs-Georgi-Reaktion nötige Trübung zu ergeben, bei folgender 6-facher Verdünnung des cholesterinierten Extraktes mit physiologischer Kochsalzlösung (0,85 Proz.).

Beim Lesen der folgenden Versuche wird man mir entgegen können, daß nicht die Korrelation zwischen dem Totalgehalt an Extraktivstoffen im Extrakt und die zugefügte Menge Cholesterin hätte untersucht werden müssen, sondern nur das gegenseitige Verhalten der „Schutzkolloide“ im allgemeinen zum Cholesterin.

An erster Stelle möchte ich auf diese a priori richtig zu nennende Anmerkung antworten, daß ich mir sehr genau bewußt bin, daß man den Extraktivstoff nicht einfach quantitativ

und qualitativ gleichstellen darf den — kurz gesagt — Lipoiden im Extrakt.

Aus den Untersuchungen von Lemeland z. B. geht dies auch schon hervor (Recherches analytiques sur la composition en corps gras et lipoides des antigenes employés dans la réaction de Wassermann. Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 84, 1921, No. 3, p. 109). Lemeland fand bei 4 Extrakten für den Totalgehalt an Extraktivstoffen resp. 5,4, 7,795, 3,8 und 10,18 g, wovon an Lipoiden resp. 3,05, 3,994, 2,6 und 4,7555 g. Umgerechnet findet er also ungefähr 56, 51, 68 und 46 Proz. der totalen Menge Extraktivstoff als Lipoid. Nun bereitete Lemeland seine Extrakte aus vielleicht pathologisch veränderten (hereditär-luetischen) Lebern. Außerdem ist mir nicht bekannt, wie groß seine Mühe für eine gleichmäßige Technik bei der Extraktbereitung war.

Ich kann nur darauf hinweisen, daß ich bei einer sehr sorgfältigen, gleichen Technik für den Prozentsatz Extraktivstoff bei verschieden normalen Kuhherzen nicht solche große Schwankungen im Trockenrest fand.

Zweitens sei hier schon mitgeteilt, daß die späteren Versuche keine großen Unterschiede in dem Verhältnis: Total-Extraktivstoff

Schutzkolloid wahrnehmen ließen.

Ich war sicherlich sehr überrascht durch diese Tatsache, daß offenbar der Totalgehalt an Extraktivstoffen parallel lief mit dem beschützenden Vermögen meiner Extrakte hinsichtlich des Cholesterins.

Als ich dies einmal erkannt hatte, habe ich auch weiter Gebrauch davon gemacht, und stets mit einem Resultat, das meinen Erwartungen entsprach. Gern bekenne ich, daß diese Beobachtung an einer großen Anzahl von Extrakten verstärkt werden muß, einer größeren, als durch mich bereitet werden konnte.

Der Extrakt A (s. Tabelle IV), der 95,15 Proz. Alkohol enthielt, der Extrakt B mit 87,4 Proz. Alkohol und C mit 71 Proz. Alkohol wurden bei 21° C mit Cholesterin „L“ gesättigt. Aus den früheren Versuchen wissen wir, daß diese Extrakte dann enthalten: 0,95 resp. 0,334 und 0,06 Proz. Cholesterin bei einem Gehalt von 0,81, 0,874 und 0,854 Proz.

Extraktivstoff. Von den Alkoholmischungen mit 95,15 resp. 87,4 und 71 Proz. Alkohol wurden ebenfalls bei 21° C gesättigte Cholesterin „L“-Auflösungen gemacht, welche 1,076, 0,378 und 0,06 Proz. Cholesterin enthalten.

Sinkende Mengen von mit Cholesterin gesättigtem Extrakt A wurden nun zusammengebracht mit steigenden Mengen konzentrierter alkoholischer Cholesterinlösung (95,15 Proz. Alkohol) bis zu einem Totalvolumen von 0,5 ccm.

Der Inhalt eines jeden Röhrchens wurde nun 6mal mit physiologischer Kochsalzlösung (genau 0,85 Proz.) verdünnt und das Resultat nach einiger Zeit abgelesen.

Tabelle VII.
Extrakt A mit Alkoholgehalt von 95,15 Proz.

| No. | Extrakt A mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 95,15 % mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Salzlösung | Milligramm per ccm | |
|-----|--|--|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 0,5 | 0,0 | Präzipitat | 8,1 | 9,5 |
| 2 | 0,4 | 0,1 | dgl. mit Clar. | 6,48 | 9,75 |
| 3 | 0,3 | 0,2 | dgl. | 4,86 | 10,0 |
| 4 | 0,2 | 0,3 | „ | 3,24 | 10,26 |
| 5 | 0,1 | 0,4 | „ | 1,62 | 10,5 |

In einem folgenden Versuch wurde der Extrakt A nicht mit Alkohol, der mit Cholesterin gesättigt war, verdünnt, sondern mit demselben Extrakt A, doch nun ohne Cholesterin. Demgemäß ist der Gehalt an Extraktivstoff in allen Röhrchen gleich und sinkt nur allein der Cholesteringehalt.

Tabelle VIII.
Extrakt A mit Alkoholgehalt von 95,15 Proz., gesättigt mit Cholesterin, verdünnt mit Extrakt A ohne Cholesterin.

| No. | Extrakt A mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Extrakt A ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Salzlösung | Milligramm per ccm | |
|-----|--|-----------------------------------|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 0,5 | 0,0 | Präzipitat. | 8,1 | 9,5 |
| 2 | 0,4 | 0,1 | Schlieren, schwer zu sehen durch milchartige Trübung | 8,1 | 7,6 |
| 3 | 0,3 | 0,2 | Schlieren wie bei 2 | 8,1 | 5,7 |
| 4 | 0,2 | 0,3 | Keine Schlieren, eben beginnende Durchsichtigkeit | 8,1 | 3,8 |
| 5 | 0,1 | 0,4 | Wie No. 4 | 8,1 | 1,9 |

Unmittelbar nach der Zufügung der Salzlösung war die Trübung in den Röhrrchen obenstehender Tabelle sehr dicht und milchartig undurchsichtig. Dadurch war die entstehende Trübung schwer zu sehen.

Bei der Extraktverdünnung in demselben Verhältnis, wie man es in dem Kontrollröhrrchen bei der Sachs-Georgi-Reaktion findet (1 Teil aus Spalte 4 mit 2 Teilen physiologischer Kochsalzlösung), wurden die Schlieren deutlicher durch Verminderung der Trübung. Man kann also sagen, daß aus praktischer Ueberlegung ein Gehalt von 8,1 mg Extraktivstoff zu groß ist.

In einem dritten Versuch wurde derselbe Extrakt A verdünnt mit ebenso starkem Alkohol, der aber kein Cholesterin enthielt.

Tabelle IX.

| No. | Extrakt A mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 95,15 % ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung | Milligramm per ccm | |
|-----|--|---|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 0,5 | 0,0 | Präzipitat | 8,1 | 9,5 |
| 2 | 0,4 | 0,1 | „ | 6,48 | 7,6 |
| 3 | 0,3 | 0,2 | „ | 4,86 | 5,7 |
| 4 | 0,2 | 0,3 | Schlieren zieml. durchsichtig, gelblich | 3,24 | 3,8 |
| 5 | 0,1 | 0,4 | Schlieren durchsichtig weiß | 1,62 | 1,9 |

Da hier in dem 4. Röhrrchen gute Trübung erhalten wurde, die auch noch im 5. Röhrrchen bestand, und in beiden Röhrrchen gut blieb nach 3maliger Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung (Extraktkontrolle), so wurde die ganze Reihe noch einmal gemacht mit kleineren Intervallen.

Hierbei sei noch gesagt, daß stets der Charakter des „Präzipitates“, die Schlieren oder die Trübung ohne Entmischung bei weiterer 3maliger Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung unverändert bestehen blieb, d. h. einmal bestehende Schlieren verschwanden dabei nicht; Schlieren gingen nicht in ein Präzipitat über, oder aus einem Präzipitat wurden keine Schlieren; eine Trübung ohne Entmischung gab weder Schlieren noch Präzipitat.

Tabelle X.

| No. | Extrakt A mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 95,15% ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung | Milligramm per ccm | |
|-----|--|--|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 0,6 | 0,4 | Beginn. Präzipitat, beinahe undurchsichtig | 4,86 | 5,7 |
| 2 | 0,55 | 0,45 | Leichtes Präzipitat, weniger durchsichtig | 4,46 | 5,23 |
| 3 | 0,5 | 0,5 | Starke Schlieren (geringe Ausflockung), nach 24 Std. etwas weniger durchsichtig als 2 | 4,05 | 4,55 |
| 4 | 0,45 | 0,55 | Starke Schlieren, weniger undurchsichtig als 3 | 3,65 | 4,28 |
| 5 | 0,4 | 0,6 | Schlieren; wird durchsichtig | 3,24 | 3,80 |
| 6 | 0,35 | 0,65 | Schlieren; aufklärend | 2,84 | 3,33 |
| 7 | 0,3 | 0,7 | Schlieren vermindert; heller als 6 | 2,43 | 2,85 |
| 8 | 0,25 | 0,75 | Viel weniger Schlieren; deutlich heller als 7 | 2,03 | 2,38 |
| 9 | 0,2 | 0,8 | Geringe Schlieren; leicht opal. | 1,62 | 1,90 |
| 10 | 0,1 | 0,9 | Mißglückt | — | — |
| 11 | 0,05 | 0,95 | Kaum wahrnehmbare Schlieren; sehr leicht opal. | 0,405 | 0,475 |

Ein abgemessenes Volumen Extrakt von Spalte 4 wurde wieder 3mal mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. In diesem „Extraktkontroll“-Röhrchen war nach 24 Stunden das oben in Spalte 4 gemeldete Resultat, was die Art der Entmischung betrifft, beständig geblieben, vielleicht mit Ausnahme von Röhrchen No. 3, wo schwache Präzipitation aufgetreten war.

Da die Schlieren in den letzten Röhrchen der Tabelle X schnell abnahmen, fand ich es wichtig, nachzusehen, ob sie vielleicht gänzlich verschwinden würden. Zu diesem Zwecke wurde die Serie in einem neuen Versuch weiter nach unten fortgesetzt, mit Intervallen von 0,01 ccm Extrakt. Hier wichen die Resultate nach Ablesen nach 1 Stunde und nach 24 Stunden wohl etwas ab; in der Tabelle XI ist darum die Wahrnehmung nach 24 Stunden angegeben.

Tabelle XI.

| No. | Extrakt A mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 95,15 % ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Salzlösung | Milligramm per ccm | |
|-----|--|---|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 0,11 | 0,89 | Schlieren | 0,891 | 1,045 |
| 2 | 0,09 | 0,91 | Mißlungen | — | — |
| 3 | 0,07 | 0,93 | Schlieren | 0,567 | 0,665 |
| 4 | 0,06 | 0,94 | Leichte Schlieren | 0,486 | 0,570 |
| 5 | 0,05 | 0,95 | Sehr leichte Schlieren | 0,405 | 0,475 |
| 6 | 0,04 | 0,96 | Keine Schlieren | 0,324 | 0,380 |
| 7 | 0,03 | 0,97 | „ „ | 0,243 | 0,285 |
| 8 | 0,02 | 0,98 | „ „ | 0,162 | 0,190 |
| 9 | 0,01 | 0,99 | „ „ | 0,081 | 0,095 |

In der Tat sieht man hier in dem 6. Röhrchen die Schlieren gänzlich verschwinden. Die Bedeutung hiervon ist in einer graphischen Darstellung zu sehen (Kurve 3).

In einem folgenden Versuchen wurden sinkende Mengen von Extrakt „B“, der 87,4 Proz. Alkohol und 3,34 mg Cholesterin per ccm enthielt, mit steigenden Mengen Alkohol von

Tabelle XII.

| No. | Extrakt B mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 87,4 % mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung | Milligramm per ccm | |
|-----|--|---|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 0,8 | 0,2 | Keine Schlieren, beinahe undurchsichtig | 6,99 | 3,43 |
| 2 | 0,75 | 0,25 | Keine Schlieren, etwas wenig. undurchsicht. | 6,55 | 3,45 |
| 3 | 0,7 | 0,3 | Keine Schlieren, verminderte Trübung u. undurchsichtig | 6,12 | 3,47 |
| 4 | 0,65 | 0,35 | Keine Schlieren, dgl. | 5,68 | 3,49 |
| 5 | 0,6 | 0,4 | Keine Schlieren, dgl. | 5,24 | 3,52 |
| 6 | 0,55 | 0,45 | Keine Schlieren, in Extraktkontrolle nach 24 Std. Schlieren | 4,81 | 3,54 |
| 7 | 0,4 | 0,6 | Schlieren | 3,5 | 3,60 |
| 8 | 0,35 | 0,65 | Mehr Schlieren | 3,6 | 3,63 |
| 9 | 0,3 | 0,7 | Starke Schlieren, in Extraktkontrolle nach 24 Std. beginnende Ausflockung | 2,62 | 3,65 |
| 10 | 0,25 | 0,75 | Beginn. Ausflockung | 2,19 | 3,67 |
| 11 | 0,2 | 0,8 | Ausflockung | 1,75 | 3,69 |
| 12 | 0,15 | 0,85 | Ausflockung. Beginn. Klarifikation | 1,31 | 3,71 |

87,4 Proz., der mit Cholesterin (3,78 mg per ccm) gesättigt war, zusammengebracht bis auf ein Totalvolumen von 1 ccm. Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung folgte auch jetzt wieder bis zu einem Volumen von 6 ccm.

Die vorstehende Tabelle XII gibt den wahrgenommenen Grad der Entmischung an, die dabei auftritt.

Ein und dieselbe Serie wie hier oben wurde weiter mit Extrakt „C“ (71 Proz. Alkohol), gesättigt mit Cholesterin „L“ (0,6 mg per ccm), angelegt.

Die Verdünnung fand statt mit Alkohol von 71 Proz., ebenfalls gesättigt mit Cholesterin „L“ (0,6 mg per ccm). — Das Resultat ist in Tabelle XIII wiedergegeben.

Tabelle XIII.

| № | Extrakt C mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 71 % mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Nach 6-facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung | Milligramm per ccm | |
|----|--|---|---|--------------------|-------------|
| | | | | Extraktivstoff | Cholesterin |
| 1 | 1,— | 0,0 | Keine Schlieren, undurchsichtig, getrübt | 8,54 | 0,6 |
| 2 | 0,9 | 0,1 | Keine Schlieren, dgl. | 7,67 | 0,6 |
| 3 | 0,85 | 0,15 | Keine Schlieren, dgl. | 7,26 | 0,6 |
| 4 | 0,8 | 0,2 | Keine Schlieren, Aufhellende Opaleszenz | 6,83 | 0,6 |
| 5 | 0,3 | 0,7 | Keine Schlieren, hell, opaleszent | 2,56 | 0,6 |
| 6 | 0,25 | 0,75 | Keine Schlieren, zunehmend hell | 2,14 | 0,6 |
| 7 | 0,2 | 0,8 | Keine Schlieren, dgl. | 1,71 | 0,6 |
| 8 | 9,15 | 0,85 | Keine Schlieren, dgl. | 1,28 | 0,6 |
| 9 | 0,1 | 0,0 | Keine Schlieren, schwach opaleszent, beinahe hell | 0,854 | 0,6 |
| 10 | 0,05 | 0,95 | Leichte Schlieren, in Extraktkontrolle, hell | 0,43 | 0,6 |
| 11 | 0,04 | 0,96 | Deutliche Schlieren | 0,34 | 0,6 |
| 12 | 0,03 | 0,97 | Leichte Schlieren, in Extraktkontrolle, hell | 0,26 | 0,6 |
| 13 | 0,01 | 0,99 | Leichte Schlieren, in Extraktkontrolle, hell | 0,085 | 0,6 |
| 14 | 0,0 | 1,0 | Deutliche Schlieren n. 24 Stunden | 0,0 | 0,6 |

Wie bekannt, ist Cholesterin in Aqua dest. unlöslich.

Um nachzusehen, welcher Einfluß durch die Anwesenheit von NaCl in physiologischer Konzentration (0,85 Proz.) ausgeübt wird, wurden jetzt die folgenden Versuche angestellt:

8*

Die mit Cholesterin „L“ gesättigten alkoholischen Lösungen (Alkohol konz. 95,15, 87,4 und 71 Proz.), die 10,76 resp. 3,78 und 0,6 mg Cholesterin per ccm (siehe Tabelle VI) enthalten, wurde jede für sich in sinkenden Mengen zugefügt zu steigenden Mengen von ebenso starkem Alkohol ohne Cholesterin, jedesmal bis zu einem Volumen von 1 ccm; darauf folgte dann die Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu 6 ccm.

Tabelle XIV.

Alkohol 95,15 Proz. gesättigt mit Cholesterin „L“ (10,76 mg per ccm).

| No. | Alkohol 95,15 % mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 95,15 % ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Ver- dünnung mit physio- logischer Kochsalz- lösung | Milligramm Cholesterin per ccm |
|-----|---|---|--|--------------------------------------|
| 1 | 0,35 | 0,65 | Präzipitat | 3,77 |
| 2 | 0,25 | 0,75 | dgl. | 2,69 |
| 3 | 0,15 | 0,85 | Leicht präzipitiert | 1,60 |
| 4 | 0,1 | 0,9 | Schlieren | 1,08 |
| 5 | 0,08 | 0,92 | „ | 0,86 |
| 6 | 0,05 | 0,95 | Schlieren, Opaleszenz | 0,54 |
| 7 | 0,03 | 0,97 | Leichte Schlieren | 0,32 |
| 8 | 0,02 | 0,98 | Auß. geringe Schlieren | 0,23 |
| 9 | 0,01 | 0,99 | Keine Schlieren, sehr schwach opaleszent | 0,11 |

Tabelle XV.

Alkohol, 87,4 Proz. gesättigt mit Cholesterin „L“ (3,78 mg per ccm).

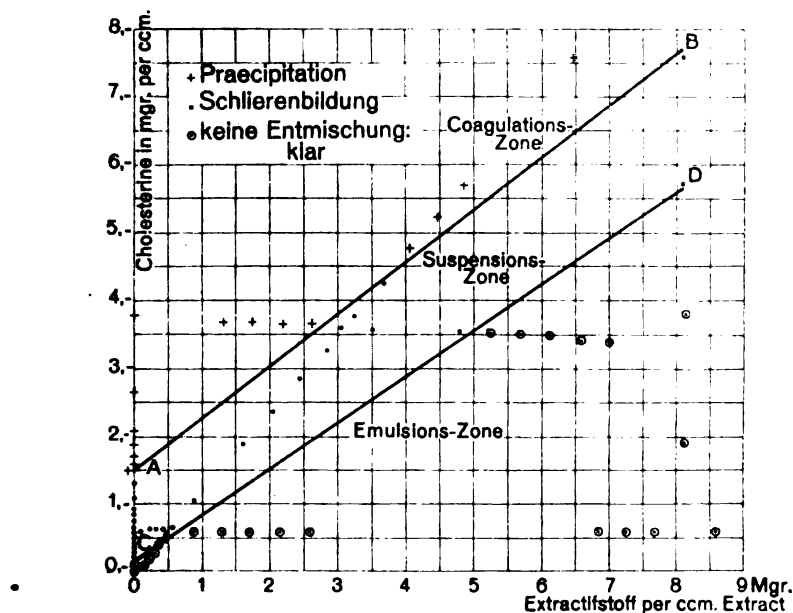
| No. | Alkohol 87,4 % mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohol 87,4 % ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Ver- dünnung mit physio- logischer Salzlösung | Milligramm Cholesterin per ccm |
|-----|--|--|---|--------------------------------------|
| 1 | 0,55 | 0,45 | Präzipitat | 2,08 |
| 2 | 0,5 | 0,5 | dgl. | 1,89 |
| 3 | 0,45 | 0,55 | „ | 1,70 |
| 4 | 0,4 | 0,6 | „ | 1,51 |
| 5 | 0,35 | 0,65 | Schlieren | 1,32 |
| 6 | 0,3 | 0,7 | mißglückt | — |
| 7 | 0,25 | 0,75 | Schlieren | 0,945 |
| 8 | 0,2 | 0,8 | „ | 0,756 |
| 9 | 0,15 | 0,85 | „ | 0,567 |
| 10 | 0,1 | 0,9 | „ | 0,378 |

Aus den Tabellen XIV, XV und XVI geht also hervor, daß bei Verdünnung einer alkoholischen Cholesterinlösung mit physiologischer Kochsalzlösung auch ohne daß eine Spur eines Lipoids anwesend ist, die drei Stadien: Präzipitation, Suspension und Emulsion zu erhalten sind. — Anwesenheit von

Tabelle XVI.
Alkohohl 71 Proz. gesättigt mit Cholesterin „L“ (0,6 mg per ccm).

| No. | Alkohol 71 % mit Cholesterin „L“ gesättigt in ccm | Alkohohl 71 % ohne Cholesterin in ccm | Nach 6-facher Ver- dünnung mit physio- logischer Kochsalz- lösung | Milligramm Cholesterin per ccm |
|-----|--|---|--|--------------------------------------|
| 1 | 0,75 | 0,25 | Starke Schlieren | 0,45 |
| 2 | 0,5 | 0,5 | Schlieren | 0,3 |
| 3 | 0,4 | 0,6 | „ | 0,24 |
| 4 | 0,35 | 0,65 | „ | 0,21 |
| 5 | 0,3 | 0,7 | Schlieren, sehr leicht, beinahe verschwund. | 0,18 |
| 6 | 0,2 | 0,8 | Keine Schlieren | 0,12 |
| 7 | 0,1 | 0,9 | „ „ | 0,06 |

Lipoid verschiebt diese Stadien. — Sehr deutlich kann man dies sichtbar machen, indem man in einer Kurve die erhaltenen Tatsachen jedes Röhrchens für sich graphisch darstellt (Kurve 3).



Kurve 3.

Auf der Abszisse ist die Menge Extraktivstoff angegeben, den jedes Röhrchen enthielt. Die Ordinate gibt zugleich die Anzahl Milligramm Cholesterin desselben Röhrchens an.

Wird in einem Röhrchen nach der Verdünnung Präzipitation wahrgenommen, dann ist dies angegeben durch ein + ;

Schlieren durch einen •; und wurde keine Entmischung gesehen, dann ist dies angezeigt mit einem: ⊙. Indem man nun in der Zeichnung 2 Linien derart zieht, daß man alle +, • und alle ⊙-Zeichen voneinander unterscheidet, kann man 3 Zonen auseinanderhalten, die ich die Koagulations-, resp. die Suspensions- und die Emulsionszone nennen will. — Man sieht hier also eine sehr typische Zeichnung entstehen, worin der Raum zwischen beiden Linien, die Zone der beständigen Cholesterinsuspension, von Bedeutung für die Sachs-Georgi-Reaktion und von großem Interesse für die Technik der Extraktbereitung ist.

Man weiß allerdings, daß es Bedingung eines guten Extraktes ist, daß bei folgender 6-facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung eine bleibende Aufwirbelung entsteht, die bei weiterer 3maliger Verdünnung (die sogenannte Extraktkontrolle in der vollständigen Reaktion) nicht ihren Charakter verändern darf.

Nach der graphischen Projektion in Kurve 3 müssen alle Extrakte, deren Zusammenstellung, was das absolute und gegenseitige Verhältnis von Extraktivstoff und Cholesterin anlangt, innerhalb der Linien A--B und C—D fällt, dieses Phänomen zeigen.

Aus praktischen Gründen sind jedoch nicht alle dergleichen Extrakte zu gebrauchen, weil in den höheren Extraktivstoff- und Cholesterinkonzentrationen die Dichtigkeit des verdünnten Extraktes zu groß wird, um darin das Vorhandensein oder das Fehlen der gewünschten Entmischung beurteilen zu können.

Die Grenze, bei der eine Beurteilung in Durchsicht schwierig wird, liegt etwa bei 4,5 mg per ccm beider Bestandteile. Andererseits besteht eine unterste Grenze, wobei die Aufwirbelung undeutlich wird durch den geringen Cholesteringehalt; zu meinem Bedauern konnte ich umständehalber mit diesen „dünnen“ Extrakten die Sachs-Georgi-Reaktion nicht ausführen.

Ich kann also kein Urteil fällen, wie sich dabei die Spezifität der Reaktion benimmt. Es ist mir aufgefallen, daß tadellos wirkende Extrakte, nach der Technik von Bok bereitet, bei mir ebenso wie bei Bok ungefähr 3,75 mg Cholesterin enthalten, und nahezu ebensoviel Extraktstoff.

Wenn man nun einen Blick auf Kurve 3 wirft, worin ein großer Teil der Resultate dieser Untersuchungen zusammengestellt ist, dann wird man sofort bemerken, daß jetzt auch sofort die Bereitung eines quantitativ standardisierten Extraktes möglich sein muß. Man sieht hierfür aus der Kurve, daß im allgemeinen der Extrakt hierfür per ccm ebensoviel Milligramm Extraktivstoff als Cholesterin enthalten muß.

Welche Menge zum Schluß die besten, mit der Klinik übereinstimmenden Ergebnisse erzielt, wenn also die Spezifität am größten sein wird, müssen künftige Untersuchungen noch lehren. Mir fehlte es hierfür an Material.

Nimmt man z. B. 3,5 mg per ccm an, dann muß man bei Kurve 1 aufsuchen, wie groß die Alkoholkonzentration des Extraktes mindestens sein muß, damit eine dergleiche Menge Cholesterin in Lösung gebracht werden kann. Man wird ablesen, daß diese Konzentration 88 Proz. betragen muß.

Technik der Bereitung von standardisiertem Extrakt.

Einen quantitativ standardisierten Extrakt bereitet man technisch hier wie folgt:

Ein halbes Rinderherz wird von allen Blutgefäßen befreit; ferner von Fett, Sehnen und Papillarmuskeln, Endo- und Perikard; das übrig bleibende Muskelgewebe wird in einer Fleischmühle so fein als möglich gemahlen. Nachdem man den Fleischbrei ungefähr 1 Stunde hat abtropfen lassen, um die überschüssige Flüssigkeit zu entfernen, wiegt man 100 g ab, bringt diese in eine weithalsige Flasche mit Glasstöpsel von einem Liter Inhalt und übergießt das gemahlene Fleisch mit 500 ccm Alkohol von 96 Proz. (s. g. 0,812).

Daraufhin schließt man die Flasche und paraffiniert den gläsernen Pfropfen. Man schüttelt dann 300mal um, wobei man sich überzeugen kann, ob die Flasche gut schließt, und wiederholt weiter dies Schütteln während 10 Tagen 100mal. Danach kann der Extrakt abfiltriert und auf eine Temperatur von 24° C gebracht werden (am liebsten in einem Thermostaten [Brustschrank]). Den nächsten Tag kann man zur Bestimmung des Gehaltes an Extraktivstoff übergehen, wofür man eine bis auf 0,1 mg empfindliche Wage nötig hat. Hierzu

tariert man 2 vollkommen reine Wiegegläser genau bis auf 0,1 mg. Mit einer geeichten Pipette von 5 ccm Inhalt und versehen mit einem freien Kapillarauslauf, bringt man in jedes der beiden Gläschen 5 ccm von dem 24° C warmen Extrakt und dampft nun bei 37° C oder 56° C bis zur Trockenheit ein. Nach Bestimmung des Bruttogewichts der Gläschen kann man, indem man das bekannte Tariergewicht abzieht, das Gewicht des Extraktivstoffes in 5 ccm feststellen. Das Gewicht, bezogen auf den Kubikzentimeter, findet man endlich aus dem Durchschnitt der Doppelbestimmung.

Man muß nun den Extrakt derartig mit Alkohol von 96 Proz. verdünnen, daß jeder Kubikzentimeter des verdünnten Extraktes 3,5 mg Extraktivstoff enthält, während der Prozentsatz an Alkohol in dem verdünnten Extrakt eine unterste Grenze von 88 Proz. haben darf. Es spricht von selbst, daß das Erreichbare oder nicht Erreichbare dieses letzteren abhängen wird einerseits von dem Alkoholprozentsatz des ursprünglichen, d. h. des unverdünnten Extraktes, andererseits von der Anzahl ccm Alkohol von 96 Proz., welche man hat zufügen müssen, um zu der gewünschten Verdünnung zu kommen.

Diese Menge regelt sich nun nach dem Gehalt an Extraktivstoff des unverdünnten Extraktes, wie dies deutlich hervorgeht. Für ein gutes Verständnis ist es nicht unwesentlich, hierauf etwas näher einzugehen.

Früher wurde schon mitgeteilt, daß der Wassergehalt des Herzmuskelgewebes ungefähr 80 Proz. beträgt, so daß nach Extraktion von 100 g Herzmuskelgewebe mit 500 ccm Alkohol von 96 Proz. der Alkoholgehalt des Extraktes ungefähr 82 Proz. sein wird. Um jedoch 3,5 mg Cholesterin per 1 ccm auflösen zu können, muß der Alkoholprozentsatz mindestens 88 Proz. sein, woraus folgt, daß man starken Alkohol zufügen muß.

Setzt man die zuzufügende Menge in 1 ccm Alkohol von 96 Proz. als x , dann muß $100 \times 82 + 96 x = (100 + x) 88$ sein, woraus man findet: $x = 75$ ccm Alkohol von 96 Proz. Mit dieser Verdünnung wird also die totale Menge Extrakt: $100 + 75 = 175$ ccm, worin 3,5 mg Extraktivstoff per 1 ccm oder total 612,5 mg vorkommen müssen. — In den ursprünglichen 100 ccm unverdünnten Extraktes müssen also bereits

612,5 mg Extraktivstoff anwesend sein. Um darum zu einem den gestellten Anforderungen genügenden Extrakt zu kommen, müssen in dem direkt aus dem Herzmuskel bereiteten Extrakt mindestens 6,125 mg Extraktivstoff per 1 ccm vorhanden sein.

Bei der Bereitung eines Extraktes für die Sachs-Georgi-Reaktion hat man also an erster Stelle dafür zu sorgen, daß der Alkoholgehalt des Herzmuskelextraktes nicht unter ungefähr 82 Proz. sinkt, was auf umseitig beschriebene Art erreicht wurde.

Angenommen, daß die betreffende Bestimmung erbracht hat, daß der Gehalt an festem Stoff per 1 ccm 7,5 mg betrug (so wie durchschnittlich bei meinen Extrakten), dann muß man demzufolge jedem 100 ccm des Extraktes 114,3 ccm Alkohol von 96 Proz. zufügen, soll der verdünnte Extrakt per 1 ccm 3,5 mg Extraktivstoff enthalten.

Technisch tut man dies am leichtesten mit Hilfe zweier Büretten von 50 ccm (wenn man will, mit angeschmolzenem Reservoir); eine Burette dient für den Extrakt, die andere für den Alkohol. In eine saubere, trockene Flasche (braun) läßt man aus der Extraktbürette 100 ccm laufen; inzwischen hat man mit einer bis auf 0,1 mg empfindlichen Wage 350 mg Cholesterin abgewogen. Man tut dies am besten auf einem Pergamentpapier, und bringt dann die abgewogene Menge Cholesterin zugleich mit dem Papierchen in die Flasche; danach läßt man aus der Alkoholburette 114,3 ccm Alkohol von 96 Proz. dazulaufen. Man muß aber gut aufpassen, daß die Temperatur der beiden Flüssigkeiten in den Büretten gleich, wenn möglich 24° C ist. — Die Flasche schließt man endlich ab mit einem Kautschukpfropfen und stellt sie in einen Thermostaten von 24° C. — Der Extrakt ist nun fertig, und wird bei folgender 6-facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung die für einen guten Extrakt erwünschten Schlieren zeigen, denn sie enthält jetzt 3,5 mg Extraktivstoff per 1 ccm und ebensoviel Cholesterin (s. Kurve 3).

Ueber die praktische Ausführung der Sachs-Georgi-Reaktion kann noch folgendes bemerkt werden:

Beim Verdünnen des cholesterinierten Standardextraktes mit physiologischer Kochsalzlösung hat die Temperatur, bei der man die Aufwirbelung zustande kommen läßt, wenig oder

keinen Einfluß. Dies wurde nachgeprüft bei Temperaturen von 0,8°, 23°, 37° und 56° C. Nach 1 Stunde waren die Schlieren am deutlichsten in dem Röhrchen, das bei 37° C gestanden hatte, und nach 24 Stunden ebenso stark in den Röhrchen 0° und 37° C. Jedoch war der Unterschied nicht groß und in jedem Fall von viel geringerer Bedeutung als die Unterschiede, die man erhalten kann, indem man die Zeit, während welcher man die Salzlösung für die Verdünnung zu laufen läßt, verändert.

Die Salzlösung soll genau (0,85-proz.) sein; es ist darum erwünscht, reines NaCl zu gebrauchen, das man vorher noch trocknet. Einige Male konnte ich den Feuchtigkeitsgehalt des Salzes aus der Standflasche des Laboratoriums bestimmen auf ungefähr 2 Proz., wodurch ich Abweichungen bei der Reaktion bekommen hatte.

Die eigentliche Reaktion wird ausgeführt in 7 Röhrchen, die so eng sind, als für das Einlaufen der Flüssigkeiten möglich ist. Für den verdünnten Extrakt werden Pipetten von 2 ccm, verteilt in $\frac{1}{4}$ ccm, gebraucht; für das Serum und die Salzlösung Pipetten von 2 ccm, verteilt in 0,1 ccm.

Die Extraktverdünnungen sind schon nach $1\frac{1}{2}$ Stunden zu gebrauchen; die Schlieren haben dann praktisch schon ihr Maximum erreicht.

Für die Bestimmung von dem luetischen Index mit der Reaktion von Sachs und Georgi erhält man dann das folgende Schema:

| No. | Verdünnter Cholesterin-extrakt in ccm | Serum 10% in physiol. Salzlösung in ccm | Physiol. Salzlösung in ccm | Alkohol 5% in physiol. Salzlösung in ccm | Index |
|-----|---------------------------------------|---|----------------------------|--|------------------|
| 1 | 0,25 | 0,5 | — | — | 0,2 |
| 2 | 0,25 | 0,4 | 0,1 | — | 0,4 |
| 3 | 0,25 | 0,3 | 0,2 | — | 0,6 |
| 4 | 0,25 | 0,2 | 0,3 | — | 0,8 |
| 5 | 0,25 | 0,1 | 0,4 | — | 1,0 |
| 6 | 0,25 | — | 0,5 | — | Extraktkontrolle |
| 7 | — | 0,5 | — | 0,25 | Serumkontrolle |

Die Röhrchen wurden 2 Stunden bei 37° und weiter 22 Stunden bei 24° C in einem Thermostaten aufbewahrt.

Wie man sieht, sinken die Mengen Serum in den Röhrchen 1 bis 5 in arithmetrischer Reihe. — Die so ausgeführte

quantitative Sachs-Georgi-Reaktion verlief in sehr guter Uebereinstimmung, was die Indexzahl betrifft, mit der ebenfalls in arithmetrischer Weise ausgeführten Wassermann-Reaktion.

Für nicht zulässig halte ich das Vergleichen einer in geometrischer Reihe ausgeführten quantitativen Sachs-Georgi-Reaktion mit einer in arithmetischer Weise ausgeführten Wassermann-Reaktion; man muß in diesem Falle auch diese letzte in geometrischer Reihe ausführen.

Zum Schluß muß man sagen, daß die vorliegende Untersuchung nicht eine derart einfache Bereitungsweise eines Normalextraktes für die Sachs-Georgi-Reaktion möglich gemacht hat, daß auch außerhalb des Laboratoriums die angegebene Arbeitsweise auch ohne Beschwerde befolgt werden könnte.

Die große Genauigkeit, die man bei allem beobachten muß, ist meiner Meinung nach eine zu große Erschwernis.

Ich meine aber doch, darin zu einem Resultat gekommen zu sein, indem in die Extraktfrage größere Klarheit gekommen ist, und vor allem eine Methode anzugeben, die es möglich macht, zu einem quantitativ uniformen Extrakt zu kommen.

Zusammenfassung.

1) Es wurde die Schlierenbildung und Ausflockung bei der Sachs-Georgi-Reaktion theoretisch klargelegt.

2) Es wurde die Löslichkeit von Cholesterin in Alkohol bei verschiedenen Temperaturen, sowie die Löslichkeit von Cholesterin in Gemischen von Alkohol in Wasser bestimmt.

3) Es wurde gefunden, daß ein guter Extrakt für die Sachs-Georgi-Reaktion einen bestimmten Gehalt an Cholesterin haben muß, der abhängt von dem Gehalt an Extraktivstoffen des Herzextraktes.

4) Es wurde dann eine Methode angegeben, um jederzeit einen guten Extrakt für die Reaktion von Sachs-Georgi herstellen zu können.

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn L. K. Wolff, dem ersten Assistenten am Institut, für die Anregung und freundliche Hilfe meinen ergebensten Dank zu sagen.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik Frankfurt a. M.]

Zur Frage der Kombination der Sachs-Georgischen und Wassermannschen Reaktion und ihrer Beziehungen zueinander.

Von Privatdozent Dr. **Ernst Nathan**,
Oberarzt der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. November 1921.)

In einer Reihe neuerdings erschienener Abhandlungen von E. Jakob (1), Keining (2, 4), Kafka (3), Stühmer und Merzweiler (5), Rothmann (6), Weisbach (7) wurde die Frage der Kombination der Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion mit einer Wassermannschen Reaktion besprochen. Während die meisten der genannten Autoren eine derartige Kombination im Prinzip für möglich und praktisch brauchbar erachten, haben sich hinsichtlich der theoretischen Frage der Beziehungen der beiden Reaktionen — ob auf gleicher oder verschiedenartiger Serumveränderung beruhend — weitgehende Meinungsverschiedenheiten ergeben. Während Jakob, Stühmer und Merzweiler sowie Weisbach in der Möglichkeit einer Kombination beider Reaktionen einen Beweis für ihre Wesensgleichheit erblicken, sieht Keining, gestützt auf Versuche Mandelbaums (8) und eigene experimentelle Untersuchungen, beide Reaktionen durch kolloidchemisch differente Serumstoffe vermittelt an, während schließlich Rothmann unter Ablehnung dieser beiden Anschauungen die mit den ausgeflockten Serum-Extraktgemischen der Sachs-Georgischen Reaktion erhaltene positive Wassermannsche Reaktion überhaupt nicht für spezifisch hält, sondern als Folge einer reinen physikalischen Komplementadsorption durch die Flockung, also als eine unspezifische antikomplementäre Wirkung, ansieht. Bei dieser weitgehenden Differenz der Anschauungen halten wir es nicht für überflüssig, über von uns bereits in den Jahren 1918 und 1919 angestellte Versuche zu berichten, die infolge der angewandten

Methodik des Arbeitens mit absteigenden Serum-
mengen und der sich daraus ergebenden Exakt-
heit der Versuchsanordnung einen Beitrag zur weiteren
Klärung der erwähnten Fragen darstellen dürften.

Zunächst zeigten uns eine Anzahl von Vorversuchen, daß,
wie es den mittlerweile veröffentlichten Erfahrungen von
Jakob, Keining, Kafka usw. entspricht, nach Ablauf
der Ausflockungsreaktion mit den ausgeflockten
Extrakt-Serumgemischen eine Wassermannsche
Reaktion in vielen Fällen noch mit positivem Er-
folg anzustellen war. Dabei ergaben sich aber, wenn
man die ursprüngliche Anordnung von Sachs und Georgi
unter Verwendung von 0,1 ccm Patientenserum befolgte, ge-
wisse Unstimmigkeiten im Reaktionsausfall, die
im wesentlichen in einer negativen bzw. nur parti-
ellen positiven Wassermannschen Reaktion bei
deutlicher Ausflockung bestanden und die uns bereits
damals veranlaßten, im Zusammenhang mit weiteren Versuchen
zur quantitativen Anstellung der Sachs-Georgischen Aus-
flockungsreaktion (9) dieser Erscheinung ebenfalls unter Heran-
ziehung einer quantitativen Methodik nachzugehen.

Die Notwendigkeit einer exakten quantitativen Prüfung
der Verwendungsmöglichkeit bereits ausgeflockter Extrakt-
Serumgemische für eine nachträglich anzustellende Wasser-
mannsche Reaktion war um so zwingender, als ältere Be-
obachtungen von Hecht (10) sowie von Berczeller (11)
bereits gezeigt hatten, daß längerer Kontakt von Patienten-
serum und Extrakt vor dem Meerschweinchenserumzusatz eine
deutliche Abschwächung der Komplementbindung bei der
Wassermannschen Reaktion zu bewirken vermag, und
eigene Untersuchungen [Nathan (12)] über die Reaktions-
beziehungen zwischen Extrakt und Syphilisserum zueinander
und zum Komplement recht komplizierte und bei den einzelnen
Sera individuell wechselnde Möglichkeiten ergeben hatten.

Nach Abschluß meiner Versuche erschien eine die gleiche
Frage in größerem Rahmen behandelnde Arbeit von Neu-
kirch (13), der in eingehender Weise die Verhältnisse bei
längerer Digestion von Extrakt und Patientenserum vor dem
Komplementzusatz untersucht hat. Neukirch konnte zeigen,

daß Stärke der Ausflockung und Komplementinaktivierung durch das Präzipitat in keinem direkten Verhältnis zueinander stehen, sondern daß vielmehr bei längerer Digestion der Extrakt-Serumgemische vor dem Meerschweinchenserumzusatz die antikomplementäre Wirkung der Gemische mit der Zeit fortschreitend abnimmt. Die Abschwächung der komplementinaktivierenden Wirkung konnte bei 24-stündigem Zusammenwirken vor der Komplementzugabe nicht selten zu einem vollkommenen Negativwerden der Wassermannschen Reaktion führen, insbesondere bei Brutschrankaufenthalt der Gemische. Dabei ergab sich weiterhin, daß gerade mit der Zunahme der Ausflockungsstärke die Komplementinaktivierung bei der Wassermannschen Reaktion abnimmt. In diesen Befunden sieht Neukirch einen Beweis für die Richtigkeit der von Sachs (14, 16), Nathan (15) u. a. vertretenen Auffassung, nach der für den Eintritt der Komplementinaktivierung bei der Wassermannschen Reaktion nicht das ausgefällte Präzipitat, sondern ein bestimmter Grad der Globulinveränderung, gewissermaßen *in statu nascendi*, wie es Sachs formuliert hat, bzw. die erste Phase des Zusammenwirkens zwischen Extrakt und Syphilisserum das maßgebende Moment ist.

Wenn auch auf Grund dieser Befunde von Hecht, Berczeller und Neukirch bei kritischer Betrachtung von vornherein ein ablehnender Standpunkt gegenüber einer Kombination der Sachs-Georgischen Reaktion mit einer Wassermannschen Reaktion in der Praxis der Sero-diagnostik der Syphilis einzunehmen ist, so erscheint es mir, namentlich in Berücksichtigung der theoretischen Bedeutung dieser Versuche für die Beziehungen zwischen Ausflockungsreaktion und Wassermannscher Reaktion nicht überflüssig, über meine eigenen, unabhängig von Neukirch angestellten Versuche noch nachträglich zu berichten, wenn sie auch prinzipiell nur eine Bestätigung der Neukirchschen Versuche, allerdings unter Variation der Versuchsanordnung, enthalten.

Bei meinen Versuchen bediente ich mich einer quantitativen Versuchsanordnung derart, daß jedes Serum in absteigenden Mengen (0,05—0,035—0,025—0,015—0,01—0,0075—0,005—0,0035—0,0025—0,0015—0,001—0) mit je

0,25 ccm eines 6-fach verdünnten, nach den Sachs-Georgischen Vorschriften cholesterinierten und geprüften Extrakts gemischt wurde. Nach ca. 20-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° wurde die Flockung abgelesen und so der Seramtiter für die Ausflockung, d. h. die geringste noch deutliche Ausflockung ergebende Serummenge bestimmt. Hierauf wurden die nämlichen Sera als Kontrollreihe in den gleichen Verdünnungs- und Volumenverhältnissen frisch mit dem Extrakt gemischt. Sodann erfolgte sowohl zu den ausgeflockten als auch den frisch angesetzten Serum-Extraktgemischen Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums und nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° Zusatz von je 0,5 ccm eines Gemischs gleicher Teile Hammelblut und hämolytischem Ambozeptor. Zu den Versuchen dienten als Blutkörperchen Hammelblut in 7—8-proz. serumfrei gewaschener Suspension, als Ambozeptor inaktivierte Immunsere in 4—6-fach lösender Dosis, die durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblut gewonnen worden waren, als Komplement frisch gewonnenes Meerschweinchenserum.

Der Grad der Hämolyse ist in den folgenden Tabellen folgendermaßen notiert: k = komplette, fk = fast komplette, st = starke, m = mäßige, w = wenig, Sp = Spur, Spchn = Spürchen, 0 = keine Hämolyse.

Der Grad der Ausflockung bei der Sachs-Georgischen Reaktion wurde in der üblichen Weise mit —, +, ++, +++, je nach der Stärke der Präzipitatbildung, notiert.

Zur Demonstration der antikomplementären Wirksamkeit bereits ausgeflockter Extrakt-Serungemische im Vergleich mit frisch angesetzten Gemischen unter Verwendung einer Anzahl von Seren bei quantitativer Versuchsanordnung dienen die nächsten beiden Versuchsbeispiele.

Absteigende Mengen inaktivierten Syphilisserums (Vol. 0,5 ccm) werden mit je 0,25 ccm cholesterinierten Rinderherzextrakts 20 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert. Hierauf wird der Grad der Ausflockung abgelesen und notiert (Reihe a).

Sodann erfolgt in allen Röhrchen Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten frischen Meerschweinchenserums und nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° Zusatz von je 0,5 ccm eines Gemisches gleicher Teile Hammelblutkörperchenaufschwemmung und Ambozeptorverdünnung (Reihe b).

Als Kontrollreihe werden frisch angesetzte Gemische absteigender Mengen des Serums und Organextrakts analog behandelt (Reihe c).

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank unter Verwendung von 24 verschiedenen Seren zeigen die Tabellen I und II.

Wie die in den beiden Tabellen mitgeteilten Versuchsbeispiele zeigen, war es, wie sich aus einem Vergleich der Reihen a und b bei den einzelnen Sera ergibt, in den meisten Fällen möglich, mit den ausgeflockten Serum-Extrakt-

Tabell

| Mengen des inaktivierten Syphilis-Ser. ccm | Ausflockung (Reihe a), Wassermannsche Reaktion mit digerierten (Reihe b) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|----|-------|---------|-------|----|---------|-------|----|---------|------|---|---------|-------|---|---------|----|-------|
| | Serum 1 | | | Serum 2 | | | Serum 3 | | | Serum 4 | | | Serum 5 | | | Serum 6 | | |
| | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| 0,05 | + | m | Sp | +++ | 0 | 0 | — | Spchn | 0 | + | 0 | 0 | + | Spchn | 0 | + | Sp | 0 |
| 0,035 | ± | st | Spchn | + | 0 | 0 | — | Spchn | 0 | ± | 0 | 0 | + | Sp | 0 | — | k | 0 |
| 0,025 | — | fk | Sp | — | 0 | 0 | — | Spchn | 0 | — | 0 | 0 | — | w | 0 | — | k | 0 |
| 0,015 | — | k | Sp | — | Spchn | 0 | — | m | Sp | — | 0 | 0 | — | fgk | 0 | — | k | 0 |
| 0,01 | — | k | k | — | st | 0 | — | k | fk | — | Sp-w | 0 | — | k | 0 | — | k | Spchn |
| 0,0075 | — | k | k | — | fgk | Sp | — | k | k | — | k | m | — | k | 0 | — | k | k |
| 0,005 | — | k | k | — | k | fk | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0,0035 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0,0025 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0,0015 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0,001 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |

Tabell

| Mengen des inaktivierten Syphilis-Ser. ccm | Ausflockung (Reihe a), Wassermannsche Reaktion mit digerierten (Reihe b) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|----|----|----------|-----|---|----------|-------|---|----------|----|-------|----------|-------|-------|----------|-------|-------|
| | Serum 13 | | | Serum 14 | | | Serum 15 | | | Serum 16 | | | Serum 17 | | | Serum 18 | | |
| | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| 0,05 | + | 0 | 0 | ++ | 0 | 0 | + | 0 | 0 | +++ | 0 | 0 | + | Spchn | 0 | ++ | 0 | 0 |
| 0,035 | — | 0 | 0 | ++ | 0 | 0 | + | 0 | 0 | +++ | 0 | 0 | + | Sp | 0 | + | 0 | 0 |
| 0,025 | — | 0 | 0 | + | 0 | 0 | ± | Spchn | 0 | +++ | 0 | 0 | ± | Sp | 0 | ± | 0 | 0 |
| 0,015 | — | Sp | 0 | + | 0 | 0 | — | fk | 0 | ++ | 0 | 0 | — | w | 0 | + | Spchn | 0 |
| 0,01 | — | m | Sp | — | fgk | 0 | — | k | 0 | + | 0 | 0 | — | k | 0 | — | m | 0 |
| 0,0075 | — | k | fk | — | k | w | — | k | k | + | Sp | 0 | — | k | 0 | — | k | Spchn |
| 0,005 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | m | Spchn | — | k | Spchn | — | k | Spchn |
| 0,0035 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | Sp | — | k | m |
| 0,0025 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | fk |
| 0,0015 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0,001 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |

gemischen durch nachträglichen Zusatz von Komplement und hämolytischem System eine positive Wassermannsche Reaktion zu erhalten. Es lassen sich also die Angaben von Jakob, Kafka, Keining usw. im Prinzip bestätigen. Dabei ist aber, wenn man die quantitativen Verhältnisse berücksichtigt, bereits bemerkenswert, daß fast ausnahmslos die Wassermannsche Re-

ad frisch angesetzten Serum-Extraktgemischen (Reihe c)

| Serum 7 | | | Serum 8 | | | Serum 9 | | | Serum 10 | | | Serum 11 | | | Serum 12 | | |
|---------|-------|---|---------|----|---|---------|----|----|----------|---|---|----------|----|---|----------|---|----|
| a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| Spohn | 0 | + | 0 | 0 | ± | Sp | 0 | ++ | 0 | 0 | + | 0 | 0 | + | Sp | 0 | 0 |
| Sp | 0 | + | 0 | 0 | — | m | 0 | ± | 0 | 0 | + | Sp | 0 | — | Sp | 0 | 0 |
| Sp | 0 | + | 0 | 0 | — | k | 0 | — | Spohn | 0 | — | Sp | 0 | — | Sp | 0 | 0 |
| k | 0 | + | 0 | 0 | — | k | 0 | — | m | 0 | — | k | 0 | — | st | 0 | 0 |
| k | 0 | + | Spohn | 0 | — | k | Sp | — | k | k | — | k | Sp | — | k | 0 | Sp |
| k | Spohn | — | k | 0 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | k |
| k | k | — | k | fk | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | k |
| k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | k |
| k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | k |
| k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | k |
| k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | k |

ad frisch angesetzten Serum-Extraktgemischen (Reihe c)

| Serum 19 | | | Serum 20 | | | Serum 21 | | | Serum 22 | | | Serum 23 | | | Serum 24 | | |
|----------|-------|---|----------|----|----|----------|-------|----|----------|----|---|----------|----|-------|----------|---|----|
| a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| + | 0 | 0 | — | fk | 0 | +++ | Sp | 0 | ++ | 0 | 0 | + | m | 0 | — | k | 0 |
| + | 0 | 0 | — | fk | 0 | + | 0 | 0 | ++ | 0 | 0 | + | Sp | 0 | — | k | 0 |
| + | 0 | 0 | — | fk | 0 | + | Spohn | 0 | + | 0 | 0 | + | Sp | 0 | — | k | Sp |
| — | 0 | 0 | — | k | fk | ± | Spohn | 0 | + | 0 | 0 | — | Sp | 0 | — | k | m |
| — | 0 | 0 | — | k | k | — | fk | 0 | + | 0 | 0 | — | w | 0 | — | k | k |
| — | 0 | 0 | — | k | k | — | k | 0 | ± | Sp | 0 | — | fk | 0 | — | k | k |
| — | Spohn | 0 | — | k | k | — | k | 0 | — | k | 0 | — | k | Spohn | — | k | k |
| — | m | 0 | — | k | k | — | k | Sp | — | k | 0 | — | k | Spohn | — | k | k |
| — | k | 0 | — | k | k | — | k | k | — | k | 0 | — | k | st | — | k | k |
| — | k | 0 | — | k | k | — | k | k | — | k | m | — | k | k | — | k | k |
| — | Spohn | — | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| — | k | — | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |

aktion noch mit Serummengen ein positives Resultat ergibt, die zu keiner erkennbaren Ausflockung mehr führen. Die Wassermannsche Reaktion erweist sich also bei Anwendung quantitativer Bedingungen als die empfindlichere Reaktion und zeigt sich gegenüber der Ausflockungsreaktion als das überlegene Verfahren.

Von besonderem Interesse ist aber der Vergleich der Reihen b und c jedes Serums. Denn aus dem Vergleich dieser Reihen geht unzweideutig hervor, daß die mit den ausgeflockten Serum-Extraktgemischen zu erzielende Komplementbindung wesentlich geringer ist als bei Verwendung frisch angesetzter Gemische. Die 20 Stunden lange Digestion führt also zu einer ganz erheblichen Abnahme oder in manchen Fällen sogar zum völligen Verlust der komplementbindenden Kraft der Gemische. Diese Abnahme äußert sich sowohl darin, daß in vielen Fällen bei Verwendung gleicher Serummengen mit den digerierten Serum-Extraktgemischen entweder keine oder nur eine partielle, mit den frisch angesetzten Gemischen jedoch eine totale Hemmung der Hämolyse zu erzielen ist, als auch insofern, als die frisch angesetzten Serum-Extraktgemische mit viel kleineren Dosen noch eine völlige Hemmung der Hämolyse ergeben als die digerierten Gemische. Gerade bei quantitativem Vergleich der beiden Reihen sind diese Unterschiede sehr auffällig und lassen die erhebliche Abschwächung der Reaktionsfähigkeit der digerierten Serum-Extraktgemische mit dem Komplement recht deutlich erkennen.

Daß diese Abschwächung der Reaktionsfähigkeit nach längerer Digestion mit dem Extrakt nicht nur dem Serum eigentümlich ist, sondern sich auch in gleicher Weise bei Verwendung von *Liquor cerebrospinalis* demonstrieren läßt, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Absteigende Mengen von Paralyse-Liquor (0,5—0,25—0,15—0,1—0,05—0,03—0,02—0,01—0 — im Volumen 0,5 ccm) werden mit je 0,25 ccm 6-fach verdünnten cholesterinierten Rinderherzextrakts 20 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert. Hierauf wird die eingetretene Ausflockung abgelesen und notiert (Reihe a).

Sodann erfolgt in allen Röhrchen Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten frischen Meerschweinchenserums und nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37° Zusatz von je 0,5 ccm eines Gemisches gleicher Teile Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung und Ambozeptorverdünnung (Reihe b).

Als Kontrollreihe werden frisch angesetzte Gemische absteigender Mengen von Liquor und Organextrakt analog behandelt (Reihe c).

Das Resultat nach 2-stündiger Digestion im Brutschrank unter Verwendung von 5 verschiedenen Lumbalfüssigkeiten zeigt die Tabelle III.

Tabelle III.

| Mengen des Liquor ccm | Ausflockung (Reihe a), Wassermannsche Reaktion mit den digerierten Liquor-Extraktgemischen (Reihe b) und frisch angesetzten Liquor-Extraktgemischen (Reihe c) | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|---|----|----|----------|----|---|----------|-------|---|----------|---|----|----------|---|---|
| | Liquor 1 | | | Liquor 2 | | | Liquor 3 | | | Liquor 4 | | | Liquor 5 | | |
| | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| 0,5 | ++ | 0 | 0 | + | st | 0 | + | k | 0 | + | 0 | 0 | + | k | 0 |
| 0,25 | ++ | 0 | 0 | — | fk | 0 | — | Spchn | 0 | — | 0 | 0 | ± | k | 0 |
| 0,15 | + | 0 | 0 | — | k | 0 | — | m | 0 | — | 0 | 0 | — | k | 0 |
| 0,1 | ± | 0 | 0 | — | k | 0 | — | k | 0 | — | 0 | 0 | — | k | 0 |
| 0,05 | — | fk | 0 | — | k | 0 | — | k | 0 | — | k | 0 | — | k | k |
| 0,03 | — | k | Sp | — | k | k | — | k | m | — | k | 0 | — | k | k |
| 0,02 | — | k | m | — | k | k | — | k | k | — | k | fk | — | k | k |
| 0,01 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |
| 0 | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k | — | k | k |

Wie die Tabelle zeigt, gelten die bei Verwendung von Blutserum mitgeteilten Erfahrungen auch für den Liquor cerebrospinalis. Auch bei dem Liquor führt die dem Meerschweinchenserumzusatz vorangehende 20-stündige Digestion des Liquor-Extraktgemisches zu einer im Vergleich mit den frisch angesetzten Gemischen sehr erheblichen Abschwächung oder sogar zu einer völligen Aufhebung der antikomplementären Wirkung.

Zur Erklärung dieses Verlustes der komplementbindenden Kraft digerierter Extrakt-Serum- bzw. -Liquorgemische konnte man zunächst an eine einfache Abschwächung der Funktion der Serum- bzw. der Extraktverdünnung durch das Stehen in der Verdünnung denken. Daß dem jedoch nicht so ist, haben bereits die Versuche von Neukirch gezeigt, und ergibt sich aus gleichsinnigen eigenen Versuchen, bei denen Extraktverdünnungen bzw. Serumverdünnungen vor der Weiterbehandlung 24 Stunden im Brutschrank stehen blieben.

Absteigende Mengen 6-fach verdünnten Organextraktes (0,25—0,15—0,1—0,05—0, Volumen 0,25 ccm) werden

I. nach 24-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37°,

II. sofort nach der Verdünnung mit je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Syphilisserums und je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert. Hierauf erfolgt Zusatz von 0,5 ccm eines Gemisches gleicher Teile Hammelblut und Ambozeptor.

Das Resultat des Versuchs unter Verwendung von drei Sera zeigt die Tabelle IV.

9*

Tabelle IV.

| Mengen des alkoholischen Organ- extrakts ccm | Wassermannsche Reaktion mit 24 Stunden digeriertem (I) und frisch verdünntem Extrakt (II) | | | | | |
|--|--|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Serum 1 | | Serum 2 | | Serum 3 | |
| | I digeriert. Extrakt | II frischer Extrakt | I digeriert. Extrakt | II frischer Extrakt | I digeriert. Extrakt | II frischer Extrakt |
| $\frac{1}{6}$ 0,25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,15 | 0 | 0 | 0 | 0 | Sp | Sp |
| 0,1 | 0 | Sp | Spchn | 0 | k | k |
| 0,05 | k | k | k | fk | k | k |
| 0 | k | k | k | k | k | k |

Wie die Tabelle zeigt, ist keinerlei Abschwächung der Extraktfunktion durch das 24-stündige Stehen in der Verdünnung im Brutschrank eingetreten.

Daß die Verhältnisse auch beim Stehen des verdünnten Serums völlig analog liegen, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Syphilisserums werden

I. nach 20-stündiger Digestion im Brutschrank bei 37°,

II. sofort nach der Verdünnung

mit absteigenden Mengen alkoholischen Organextrakts und unter Zusatz von je 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert. Hierauf erfolgt Zusatz von 0,5 ccm eines Gemisches gleicher Teile Hammelblut und Ambozeptor.

Das Resultat unter Verwendung von drei Sera zeigt die Tabelle V.

Tabelle V.

| Mengen des alkoholischen Organ- extrakts ccm | Wassermannsche Reaktion mit 24 Stunden digeriertem (I) und frisch verdünntem Serum (II) | | | | | |
|--|--|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | Serum 1 | | Serum 2 | | Serum 3 | |
| | I digeriert. Serum | II frisches Serum | I digeriert. Serum | II frisches Serum | I digeriert. Serum | II frisches Serum |
| $\frac{1}{6}$ 0,25 | 0 | 0 | 0 | 0 | Sp | Sp |
| 0,15 | 0 | 0 | 0 | 0 | w | m |
| 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | m | st |
| 0,05 | k | k | k | k | k | k |
| 0 | k | k | k | k | k | k |

Wie die Tabelle zeigt, haben auch die syphilitischen Sera durch das 24-stündige Stehen in der Verdünnung keine Abschwächung ihrer Reaktionsfähigkeit erfahren.

Aus diesen Befunden ergibt sich also, daß der Verlust der antikomplementären Funktion, den die digerierten Extrakt-Serumgemische erfahren, nicht auf einer einfachen Abschwächung einer der beiden oder beider reagierender Komponenten beim Stehen in der Verdünnung beruhen kann, wie dies die gleichsinnig verlaufenen Versuche von Neukirch bereits gezeigt haben, sondern daß dabei kompliziertere biologische Vorgänge Platz greifen. Zur Erklärung dieser Befunde wird man vielmehr daran denken müssen, daß, wie dies auch bereits von Sachs und Georgi (16) und Neukirch ausgeführt worden ist, die Verhältnisse für die antikomplementäre Wirkung der ausgeflockten Extrakt-Serumgemische analog liegen wie für die antikomplementäre Globulinwirkung, bei der, wie insbesondere die Untersuchungen von H. Sachs, Sachs und Teruuchi, Sachs und Altman, Nathan gezeigt haben, die Globulinveränderung in statu nascendi bzw. eine Globulinveränderung bestimmten Grades die beste Bedingung für das Eintreten antikomplementärer Wirkungen darstellt, eine Globulinveränderung aber, die bereits zur Trübung oder sichtbaren Ausflockung geführt hat, weit geringere oder sogar gar keine antikomplementäre Wirkung mehr entfaltet. Analog dürften die Verhältnisse im Prinzip wohl auch für den komplizierteren Fall der Ausflockung von alkoholischen Organextrakten mit Syphilisserum liegen, bei der auch das Maximum der antikomplementären Wirkung des Gemischs an den Eintritt einer physikalisch-chemischen Alteration bestimmten Grades gebunden ist, mit der vollzogenen Ausflockung aber wesentlich reduziert wird. Daß diese Reduktion bei quantitativer Bestimmung recht erheblich ist, zeigen unsere Versuche und dürften so eine wünschenswerte Bestätigung und Erweiterung der Neukirchschen Befunde darstellen. Zugleich ergibt sich aber auch daraus, daß insbesondere bei längere Zeit digerierten und bereits ausgeflockten Extrakt-Serumgemischen einerseits Ausflockung und Komplementinaktivierung, andererseits beim Vergleich ausgeflockter und frisch angesetzter

Extrakt-Serumgemische die antikomplementären Wirkungen der Gemische keine Parallelität zu besitzen brauchen. Wenn dem aber so ist, so ist eine Kombination der Sachs-Georgischen Reaktion mit einer Wassermannschen Reaktion, wie sie Jakob, Kafka und Keining vorgeschlagen haben, nur mit größter Vorsicht zu verwerten, und man wird wohl, um Fehlresultate zu vermeiden, besser tun, von einer derartigen Kombination in der Praxis der Serodiagnostik der Syphilis abzusehen.

Zusammenfassung.

1) Entsprechend den Erfahrungen von Jakob, Keining, Kafka usw. gelingt es, nach Ablauf der Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion mit den ausgeflockten Extrakt-Serumgemischen eine Wassermannsche Reaktion in vielen Fällen noch mit positivem Erfolg anzustellen. Doch ergaben sich dabei gewisse Unstimmigkeiten im Reaktionsausfall, die im wesentlichen in einer negativen bzw. nur partiell positiven Wassermannschen Reaktion bei deutlicher Ausflockung bestehen.

2) Bei quantitativer Anstellung des Versuchs mit absteigenden Serumengen ergibt sich einerseits, daß fast ausnahmslos die Wassermannsche Reaktion noch mit Serumengen eines positives Resultat zeitigt, die zu keiner erkennbaren Ausflockung mehr führen, die Wassermannsche Reaktion also die empfindlichere Reaktion und das überlegenere Verfahren ist, und daß andererseits die mit den ausgeflockten Serum-Extraktgemischen zu erzielende Komplementbindung wesentlich geringer ist als bei Verwendung frisch angesetzter Gemische. Die 20 Stunden lange Digestion führt also zu einer ganz erheblichen Abnahme oder in manchen Fällen sogar zum völligen Verlust der komplementbindenden Kraft der Gemische.

3) Diese Abschwächung der Reaktionsfähigkeit nach längerer Digestion mit dem Extrakt tritt nicht nur bei Verwendung von Blutserum, sondern auch bei Verwendung von Liquor cerebrospinalis ein.

4) Bei diesem Verlust der komplementbindenden Kraft digerierter Extrakt-Serum- bzw. Liquorgemische handelt es sich nicht um eine einfache Abschwächung der Funktion einer oder beider reagierender Komponenten durch das Stehen in der Verdünnung. Vielmehr liegen die Verhältnisse für die antikomplementäre Wirkung der ausgeflockten Extrakt-Serumgemische analog wie für die antikomplementäre Globulinwirkung, bei der die Globulinveränderung *in statu nascendi* bzw. eine Globulinveränderung bestimmten Grades die beste Bedingung für das Eintreten antikomplementärer Wirkungen darstellt.

5) Für die Praxis der Serodiagnostik der Syphilis ergibt sich daraus, daß eine Kombination der Sachs-Georgischen Reaktion mit einer Wassermannschen Reaktion, wie sie Jakob, Kafka und Keining u. a. vorgeschlagen haben, nur mit größter Vorsicht zu verwerten bzw., um Fehlresultate zu vermeiden, besser gänzlich zu unterlassen ist.

Literatur.

- 1) E. Jakob, *Dermatol. Zeitschr.*, Bd. 31, p. 287.
- 2) E. Keining, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1921, No. 6.
- 3) V. Kafka, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1921, No. 10.
- 4) E. Keining, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1921, No. 12.
- 5) A. Stühmer u. K. Merzweiler, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1921, No. 20.
- 6) St. Rothmann, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1921, No. 33.
- 7) W. Weisbach, *Wassermannsche Reaktion und Ausflockungsreaktion*. Jena, Gustav Fischer, 1921.
- 8) M. Mandelbaum, *Münch. med. Wochenschr.*, 1920, No. 33 u. 43.
- 9) E. Nathan, *Dermatol. Zeitschr.*, Bd. 35, 1921, p. 189.
- 10) H. Hecht, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 24, 1915, p. 258.
- 11) L. Berczeller, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 83, 1917, p. 315.
- 12) E. Nathan, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 26, 1917, p. 154 u. 582.
- 13) P. Neukirch, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 29, 1920, p. 177.
- 14) H. Sachs, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1916, No. 52; *Kolloidzeitschr.*, Bd. 24, 1919, p. 113.
- 15) E. Nathan, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 27, 1918, u. Bd. 29, 1920, p. 562.
- 16) H. Sachs u. W. Georgi, *Arb. aus dem Staatsarchiv f. exper. Therapie*, 1920, Heft 10.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der Medizinischen
Akademie Osaka, Japan.]

Zur Bemessung des Hämolystiters.

Eine neue Methode.

Von Professor Y. Fukuhara.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Dezember 1921.)

I.

Die hämolytischen Versuche haben mit drei verschiedenen Komponenten zu tun, nämlich mit dem Hämolsin, dem Komplement und dem Blut. Diese drei Komponenten des hämolytischen Systems sind in ihrer Veränderlichkeit schon seit langem genugsam bekannt.

Man bezeichnet als Hämolsineinheit diejenige Menge des Lysinserums, die unter Mitwirkung des Komplementes gerade noch ausreicht, um vollständige Hämolyse zu bewirken.

In der Regel wurde die Auswertung des Hämolsin-ambozeptors in einem Totalvolumen von 5,0 ccm mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum und 1,0 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung vorgenommen.

Für die Feststellung dieses Titers ist aber die individuelle Verschiedenheit der Tiere, welche das Komplementserum bzw. das Blut liefern, von Einfluß. Man muß freilich die individuell ungewöhnlichen Schwankungen oder zeitlichen Differenzen bei demselben Individuum in bezug auf den Komplementgehalt mancher Tiersera in Betracht ziehen und auch sonst wegen der Labilität der Komplemente auf alle bei Gewinnung und Prüfung der Sera in Betracht kommenden Umstände achten. Die von verschiedenen Seiten empfohlenen Schutzmittel leisten keine Gewähr für die konstante Erhaltung der Komplementsera.

Was das Blut, als ein wichtiges Agens bei dem Hämolyseversuch, betrifft, so ist es uns bekannt, daß die Bindungsenergie der Blutzellen außerordentlich variiert, und daß auch die Resistenz der gleichartigen Blutzellen individuell-ver-

schiedener Provenienz gegenüber der Komplementwirkung in ziemlich weiten Grenzen different ist. Auch wenn eine Blutemulsion genau den gleichen Gehalt an Blutkörperchen besitzt und die Blutkörperchen von einem gesunden Tiere stammen, kann doch eine Differenz zwischen den Resultaten einzelner Untersucher zustande kommen.

Die wertbestimmenden Versuche mit solchen unkonstanten Agentien sind also eine sehr unsichere Methode, die schwankende Resultate gibt.

Wenn man auch diese Verhältnisse mit in Kauf nimmt, muß man doch die quantitativen Beziehungen, in denen das Komplement und die Erythrozyten zum Hämolysin stehen, berücksichtigen. Bei dem Zusammenwirken von Komplement und Ambozeptor bei der Hämolyse muß selbstverständlich eine gewisse minimale Menge beider Faktoren zugegen sein, um eine totale Hämolyse einer bestimmten Blutmenge hervorzurufen. Diese kleinste Menge wird Titer des betreffenden Faktors genannt. Weil es indessen eine allgemein verbreitete Meinung ist, daß die für die totale Hämolyse nötige Menge des einen Faktors erheblich mit der Menge des anderen Faktors variere, muß der Titerbegriff notwendigerweise schwebend sein.

Nachstehende Versuchsprotokolle¹⁾ (Tabelle I, II und III) veranschaulichen uns, daß die Resultate der alten, üblichen Ausitrierungsmethode eines hämolytischen Serums außerordentlich variieren.

Zur Technik unserer Versuche ist folgendes zu bemerken :

1) Sorgfältig gewaschene und wieder auf die Blutmarke aufgefüllte Blutkörperchen werden in einer Verdünnung von 1 : 20, und zwar 1,0 ccm [durchschnittlich entsprechend 32 Strichmengen des Bakteriometers²⁾ Fukuharas] verwendet.

2) Für jeden Versuch werden die einzelnen Agentien auf 1,0 ccm aufgefüllt und als Gesamtvolumen stets die Menge von 5,0 ccm erreicht. Die Auffüllung geschieht durch physiologische Kochsalzlösung.

1) Die Untersuchungen sind von meinem Assistenten, Dr. T. Wada, und dem Studenten K. Harada ausgeführt worden.

2) Eine unten zugeschmolzene Kapillare, welche dem Trommsdorffschen Röhrchen ähnlich ist. Genaues siehe Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 86, p. 452.

3) Das Blut wird stets vor Komplementzusatz eine halbe Stunde bei 37° C sensibilisiert.

4) Ablesung nach 2 Stunden im Brutschrank.

5) Als kleinste lösende Dosis (Titerdosis) wird die Verdünnung betrachtet, in der gerade noch völlige Lösung der Blutkörperchen eingetreten ist.

Tabelle I.

Ambozeptortiter bei ein- und denselben Erythrozyten unter Zusatz von verschiedenen Komplementen.

Blut: Ziege No. 1.

Komplement: a und b.

Hämolysin: Antiziegenblutkaninchenimmunsrum.

| Ambozeptor- verdünnung | Komplement No. | |
|---------------------------|----------------|------|
| | a | b |
| 1:1000—1:10 000 | ++++ | ++++ |
| 1:11 000 | ++++ | +++ |
| 1:12 000 | ++++ | +++ |
| 1:13 000 | ++++ | +++ |
| 1:14 000 | ++++ | +++ |
| 1:15 000 | +++ | +++ |
| 1:16 000 | +++ | ++ |

Tabelle II.

Ambozeptortiter bei verschiedenen Erythrozyten unter Zusatz ein- und desselben Komplementserums.

Blut: Ziege No. 2 und 4.

Komplement: Eine Mischung von vier Meerschweinchenseren.

| Ambozeptor- verdünnung | Blut von | |
|---------------------------|----------|---------|
| | Ziege 2 | Ziege 4 |
| 1:1000—1:7500 | ++++ | ++++ |
| 1:8000 | +++ | ++++ |
| 1:8500 | +++ | ++++ |
| 1:9000 | +++ | ++++ |
| 1:9500 | ++ | ++++ |
| 1:10 000 | ++ | +++ |
| 1:11 000 | ++ | +++ |

In der Tabelle I wurde bei Verwendung von zwei verschiedenen Komplementsera (stets 0,1 ccm) gefunden, daß das Hämolysinserum No. 1 einmal den Titer von 1:10000 beim Komplement b, das andere Mal von 1:14000 beim Komplement a zeigte.

Bei der Anwendung gleicher Komplementsera und verschiedener Erythrozyten (Tabelle II) läßt sich das Hämolysin-

Tabelle III.

Ambozeptortiter bei verschiedenen Erythrozyten unter Zusatz verschiedener Komplementsera.

Serie 1: Blut von Ziege No. 5; Mischkomplement von Meerschweinchen No. 4, 5 und 7.

Serie 2: Blut von Ziege No. 1; Mischkomplement von Meerschweinchen No. 1, 2 und 3.

Hämolytin: Antiziegenblutkaninchenimmunsrum „A“.

| Ambozeptorverdünnung | Serie 1 | Serie 2 |
|----------------------|---------|---------|
| 1:500—1:4000 | ++++ | ++++ |
| 1:5000 | +++ | ++++ |
| 1:6000 | +++ | ++++ |
| 1:7000 | +++ | ++++ |
| 1:8000 | ++ | ++++ |
| 1:9000 | ++ | ++++ |
| 1:10 000 | ++ | ++++ |
| 1:11 000 | + | +++ |
| 1:12 000 | + | +++ |
| 1:15 000 | ∅ | ∅ |

serum ebenfalls verschieden bewerten, beim Gebrauch von Blut No. 1 nämlich beträgt der Titer 1:7500 beim Gebrauch von Blut No. 4 1:9500.

Es läßt sich aus dem Versuche 3 (Tabelle III) ersehen, daß der hämolytische Titer auch große Abweichung zeigt.

Aus obigen Ergebnissen können wir folgern, daß es verständlich ist, wenn bei der Hämolytintitrierung Unterschiede von Tag zu Tag, von Institut zu Institut zustande kommen. Um jederzeit eine Maßeinheit zur Verfügung zu haben, nach welcher das hämolytische Vermögen, beispielsweise eines Hammelhämolytins, bemessen werden kann, ist es vor allem notwendig, als Ausgangspunkt ein Standardserum zu wählen, dessen Wirkungsweise weder quantitativ noch qualitativ im Laufe der Zeit sich ändert.

II.

Standardserum.

Die Einheitsbestimmung unseres Urstandardserums wurde in üblicher Weise ausgeführt.

Gesamtmenge: 5 ccm.

Bestandteile: 1,0 ccm 5-proz. frischer Blutaufschwemmung, 1,0 ccm der verschiedenen Ambozeptorverdünnungen, 1,0 ccm eines zehnfachen

Mischkomplementserums und 0,85-proz. Kochsalzlösung zur entsprechenden Ergänzung.

Sensibilisierung eine halbe Stunde bei 37° C.

Ablesung nach 2-stündiger Bebrütung.

Das Komplement wurde dadurch gewonnen, daß das Serum von 3 verschiedenen Meerschweinchen zu gleichen Teilen gemischt wurde.

Es wurde diejenige Dosis des Serums zu ermitteln gesucht, die genügte, um 1,0 ccm einer 5-proz. Blutaufschwemmung (Ziege No. 1; Schaf No. 2) vollständig zu lösen. Es wurde der Titer des hämolytischen Antiziegenblutserums auf 4990 HLE. (Hämolysineinheiten) und der des hämolytischen Antischafblutserums auf 5320 HLE. in 1 g Trockenserum festgestellt.

Diese ursprüngliche Bewertung eines Standardserums ist, wie die anderer Standardsera, z. B. des Diphtheriestandardserum Ehrlichs, des Dysenteriestandardserum Fukuharas usf., willkürlich, während es leicht fällt, fortlaufend alle weiter benutzten Hämolysinera so einzustellen, daß sie mit einem Standardserum vollkommen übereinstimmen, wenn dieser Wert einmal bei einem Serum festgestellt ist.

III.

Bevor wir die Ausführungsmethode der Wertbemessung eines zu prüfenden Serums erwähnen, möchten wir einige Versuche über die Erythrozytenresistenz gegenüber der Komplementwirkung anführen. In folgender Versuchsreihe (Tabelle IV) wird der Komplementbedarf zur vollständigen Lösung der von 4 verschiedenen Tieren stammenden Blutaufschwemmungen unter Zusatz von Einheitsambozeptor festgestellt.

Nach unserer Erfahrung unterliegt das Blutkörperchenquantum in 1,0 ccm defibrinierten Blutes einer ziemlich großen individuellen Schwankung. Wir haben deshalb die Blutkörperchenmenge mittels Bakteriometers so bestimmt, daß die Blutkörperchen stets 32 Strichen in 1,0 ccm jeder Aufschwemmung entsprechen.

Die Ergebnisse der Versuche sind folgende:

1) Für das Blut von Ziege 1 wurde benötigt die minimale Komplementmenge 0,04, Ziege 2 0,09, Ziege 3 0,07 und Ziege 4 wahrscheinlich mehr als 0,11 ccm.

2) Für das Blut von Schaf 2 wurde benötigt die minimale Komplementmenge 0,1, Schaf 3 mehr als 0,1, Schaf 5 0,08, Schaf 6 0,09 und Schaf 7 0,06 ccm.

Tabelle IVa.

Blut: 32 Strichmengen von Ziegen No. 1 bis 4.

Lysin: 1 HLE.

Komplement: Mischserum von Meerschweinchen No. 1, 2, 3 und 6.

| Komplement- menge | Blut von | | | |
|----------------------|----------|------|------|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 0,10—0,09 | ++++ | ++++ | ++++ | +++ |
| 0,08 | ++++ | +++ | ++++ | +++ |
| 0,07 | ++++ | +++ | ++++ | +++ |
| 0,06 | ++++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,05 | ++++ | ++ | +++ | ++ |
| 0,04 | ++++ | ++ | ++ | ++ |
| 0,03 | +++ | + | + | + |
| 0,02 | ++ | + | 0 | 0 |

Tabelle IVb.

Blut: 32 Strichmengen von Schaf 2, 3, 5, 6 und 7.

Lysin: 1 HLE.

Komplement: Mischserum von Meerschweinchen.

| Komplement- menge | Blut von | | | | |
|----------------------|----------|---|------|------|------|
| | 2 | 3 | 5 | 6 | 7 |
| 0,10 | ++++ | + | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,09 | +++ | + | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,08 | +++ | + | ++++ | +++ | ++++ |
| 0,07 | ++ | + | +++ | +++ | ++++ |
| 0,06 | ++ | ± | +++ | ++ | ++++ |
| 0,05 | + | ± | ++ | ++ | +++ |
| 0,04 | + | ± | ++ | ++ | ++ |

Das Verhältnis zwischen einer bestimmten Blutkörperchen-
dosis und dem Komplementbedarf ist also bei gleichbleibendem
Lysinzusatz nicht konstant, sondern variiert je nach dem
blutliefernden Tierindividuum. Verwiesen sei hierbei auf die
Angabe Kobayashi¹⁾, nach welcher bezüglich der Hämoly-
sinswirkung die Resistenz der Ziegenerythrozyten bei dem-
selben Individuum mit den Jahreszeiten eine Schwankung
zeigt.

1) R. Kobayashi, Chugai-Ijishimpo No. 952.

IV.

Nun wende ich mich der Schilderung unserer Bemessungsmethode zu. Zur Ausführung der Prüfungsversuche muß man die Versuchsreihen ein für allemal unter gleichzeitiger Kontrolle eines Standardserums ansetzen.

Es ist hierbei angezeigt, daß man durch einen Vorversuch mittels des Standardserums jedesmal den ungefähren Titer des Komplementes bestimmt. Wenn z. B. der Titer des Komplementserums auf 0,05 ccm bestimmt ist, so wird die Arbeitsmenge desselben Komplementes beim Hauptversuch vielleicht die zwischen 0,07 und 0,03 ccm abgestufte sein.

Unter dem Ausdrücke Komplementtiter, wenn man so sagen darf, verstehen wir die geringste Menge Komplementserum, welche imstande ist, 1 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung mit einer Hämolysineinheit (HLE.) bei zwei-stündigem Aufenthalte bei 37° C komplett zu lösen. Hierbei ist es gleichgültig, ob die Erythrozyten ganz normal und frisch sind oder die Resistenz der Zellen herabgemindert ist.

Was den eigentlichen Hauptversuch betrifft, so verfahren wir in folgender Weise:

Es werden zwei Prüfungsreihen parallel angesetzt, eine mit Standardserum und eine zweite mit dem zu prüfenden Hämolysinserum.

Das Standardserum ist in Ehrlichschen Vakuumröhrchen eingeschlossen. Zur Auflösung des Serums benutzt man eine Mischung von $\frac{2}{3}$ Glycerin und $\frac{1}{3}$ 0,85-proz. Kochsalzlösung. Alle 3 bis 4 Wochen ist eine neue Lösung herzustellen.

In die Gläser der Standardreihe kommt je eine Hämolysineinheit Standardserum, in dieselben der anderen Reihen je 1,0 ccm der von dem zu prüfenden Serum hergestellten Verdünnungen. Das zu prüfende Serum wird mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, und zwar anfangs meist nur 1:100, 1:1000 usw. bis höchstens 1:1000000. Man geht dann später dazu über, zwischen den Verdünnungen noch Zwischenstufen 1:50, 1:500 usw. einzuschalten. Die Komplementstufungen bei jeder Reihe werden, die Resultate des Vorversuches berücksichtigend, so gewählt, daß die mittlere Dosis des Komplementes voraussichtlich den Wert des Kom-

Tabelle Va.

| Serumverdünnung | Komplementmenge | Hämolyse |
|---------------------------|-----------------|----------|
| 1:100—1:5000 | 0,06—0,03 | ++++ |
| 1:10000 | 0,06 | ++++ |
| dgl. | 0,05 | ++++ |
| " | 0,04 | +++ |
| " | 0,03 | +++ |
| Standard- reihe 1 HLE. | 0,06 | ++++ |
| dgl. | 0,05 | ++++ |
| " | 0,04 | ++++ |
| " | 0,03 | +++ |

Tabelle Vb.

| Serumverdünnung | Komplementmenge | Hämolyse |
|---------------------------|-----------------|----------|
| 1:4000—1:7000 | 0,06—0,03 | ++++ |
| 1:8000 | 0,06 | ++++ |
| dgl. | 0,05 | ++++ |
| " | 0,04 | ++++ |
| " | 0,03 | +++ |
| 1:9000 | 0,06 | ++++ |
| dgl. | 0,05 | ++++ |
| " | 0,04 | +++ |
| " | 0,03 | +++ |
| Standard- reihe 1 HLE. | 0,06 | ++++ |
| dgl. | 0,05 | ++++ |
| " | 0,04 | ++++ |
| " | 0,03 | +++ |

plementtiters beinahe treffen wird. In der Tabelle Va wurden also die Stufungen von 0,06 bis 0,03 ccm genommen.

Als Beispiel der Hämolysintitrierung mag der Versuch Tabelle V angeführt werden. Es handelt sich um die Bemessung eines Ziegenhämolysinserums („A“). Aus den Ergebnissen der Standardreihe ersieht man, daß die Titerdosis des Komplementes für die Hämolysineinheit 0,04 ist.

Wenn man die Resultate der Tabelle Va vergleicht, so sieht man, daß die Verdünnungen 1:5000 bis 1:100 des Serums „A“ mit der Titerdosis des Komplementes (0,04) komplett hämolytisch wirken, und daß die Verdünnung 1:10000 mit derselben Titerdosis des Komplementes inkomplett hämolytisch wirkt. Der hämolytische Titer des A-Serums liegt also zwischen 1:5000 und 1:10000. Es ist noch 1:6000 und als Zwischenstufe 1:7000, 1:8000 usw. zu prüfen. Solche genaue

Bestimmung erfolgt durch eine zweite Prüfung (Tabelle Vb). Betrachtet man die Ergebnisse der Tabelle Vb, so findet man, daß der Titer des Serums „A“ 1:8000 ist. 1 ccm des Serums „A“ enthält also 8000 Hämolysineinheiten.

Hat irgendeine Verdünnung in den Prüfungsreihen (z. B. 1:8000-Reihe der Tabelle Vb) eine Hämolysineinheit, so müssen natürlich die Resultate mit derselben in der Standardreihe genau übereinstimmen. Ist eine Verdünnung schwächer bzw. stärker als eine Einheit, so tritt eine entsprechende Verschiebung der Resultate ein.

In dem unten angeführten Versuch wurde ein Schafblut-hämolysinserum von zwei Untersuchern getrennt geprüft. Jeder Untersucher gebrauchte verschiedene Agentien, Blut und Komplement also wurden von verschiedenen Tieren geliefert. Aus den Versuchen können wir ersehen, daß die Prüfungsergebnisse beider Untersucher fast genau übereinstimmen (Tabelle VIa und VIb).

Tabelle VIa.

Die Wertbestimmung des Schafhämolysinserums „C“.

Blut: Schaf No. 7.

Komplement: Mischserum von Meerschweinchen No. 1, 2 und 3.

Die Untersuchung wurde durch Dr. Wada ausgeführt.

| Serumverdünnung | Komplementmenge | Hämolyse |
|-----------------|-----------------|----------|
| 1:1000 | 0,12 | ++++ |
| dgl. | 0,11 | ++++ |
| ” | 0,10 | ++++ |
| 1:2000 | 0,12 | ++++ |
| dgl. | 0,11 | ++++ |
| ” | 0,10 | +++ |
| 1:2500 | 0,12 | ++++ |
| dgl. | 0,11 | +++ |
| ” | 0,10 | +++ |
| 1:3000 | 0,12 | +++ |
| dgl. | 0,11 | +++ |
| ” | 0,10 | +++ |
| 1:3500 | 0,12 | ++ |
| dgl. | 0,11 | ++ |
| ” | 0,10 | ++ |
| 1 HLE. | 0,12 | ++++ |
| dgl. | 0,11 | +++ |
| ” | 0,10 | +++ |

Standard-
reihe

Tabelle VIb.

Die Wertbestimmung des Schafhämolyserums „C“.

Blut: Schaf No. 2.

Komplement: Mischserum von Meerschweinchen No. 4, 5 und 6.

Die Untersuchung wurde durch Dr. Harada ausgeführt.

| Serumverdünnung | Komplementmenge | Hämolyse |
|---------------------------|-----------------|----------|
| 1:1000—1:2000 | 0,08—0,06 | ++++ |
| 1:2500 | 0,08 | ++++ |
| dgl. | 0,07 | ++++ |
| ” | 0,06 | +++ |
| 1:3000 | 0,08 | +++ |
| dgl. | 0,07 | +++ |
| ” | 0,06 | +++ |
| 1:3500 | 0,08 | +++ |
| dgl. | 0,07 | ++ |
| ” | 0,06 | ++ |
| Standard- reihe 1 HLE. | 0,08 | ++++ |
| dgl. | 0,07 | +++ |
| ” | 0,06 | +++ |

Durch weitere mehrmals angestellte Versuche ist die recht genaue Zuverlässigkeit unserer Methode bestätigt worden.

Zusammenfassung.

1) Die hämolytische Eigenschaft der Komplementsera und auch die Erythrozytenresistenz gegenüber der hämolytischen Wirkung verhalten sich sehr verschieden, je nach dem Tierindividuum, welches das Komplementserum oder die Erythrozyten liefert. Die von verschiedenen Seiten empfohlenen Schutzmittel leisten keine Gewähr, um diese Schwierigkeit zu umgehen.

2) Eine einzige zuverlässige Wertbestimmung des hämolytischen Serums gelingt dadurch, daß ein Standardserum benutzt wird.

3) Unser neues Verfahren der Titrierung eines zu prüfenden Serums ist folgendes: Es werden zwei Prüfungsreihen parallel angesetzt, eine mit Standardserum und eine andere mit der Verdünnung des zu prüfenden Serums. Jedes Röhrchen der Verdünnungsreihe enthält gleichbleibende Mengen

sowohl der Blutaufschwemmung als auch einer Serumverdünnung und abgestufte Menge des Komplementes. Die Gläser der Standardreihe enthalten eine Hämolyseineinheit statt der Verdünnung des Serums. Durch diese Parallelversuche findet man, in welcher Verdünnungsreihe des Serums die Resultate mit derselben in der Standardreihe übereinstimmen. Ist z. B. dies bei der Verdünnung 1 : 1000 der Fall, so sagt man: das Serum enthält in 1,0 ccm 1000 HLE. (Hämolyseineinheiten).

4) Mag das Komplement vom einzelnen Tiere stammen oder ein Mischserum mehrerer Sera sein, man kann jedes beliebige zur Titrierung verwenden. Die Resultate sind insofern auch ganz gleich und konstant, ob man ein frisches Komplement oder ein einige Tage aufbewahrtes benutzt, als die Titrierungsversuche durch eine parallel angestellte Standardreihe kontrolliert werden. Ebenso verhält sich auch das Blutkörperchen.

5) Eine gleichartige Wertbemessung sowie auch ein Vergleich der in verschiedenen Instituten hergestellten Hämolysepräparate lassen sich am sichersten und besten durch die Einführung unserer Methode ausführen. Dies ist bei der Anstellung der Wassermannschen Reaktion auch zu berücksichtigen.

Referate.

Nachdem infolge der Ungunst der Verhältnisse der Referatenteil der Zeitschrift für Immunitätsforschung bereits vor längerer Zeit sein Erscheinen einstellen mußte, hat sich die Schrifteleitung nunmehr entschlossen, im Originalteil von Bd. 34 ab Besprechungen der wichtigsten bei der Redaktion einlaufenden Bücher erfolgen zu lassen. Es werden soweit wie möglich die Neuerscheinungen des In- und Auslandes tunlichst schnell besprochen werden, daneben zunächst auch noch eine Reihe älterer hier vorliegender Werke.

„Die Veröffentlichungen der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena während der Jahre 1914—1919“. 2 Bde.

Der ausführliche zweibändige Katalog bringt in Teil 1 auf 81 Seiten ein Verzeichnis der Neuerscheinungen des rührigen Verlages. Es ergibt sich die erfreuliche Feststellung, daß trotz der Ungunst der äußeren Verhältnisse die periodischen Werke weiter fortgesetzt und zahlreiche vortreffliche neue Lehrbücher und Monographien herausgebracht sind. Das gilt im besonderen auch für das Gebiet dieser Zeitschrift. Es ist in der jetzigen Zeit doppelt anzuerkennen, daß nicht nur solche Bücher verlegt werden, bei denen ein großer Abnehmerkreis von vornherein sicher ist, sondern auch zahlreiche, oft nur für einen ganz kleinen Kreis in Frage kommende Spezialwerke, wie das der Tradition des um die medizinische und naturwissenschaftliche Publizistik hochverdienten Verlages entspricht.

Teil 2 enthält auf 227 Seiten ein alphabetisches Verzeichnis sämtlicher Autoren mit den von ihnen verfaßten Büchern und Einzelveröffentlichungen in Zeitschriften aus dem Fischerschen Verlag. Er stellt so eine wertvolle Bibliographie dar, zugleich ein willkommenes Hilfsmittel für Literaturstudien.

Friedberger (Greifswald).

Plotz, Oltzky und Baehr, Die Aetiologie des Fleckfiebers. (Aus dem Pathologischen Laboratorium des Mount Sinai Hospital, New York.) Uebersetzt aus dem Englischen von Schwarz. Berlin und Wien, Urban & Schwarzenberg, 1917. 79 S. Mit 1 Tafel.

Die Schrift gibt eine zusammenfassende Darstellung der, wie der Uebersetzer sagt, „umfassenden und gründlichen Untersuchungen“ der drei Autoren über den von Plotz im Jahre 1914 als Erreger des Fleckfiebers beschriebenen Bazillus, ein anaerobes grampositives pleomorphes Stäbchen.

Das Buch hat schon jetzt nur noch historisches Interesse. Die Notwendigkeit einer Uebersetzung ins Deutsche leuchtet nicht recht ein. — Der Bazillus wurde im Fieberstadium bei 7 europäischen Fleckfieberfällen und 18mal bei 34 amerikanischen Fleckfieberfällen gezüchtet. Außerdem noch bei zwei nach der Entfieberung untersuchten Fällen. Auch abgesehen davon, daß die Untersuchungen eine experimentelle Bestätigung von anderer Seite nicht erfahren haben, sind die Schlußfolgerungen der Autoren aus dem Vorkommen der Bazillen auf die ätiologische Bedeutung nicht zwingend. Auch die serologischen Untersuchungen sind nicht überzeugend. In den Tierversuchen wird die stattgefundene Infektion stets nur aus der Fieberkurve diagnostiziert. (Die einzigen beobachteten pathologischen Veränderungen bestanden in einer deutlichen, hauptsächlich auf einer Hypertrophie der Malpighischen Körperchen beruhenden Vergrößerung der Milz.) Diese Versuche führen deutlich vor Augen, welchen Fortschritt es für die experimentelle Forschung bedeutet, daß jetzt neben dem Fieber noch andere Kriterien für die Diagnose zur Verfügung stehen.

Schiff (Greifswald).

Reder, Josef, Das Fleckfieber nach dem heutigen Stande seiner Lehre und nach Beobachtungen in den Epidemien des K. K. Flüchtlingslagers Gmünd. Leipzig und Wien, Deuticke, 1918. 117 S.

Monographische Darstellung auf Grund ausgedehnter eigener Beobachtungen in einem Flüchtlingslager in Nieder-Oesterreich und unter Heranziehung der Literatur. Dankenswert sind die historischen Hinweise der Einleitung und die Berücksichtigung der älteren Schriftsteller. Die objektive Anführung der verschiedenen Autoren gibt ein anschauliches Bild von der Fülle der im Kriege erhobenen, einander widersprechenden Beobachtungen. Ebenso sehr wie auf dem Gebiet der ätiologischen Forschung treten Widersprüche auch in Bezug auf Klinik und Epidemiologie hervor. Der Verfasser ist nichtsdestoweniger der Ansicht, „daß das Fleckfieber heute vielleicht die bestdurchforschte Infektionskrankheit ist, und daß wir dieselbe auch epidemiologisch so vollkommen beherrschen, daß sie alle ihre Schrecken, die ihr ursprünglich anhafteten, völlig verloren hat“. Bei der Besprechung der Einzelheiten hält er aber mit berechtigter Kritik durchaus nicht zurück. Die Schrift ist wohl im wesentlichen für den Praktiker geschrieben und vermittelt diesem in recht glücklicher Weise die für ihn wichtigsten Ergebnisse der Forschung.

Schiff (Greifswald).

Jungmann, Das wolhynische Fieber. Berlin, J. Springer, 1919. 126 S.

Uebersichtliche Darstellung aller in Betracht kommenden Fragen. Neben der Klinik und Epidemiologie wird besonders die Aetiologie eingehend besprochen. Klinisch werden drei Verlaufsformen unterschieden: die paroxysmale, die typhoide und die rudimentäre. Bei der Diagnose müssen die epidemiologischen Verhältnisse berücksichtigt werden. Die ätiologische Bedeutung der *Rickettsia wolhynica* hält Jungmann, wenn auch nicht für streng bewiesen, so doch für fast sichergestellt. Die von Jungmann und Kuczynski im Krankenblut gefundenen Gebilde stimmen morphologisch und in ihrem färberischen Verhalten mit der *Rickettsia wolhynica* der Laus überein und diese *Rickettsia* kommt ledig-

lich bei Wolhynikern vor. Die bekannten Angaben von Ricketts, Nicolle, Da Rocha-Lima u. a. wonach auch in normalen Läusen gelegentlich Rickettsien vorkommen (*Rickettsia pediculi* da Rocha-Lima) werden vom Verfasser angezweifelt, beziehungsweise darauf zurückgeführt, daß es sich um echte *Rickettsia wolhynica* von klinisch nicht erkannten Fällen gehandelt habe. Vom Verfasser selbst wurde die *Rickettsia* in an Kranken infizierten Läusen niemals vermißt, dagegen fand sie sich nicht in Ausstrichen von über 1000 Läusen in Gegenden, wo wolhynisches Fieber mit Sicherheit auszuschließen war. Von der *Rickettsia Prowazeki* ist die *Rickettsia wolhynica* morphologisch nicht zu unterscheiden, ein biologisches Unterscheidungsmerkmal ist dadurch gegeben, daß sich „in der Mehrzahl der Fälle bei der wolhynischen Laus lediglich eine extrazelluläre Ansiedlung der Rickettsien“ findet. Jedoch hat Jungmann ebenso wie Da Rocha-Lima beobachtet, „daß ein üppiges intrazelluläres Wachstum auch bei der *Rickettsia* des wolhynischen Fiebers vorkommt“.

Ein Anhang ist der Schaflaus-*Rickettsia* (*Rickettsia melophagi* Nöller) gewidmet. In eigenen Versuchen wurden die Angaben von Nöller über Vorkommen und Züchtbarkeit bestätigt und außerdem festgestellt, daß die Schaflaus-*Rickettsia* bereits im Darmkanal von jungen Tieren, die noch nicht gesaugt haben, vorkommt, also durch Eiinfektion übertragen werden muß. Hierin besteht ein grundsätzlicher Unterschied gegenüber der *Rickettsia* der Menschenlaus.

Die Grundlage für den epidemiologischen Abschnitt bildet neben der Voraussetzung der Uebertragung des Virus durch die Laus die allerdings durchaus nicht bewiesene Annahme, daß alle jene klinischen Formen, bei denen die Rickettsien gefunden wurden, zum wolhynischen Fieber gehören. Die Mehrzahl aller Erkrankungen verläuft überhaupt oder während längerer Zeit rudimentär. An großem Krankenmaterial ließ sich angeblich stets die gruppenweise Häufung der Fälle in bestimmten Regimentern und zu bestimmten Zeiten feststellen. Hierin wird eine Bestätigung der Bedeutung der Laus für die Uebertragung erblickt. Uebertragung der Krankheit auf einem anderen Wege als durch die Laus erscheint Jungmann sehr unwahrscheinlich.

Von Interesse ist der Hinweis darauf, daß die an sich naheliegende Verwechslung mit abortivem Typhus bei manchen Heeresteilen so weit ging, daß Hunderte von sogenannten „Typhus“fällen diagnostiziert wurden, trotzdem Bazillen niemals nachgewiesen waren und ein epidemiologischer Zusammenhang mit sicher echten Typhuserkrankungen überhaupt fehlte. Bei der Gutartigkeit des wolhynischen Fiebers mußte infolgedessen eine besonders glänzende Wirkung der Typhus-Schutzimpfung vorgetäuscht werden.
Schiff (Greifswald).

Pappenheim, A., Technik und Methodologie der klinischen Blutuntersuchung, nebst einem Anhang, enthaltend auch die histologische Färbung der hämatopoetischen Gewebe. Zweite, völlig umgearbeitete und erweiterte Auflage. Leipzig, W. Klinkhardt, 1919. 78 S.

Der Leitfaden stellt den 2. Abschnitt von Pappenheims Grundriß der hämatologischen Diagnostik in zweiter Auflage dar. Bis in die feinsten Einzelheiten wird die Technik der Blutentnahme, die Blutkörperchenzählung,

die Bestimmung von Hämoglobin und Färbeindex und die Methodik der mikroskopischen Blutuntersuchung des gefärbten Bluttrockenpräparates geschildert. Ein Anhang bringt Angaben über Supravitalfärbung, Leukozytenfärbung in Exsudaten, die Resistenzprüfung der Erythrozyten und über die histologische Schnittfärbung der hämatopoetischen Gewebe nach Pappenheim. Die große, wohl von keinem anderen Buch erreichte Ausführlichkeit und die Zuverlässigkeit der Angaben macht die Schrift besonders für Anfänger empfehlenswert.
Schiff (Greifswald).

Pappenheim, Arthur, Morphologische Hämatologie. Nach dem Tode des Verfassers herausgegeben von Hans Hirschfeld. Leipzig, Werner Klinkhardt, 1919. 2 Bde., 269 u. 766 S. Mit 11 farbigen Tafeln.

Das Werk des 1916 an Fleckfieber verstorbenen Forschers enthält nach den Worten des Herausgebers Hans Hirschfeld „die Quintessenz von Pappenheims wissenschaftlicher Lebensarbeit“. Hierin liegt die Bedeutung des Werkes für den Fachhämatologen und für alle diejenigen, die sich über die letzte Stellungnahme Pappenheims zu bestimmten Problemen der Hämatologie unterrichten wollen. Ein Lehr- und Nachschlagebuch für weitere Kreise, etwa in der Art desjenigen von Naegeli, ist das Werk nicht und will es wohl auch nicht sein. Der erste Band behandelt mit äußerster Ausführlichkeit die Morphologie der Zellen des normalen und pathologischen Blutes unter Berücksichtigung der Cytogenese. Im zweiten Band wird wesentlich kürzer und deshalb übersichtlicher die spezielle Morphologie und Genese der Blutzellen, die normale Histologie der hämatopoetischen Gewebe und die klinische Hämatologie dargestellt. Das Verständnis wird durch zahlreiche schematische Darstellungen und Diagramme erleichtert, erschwert aber durch die an neugebildeten und undurchsichtigen Fachwörtern überreiche Sprache und durch die überaus breite Behandlung der theoretischen Fragen. Wertvoll ergänzt wird das Werk durch die hervorragend gut gelungenen mehrfarbigen Abbildungen, die dem zweiten Band auf 11 Tafeln beigegeben sind.

Schiff (Greifswald).

Klopstock-Kowarsky, Praktikum der klinischen, chemischen, mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 6. Auflage. Berlin und Wien, Urban & Schwarzenberg, 1920. XV u. 518 S. Mit 24 Tafeln.

Das beliebte Taschenbuch liegt schon wieder in neuer Auflage vor, der beste Beweis für seine praktische Brauchbarkeit. Es vereinigt tatsächlich in glücklichster Lösung den Vorzug der Kürze mit dem der Leichtverständlichkeit. Nachdem nun auch die neuen Methoden der Serodiagnostik der Syphilis Aufnahme gefunden haben, ist es in allen gebräuchlichen Untersuchungen bakteriologischer und serologischer Natur für den Nichtspezialisten ein zuverlässiger Führer und schneller Berater. Die Ausstattung entspricht wieder ganz, wie es bei diesem Verlage üblich ist, sowohl was Papier wie Druck wie Abbildungen angeht, den friedensmäßigen Anforderungen.
Putter (Greifswald).

Laubenheimer, Kurt, Lehrbuch der Mikrophotographie. Berlin und Wien. Urban & Schwarzenberg, 1920. 220 S.

Obwohl die Kenntnis der photographischen Technik den zahlreichen Amateurphotographen hinlänglich bekannt ist, obwohl so manches wissenschaftliche Institut sich im Besitze einer mikrophotographischen Apparatur befindet, hat doch die Mikrophotographie nur geringe Verbreitung gefunden. Den Grund sieht der Verfasser in dem Fehlen eines geeigneten Lehrbuches, das dem Anfänger wie dem weniger Erfahrenen auf dem manchmal recht beschwerlichen, nur mit Ausdauer und Geduld zu bezwingenden Wege der mikroskopischen Photographie mit Rat und Tat zur Seite steht. Diese Lücke soll das Buch ausfüllen. Es bringt deshalb in grundlegender, klarer, anschaulicher Form zunächst die Konstruktion und Funktion des Mikroskops, dessen einzelne Teile und Hilfsapparate in ihrer Wirkungsweise, ohne zu starke mathematische Belastung des Lesers, dem Verständnis erschlossen werden. Es folgt ein zweiter, ebenso aufgebauter Abschnitt über die Kamera und die Beleuchtungseinrichtungen, ein dritter über die Aufnahme selbst, ein vierter über Spezialaufnahmen, wie die Dunkelfeldphotographie, Photographie im ultravioletten Licht, in polarisiertem Licht, Moment- und kinomatographische Aufnahmen. Ein fünfter Abschnitt bespricht die Herrichtung der mikroskopischen Präparate für die Aufnahme. Die nächsten beiden Kapitel verfolgen den Entwicklungsgang des Bildes im Negativ- und Positivverfahren. Den Schluß bildet die Mikrophotographie in natürlichen Farben, die bis zum Kriege unbestreitbar durch das Autochromverfahren repräsentiert wurde. Die in den letzten Jahren auf den Markt gebrachte Agfa-Farbenplatte hat zwar die Güte der Lumièreplatte noch nicht erreicht, ist aber von Jahr zu Jahr vervollkommnet worden, so daß sie uns die Photographie in natürlichen Farben trotz der Valutaverhältnisse ermöglicht, indem sie uns vom Auslande unabhängig macht. Die Darstellung des Buches ist durch eine Fülle von erläuternden Abbildungen in glücklicher Weise ergänzt. Die dem Werk auf sechs Tafeln angefügten mikrophotographischen Aufnahmen liefern den besten Beweis für den hohen Stand der mikrophotographischen und Reproduktionstechnik. Bei der Fülle des zusammengetragenen Materials und der sorgfältigen Literaturberücksichtigung bietet das Lehrbuch über sein Ziel hinaus auch dem Erfahrenen viel Anregendes und Neues.

Putter (Greifswald).

Oeller, Hans, Der Krankheitsverlauf des Typhus, behandelt vom Standpunkt der Immunitätsforschung. Mit besonderer Berücksichtigung der Einwirkung der prophylaktischen Schutzwirkungen. Jena, Gustav Fischer, 1920. 109 S.

Von den zahlreichen an Hand des reichen Materials des Krieges und der Strümpfellschen Klinik entwickelten interessanten Gedankengängen können hier nur einige Hauptpunkte hervorgehoben werden: Der Krankheitsverlauf des Typhus ist weniger von der Virulenz des Infektionsstammes als vom Immunitätszustand des erkrankten Individuums abhängig. Die beiden Verlaufstypen, der Lähmungstypus und der Reiztypus, von denen

der erste den klassischen Typhus (Status typhosus, Knochenmarkslähmung, als deren Folge Leukopenie), der zweite die influenza-, malaria-, rheumatismusähnlichen Krankheitsbilder umfaßt (Knochenmarksreizung und konsekutive Leukozytose), stellen klinische Manifestationen des Immunitätsgrades des betreffenden Kranken dar. Und zwar findet sich der Lähmungstyp vorwiegend bei Ungeimpften, der Reiztyp bei vielen Schutzgeimpften, manchen Kindern und denen, die früher bereits mit dem homologen Antigen in Kontakt gewesen sind. Bei ihnen kommt es zu einem rascheren Antigenabbau mit Hilfe der aktionsbereiten großen Antikörperreserven, zu einem veränderten Giftbildungsmechanismus im Sinne von Friedbergers Anschauungen, aber auch zu einer erhöhten Giftempfindlichkeit (Anaphylaxie). Beim Reiztypus ist seinerseits eine subchronisch-subfebrile und eine periodisch-paroxysmale Form zu unterscheiden, die in ihrer reinsten Art sich als das Fünftagefieber (Wolhynische Influenza) repräsentiert. Das Fünftagefieber ist also keine Krankheit sui generis, sondern eine durch die Impfung hervorgerufene Typhusvariante. Diese regelmäßige Rhythmik kommt offenbar dadurch zustande, daß periodisch im Makroorganismus Stadien des Antikörperaufbrauchs mit denen der Antikörperneuproduktion abwechseln. Auch bei Ungeimpften ist andeutungsweise diese Periodizität des Krankheitsablaufes zu beobachten. Unter diesem Gesichtspunkte erscheinen die Rezidive sowohl, wie die häufigen Temperaturunregelmäßigkeiten in der Rekonvaleszenz der Ungeimpften, ebenso wie die subchronisch-subfebrile Form der Geimpften als Auswirkungen des periodischen Wechsels von Antikörpermangel und -Überschuß. Klinisch äußern sich diese Rezidivformen stets als dem Reiztypus angehörig, weil bei ihnen allen im Verlauf der fortschreitenden Autoimmunisierung „das entstehende Gift infolge tiefen und prompteren Bakterienabbaues, biologisch gedacht, minderwertig (anaphylatoxinähnlich) und an sich nicht mehr zur Auslösung relativ spezifischer Krankheitszustände geeignet ist“, eine Anschauung, die sich gleichfalls auf den Boden der Friedbergerschen Theorie über die Infektion stellt. Aber nicht nur für den gesamten Krankheitsverlauf hat diese eigentümliche Rhythmik Geltung, sondern auch für die einzelnen Krankheitsphasen. Prognostisch von Wichtigkeit ist, „daß die Fälle, die ohne Kontinua einhergehen, biologisch beurteilt, einen hochwertigen Zustand darstellen, während man in dem Auftreten einer Kontinua ein Zeichen der Schwäche des Makroorganismus erblicken muß“. Als Aeüßerung des Kampfes der Infektionserreger mit den Normalantikörpern sind die Prodromalsymptome aufzufassen. Der Verlauf der Agglutinationskurve gibt keinen Anhalt für die Beurteilung des Immunitätszustandes des Makroorganismus, oder höchstens in dem Sinne, daß ein hoher Gehalt an Agglutininen eher auf eine biologische Minderwertigkeit des Patienten hinzuweisen scheint. Dagegen lassen sich durch Präzipitationsreaktionen mit gelöstem Typhuseiweiß, durch Tierimpfungen mit Patientenserum weitgehende Einblicke in den Antikörperbildungsmechanismus gewinnen. Trotz des Fehlens jeder Agglutinationswirkung des Serums können hohe Präzipitationstiter bestehen, können durch intraperitoneale Injektion von Patientenserum beim Meerschweinchen sowohl prophylaktische, wie anaphylaktische, wie antianaphylaktische Wir-

kungen hervorgerufen werden, je nachdem in welchem Stadium der Krankheit das Serum entnommen wird.

Putter (Greifswald).

Ficker, M., Einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen. Leipzig, Kurt Kabitzsch, 1921. 102 S.

Die früher von Abel und Ficker gemeinsam herausgegebene Schrift wurde in ihrer neuen 3. Auflage von Ficker allein besorgt. Sie setzt die bakteriologische Technik im wesentlichen als bekannt voraus. Ihre Hinweise dürften in gleicher Weise für den Anfänger wie den Geübten von Nutzen sein. Die angegebenen Hilfsmittel sind sämtlich einfach und praktisch; manches wird auch in größeren Laboratorien mit Nutzen verwertet werden können. Wohl in vielen Laboratorien wird sich bei Beachtung der Fickerschen Ratschläge noch irgend eine neue und wesentliche Materialersparnis erzielen lassen.

Aus den zahlreichen im Kriege vorgeschlagenen „Verbesserungen“ und Vereinfachungen der bakteriologischen Technik hat Ficker sehr geschickt das ausgewählt, was wirklich auch heute noch eine Anführung verdient.

Schiff (Greifswald).

Schade, H., Die physikalische Chemie in der inneren Medizin. Die Anwendung und die Bedeutung der physikochemischen Forschung in der Pathologie und Therapie für Studierende und Aerzte. Dresden u. Leipzig, Theod. Steinkopff, 1921. 569 S. Mit 107 Figuren.

Allenthalben macht sich der Einfluß bemerkbar, den die physikochemische Forschung und insbesondere ihr jüngster Zweig, die Kolloidchemie, auf die Medizin gehabt hat, und es ist daher ein großes Bedürfnis, die bisherigen Resultate lehrbuchartig für die Mediziner zusammenzustellen und der weiteren Forschung Stützpunkte zu geben. Diese Aufgabe ist ungeheuer schwer. Es gibt zwei Arten Forscher auf diesem Gebiet. Die einen haben das Bestreben, die physikalische Chemie, also eine exakte Naturwissenschaft, ein Stück der theoretischen Physik, nach der Richtung zu fördern, daß sie imstande sei, biologische und medizinische Probleme zu lösen. Sie wären nicht imstande, ein solches Buch, wie das vorliegende, zu schreiben. Die wenigen exakten Grundlagen, die bisher zutage gefördert sind, reichen als Gerippe für ein solches Buch nicht aus; die Erfahrungstatsachen der Medizin, welche von seiten der physikalischen Chemie ihrer Deutung harren, würden nicht als Füllsel eines solchen Gerippes darstellbar sein, sie würden in der Luft schweben. Derartig veranlagte Forscher müssen sich begnügen, eine Monographie über irgend ein Teilgebiet zu schreiben, für das sie die exakte Grundlage für ausreichend halten. Die Anwendung auf die Medizin kann nur beschränkt, nur ein winziges Gebiet der unendlichen Mannigfaltigkeit sein. Der Weg dieser Forscher ist sicher; Stückchen für Stückchen werden die biologischen Wissenschaften durch sie auf die Höhe gehoben, daß sie gewissermaßen ein neues Kapitel der theoretischen Physik bilden. Denn das ist für sie das Kriterium dafür, daß eine Wissenschaft auf dem richtigen Wege ist.

Aber die praktische Medizin kann nicht warten, bis die Grundlagen alle in dieser Weise gefördert sind. Und so gibt es eine zweite Art von

durchaus gleichberechtigten, anders veranlagten Forschern, die es mit dem Anschluß an die exakte Physik nicht so genau nehmen; die ihr Kausalitätsbedürfnis befriedigt fühlen, wenn sie für biologische Erscheinungen gewisse Analogien in der Kolloidchemie finden. Diese Forscher haben auch schon Großes geleistet. Ja, diese Analogieerscheinungen sind überwiegend von ihnen selbst gefunden worden; nur wenig Bekanntes fanden sie von Physikern und Chemikern vorbereitet vor; im Gegenteil, sie haben durch die Aufindung von Phänomenen in der leblosen Natur, die Analogien zu Vorgängen des lebenden Organismus darstellten, den exakten Wissenschaften die höchsten Dienste geleistet und diese ausschlaggebend beeinflußt. Z. B. Die Lehre vom osmotischen Druck wäre nicht entstanden, ohne die Traubepfeffersche Membran, welche als Analogieerscheinung der Zellmembran von Nicht-Physikern gefunden wurde und später für den theoretischen Physiker eines der wichtigsten Hilfsmittel geworden ist.

Organisatorisch veranlagte Naturen finden sich bei beiden Arten von Forschern. Wenn es sich aber darum handelt, das Organisationstalent durch ein umfassendes Lehrbuch für Mediziner zur Geltung zu bringen, so werden die Forscher der ersten Kategorie in Verlegenheit sein. Sie fühlen ihre Zeit noch nicht gekommen. Die Umfassung eines so neuen Gebietes ist nur auf Kosten der letzten Exaktheit möglich. Schließlich ist beinahe die ganze medizinische Wissenschaft ein solches Kompromiß. Das Bestreben nach Eindringen in die letzten Tiefen muß ersetzt werden durch Vielseitigkeit, Belesenheit, Beweglichkeit und Aufnahmefähigkeit des Geistes, die Fähigkeit, um theoretische Klippen mit einer gewissen Eleganz so herumzukommen, daß der Geführte gar nicht merkt, wenn er um eine Klippe kommt. Nur dann ist man überhaupt imstande, das Tatsachenmaterial schon heute zu einem brauchbaren Lehrbuch aufzubauen. Von diesem Standpunkt aus betrachte ich das Buch von Schade. Mit der Bewunderung für die Aufspeicherung eines riesenhaften Materials gerade so, wie es der eigentliche Mediziner, nicht aber der Physiker, verlangt, für die ungemaine Belesenheit und Vielseitigkeit des Verfassers, glaube ich die Voraussage verbinden zu dürfen, daß dieses Buch für langé Zeit für alle Mediziner die Quelle für Belehrung und Anregung auf dem Gebiete der physiko-chemischen Forschungsrichtung sein wird, und selbst ein ganz anders veranlagter Forscher muß anerkennen, daß es diese führende Rolle für den praktischen Mediziner in vollem Maße verdient. Von diesem Standpunkt schiene es mir kleinlich, Einzelheiten, die mir der exakten Grundlage allzusehr zu entbehren scheinen, einer speziellen Kritik zu unterziehen. Ich bin überzeugt, daß der Verfasser sich dieser Schwächen ebenso bewußt ist wie der Kritiker und eine Vervollkommnung auf Grund des Fortschrittes der Wissenschaft selbst anstreben wird.

L. Michaelis (Berlin).

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der Proteine, Fermente, Toxine und Sera gegen Adsorption mittels Aluminiumhydroxyd.

(In Entwicklung der vorläufigen Mitteilung in der Sitzung der Biologischen Gesellschaft zu Petrograd am 15. März 1916.)

Von **M. A. Rakusin.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Dezember 1921.)

I. Einleitung.

Die Proteine in ihrer Beziehung zur Adsorption interessierten mich in erster Linie als kolloidale Massenprodukte der Natur, während die Erforschung der Fermente, Toxine und Sera, als Abkömmlinge der Proteine, sich als notwendige Konsequenz der Proteinstudien ergab. Das ganze Problem schien mir noch insofern zeit- und sachgemäß zu sein, als die Ergebnisse der Forschung auf diesem wichtigen Gebiet, soweit dieselben aus den Grundwerken von Oppenheimer, Abderhalden, Wolfgang Ostwald, Michaelis, Freundlich u. a. erhellen, noch manche Fragen unberührt lassen. Das Gesagte gilt sowohl von der Methodik der Adsorption als auch von dem Charakter der Adsorptionsprodukte im Vergleich zu dem der gelösten Substanz; und da es sich bei Eiweißstoffen, wie bekannt, lediglich um irreversible Adsorptionen handelt, so bleibt der Charakter der betreffenden Adsorptionsverbindungen so gut wie unerforscht. Ich begann meine Arbeit mit dem Prototyp aller Proteine, dem Hühnereiweiß, und dehnte alsdann die Untersuchung auf die übrigen Proteine und deren genannte Abkömmlinge, sofern mir solche während des Krieges zugänglich waren, aus. In dieser Reihenfolge sollen nun die gewonnenen Daten im Zusammenhange mit den diesbezüglichen Daten früherer Forscher besprochen werden, wobei ich es allerdings für meine Pflicht halte, zu bemerken, daß ich wegen der unnormalen

Lebensverhältnisse seit etwa Ende 1916 nur selten imstande war, die Literatur bis auf die betreffenden Originalabhandlungen zu verfolgen. Auch waren mir manche Reagentien und Präparate nicht immer zugänglich, so daß die vorliegende Abhandlung in keiner Weise etwas Abgeschlossenes repräsentiert. Es sollen vielmehr etwaige Lücken durch Fortsetzung der Arbeit unter den Bedingungen friedlichen Lebens ausgefüllt werden.

Ehe ich auf die Beschreibung der Versuchsergebnisse eingehe, möchte ich bemerken, daß ich die zu beschreibenden Adsorptionen fast ausschließlich mittels Aluminiumhydroxyds, als typischem amorphen (kolloidalen) Adsorbens, ausgeführt habe.

II. Adsorption der Proteine.

A. Adsorption des Albumins.

Zunächst wurde das rohe Eiklar des Hühnereis auf das Verhalten gegen Adsorption untersucht. Die Schüttelmethode erwies sich, wegen der Schaumbildung, als unanwendbar. Auch von der Methode der Filtration, die, wie Rakusin¹⁾ seinerzeit an der Filtration des Erdöls bewies, stets mit einer irreversiblen Adsorption verbunden ist, konnte hier, wegen der enormen Viskosität des Eiklars etc., abgesehen werden, und zwar selbst dann, wenn das Eiklar mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt war, d. h. bei einer Konzentration des Albumins von ca. 7 Proz. Es blieb also nur übrig, nach der Aufgußmethode zu greifen, d. h. Stehenlassen der Albuminlösung in Berührung mit dem $\text{Al}(\text{OH})_3$ im Laufe längerer Zeit. Zu diesem Behufe wurde, wie folgt, verfahren: Gleiche Volumina (etwa 10 ccm) Eiklar und Wasser wurden bei gewöhnlicher Temperatur innig vermischt und die Lösung in einen trockenen Erlenmeyerschen Kolben gebracht, in dem eine abgewogene Menge Tonerdehydrat sich befand, und zwar in einer 10-proz. Menge vom Gewicht der angewandten Eiklarlösung. Alsdann wurde der Kolben verkorkt und bei Zimmertemperatur 24 Stunden stehen gelassen. In einer

1) M. Rakusin, Ueber den Zusammenhang zwischen der Filtration der Erdöle und deren Adsorption. Journal d. russ. physiko-chem. Gesellsch., 1914, p. 593.

zweiten Probe der Eiklarlösung wurde die Konzentration, resp. das spezifische Gewicht (pyknometrisch), bestimmt. Nach 24 Stunden wurde die abgestandene Flüssigkeit vorsichtig vom $\text{Al}(\text{OH})_3$ abgossen und behufs Befreiung der letzten Anteile des Bodensatzes zentrifugiert, wonach die Konzentration des Filtrats ermittelt wurde. Die Konzentration wurde in diesem, wie in allen ähnlichen Fällen, durch vorsichtiges Abdampfen einer kleinen Probe auf einem Uhrgläschen bis zum konstanten Gewicht, und zwar bei einer Temperatur, die 50°C nicht übersteigt, also am liebsten im Wasserschrank, bestimmt.

Ich gestattete mir die eingehende Beschreibung der Arbeitsdetails nicht nur deshalb, weil die Einhaltung derselben mir stets gute Dienste leistete, sondern hauptsächlich darum, weil, soweit die Literatur ausreicht, man von der Aufgußmethode bei Adsorptionsstudien nur selten Gebrauch machte. Wenigstens beschreibt W. Ostwald¹⁾ nur einen einzelnen Fall einer solchen Adsorption einer Indigoaufschwemmung mittels guter Blutkohle.

Die Adsorptionsresultate der erwähnten Eiklarlösung mittels Tonerdehydrats (24 Stunden) gestalten sich, wie folgt:

| | Drehungswinkel α | l | Proz. Trock.-Substanz | Proz. Asche | Proz. Fett | Proz. Albumin | Spezif. Drehung |
|---|----------------------------|-----|-----------------------|-------------|------------|---------------|-----------------|
| Eiklar, 100-proz. Lös. | $-2,8^\circ$ | 0,5 | 15,7 | 0,41 | 0,21 | 15,08 | $-37,1^\circ$ |
| Eiklar, 50-proz. Lös. | | 0,5 | 7,85 | 0,21 | 0,11 | 7,54 | $-37,1^\circ$ |
| Nach der Adsorption der 50-proz. Lösung | $-1,0^\circ$ | 0,5 | 6,6 | 0,22 | — | 6,18 | $-32,6^\circ$ |

Anmerkung: Die Fettmenge wäre richtiger als Menge der „Extraktivstoffe“ zu bezeichnen.

Das wären die Eigenschaften des Filtrates nach vollendeter Adsorption der 50-proz. Eiklarlösung. Bezeichnen wir mit c die Albuminkonzentration dieser Lösung vor der Adsorption und mit c' die nach der Adsorption, so haben wir nach der Formel von Gurwitsch²⁾:

$$x = \frac{100 (c - c')}{100 - c'}$$

1) W. Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie (Dresden 1909), p. 437 u. 438.

2) Zeitschr. für physikalische Chemie, 1913, p. 323.

wo x in Gramm die Menge des aus 100 g Lösung adsorbierten Albumins bedeutet. Setzen wir an Stelle von c und c' die entsprechenden Werte 7,54, resp. 6,18 in die Formel, so finden wir: $x = 1,4495$ g, was 19,22 Proz. der in Lösung gewesenen Albuminmenge ausmacht.

Andererseits ist es auffallend, daß die abfiltrierte Lösung eine andere spezifische Drehung aufweist: die Lösung enthält also nicht das ursprüngliche Albumin, sondern ein durch $\text{Al}(\text{OH})_3$ abgespaltenes Produkt, dessen spezifische Drehung $= -32,6^\circ$ ist, und dessen andere Eigenschaften noch zu untersuchen wären.

Die vorgeführten Daten geben uns ferner die Möglichkeit, die spezifische Drehung der vom Tonerdehydrat aufgenommenen zweiten Komponente des Albumins zu berechnen, deren Menge, wie wir sahen, 19,22 Proz. beträgt. Da die spezifische Drehung der in Lösung gebliebenen Komponente $-32,6^\circ$ ist, und da deren Menge 80,78 Proz. beträgt, so ergibt sich die spezifische Drehung der vom $\text{Al}(\text{OH})_3$ gebundenen Komponente zu -56° . Natürlich sind die übrigen Eigenschaften dieser Komponente ebenfalls noch zu ergründen.

Im Einklange mit den Angaben früherer Forscher (s. o.) ist die „Adsorption“ des Albumins durch $\text{Al}(\text{OH})_3$ in bezug auf siedendes Wasser irreversibel. Da aber der Vorgang in diesem Falle mit einer Spaltung der gelösten Substanz durch das Adsorbens verbunden ist, so möchte ich solche Adsorptionen als spaltende Adsorptionen bezeichnen. Im weiteren glaube ich aber auf diese wichtige Frage noch zurückzukommen.

Von einigem Interesse ist auch der Umstand, daß das Aluminiumhydroxyd neben der erwähnten Komponente des Albumins auch alles Fett (s. o., Anmerkung) und einen Teil der Aschensubstanz adsorbiert.

Weiteres Licht in die uns interessierende Frage bringt das Prinzip der methodischen Adsorption, d. h. die sukzessive Behandlung der Adsorptionsfiltrate mit einer neuen Portion des Adsorbens. Eine zweite Portion der 50-proz. Eiklarlösung wurde wie bereits beschrieben, mit 10 Proz. $\text{Al}(\text{OH})_3$ bearbeitet. Nach 24 Stunden wurde die abfiltrierte Lösung auf ihre Eigenschaften geprüft und alsdann vom neuen mit 10 Proz. $\text{Al}(\text{OH})_3$ behandelt. Die Versuchsergebnisse erhellen aus folgender Zusammenstellung:

| Eigenschaften der Lösung: | Vor der I. Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Spez. Gew. 15° C | 1,0172 | 1,0151 | — |
| Drehungswinkel | —2,6° | —1,8° | —1,8° |

Wir sehen somit, daß die erste Adsorption eine erschöpfende ist, und daß $\text{Al}(\text{OH})_3$ während der zweiten Adsorption dem Eiklar nichts mehr entzieht. Die erste Adsorption war also tatsächlich eine Abspaltung einer Albuminkomponente durch das amphotere Tonerdehydrat. Folgender Kontrollversuch beweist die Richtigkeit des Gesagten: Eisenhydroxyd (selbst bereitet) wirkt auf die Eiklarlösung überhaupt nicht, wie aus folgenden Daten zu ersehen ist:

| Konzentration der Eiklarlösung: | Anmerkung: |
|---------------------------------|--|
| Vor der Adsorption 7,76 Proz. | 10-proz. $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 24 Std. bei gewöhnlicher Temp. |
| Nach „ „ 7,77 „ | |

Diese Daten sind noch insofern bemerkenswert, als $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ein gutes Adsorbens ist, falls es sich um nichtspaltende, also erschöpfende Adsorptionen handelt. So hat Rakusin¹⁾ mittels Eisenhydroxyds (und Oxyds) eine Erdöllösung in Benzin mit Leichtigkeit entfärbt.

Zuletzt sei bemerkt, daß die obigen Versuche mit käuflichem „Albumen ex ovis“ und schließlich mit dem nach Adolf Strecker (Zersetzung des Bleialbuminats mittels H_2S etc.) wiederholt wurden, wobei dieselben Resultate, wie oben angegeben, erhalten wurden.

Aus all dem Gesagten läßt sich mit Sicherheit der Schluß ziehen, daß das $\text{Al}(\text{OH})_3$ sich gegenüber Eialbumin nicht wie ein Adsorptionsmittel, sondern wie eine amphotere Verbindung verhält. Mit anderen Worten, wir haben es hier mit einer unsichtbaren chemischen Reaktion zu tun, wobei farblose Produkte mit verschiedenen optischen Eigenschaften entstehen. Der chemische Charakter des Prozesses folgt auch aus der eigentümlichen Stöchiometrie, die dem Prozeß zugrunde liegt. Es stellte sich nämlich heraus, daß die oben angegebenen quantitativen Verhältnisse der Adsorptionsprodukte nur dann erzielt werden, wenn die Menge des Adsorbens ca. 10 Proz. beträgt und wenn dasselbe keine Feuchtigkeit enthält, d. h. wenn es wirklich der Formel

1) Bericht unter der Presse.

Al(OH)_3 entspricht, während das käufliche Tonerdehydrat oft bis 18 Proz. Feuchtigkeit enthält und erst durch Trocknen im Wasserschrank bis zum konstanten Gewicht diese Zusammensetzung erreicht. Es ist allerdings höchst interessant, daß feuchtes Al(OH)_3 in wässriger Lösung nicht so wirkt, wie trockenes. Deshalb hält man sich stets getrocknetes Al(OH)_3 vorrätig.

B. Die Adsorption des Kaseins.

Sowohl Hammarsten¹⁾, dem wir eine der besten Methoden zur Darstellung reinen Kaseins verdanken, als Robertson²⁾ betrachten das Kasein als chemisches Individuum. Letzterer basiert seine Ansicht hauptsächlich auf dem Verhalten des reinen Kaseins. Er modifizierte das bekannte Verfahren von Hammarsten gegen Alkalien und alkalische Erden. Er fand nämlich einen ganz bestimmten Titer des Kaseins, von dem 1 g 8 ccm $\frac{1}{10}$ n Alkali erfordern, und Rakusin³⁾ konnte diese Daten bestätigen.

Von diesem Standpunkte aus ließ es sich annehmen, daß Al(OH)_3 bei der „Adsorption“ des Kaseins dasselbe nicht zu spalten vermag, wie wir das beim Albumin beobachtet haben. Der Versuch hat diese Annahme bestätigt. Zur Lösung des Kaseins wurden Boraxlösungen (2-proz. resp. 1-proz.) angewandt, mit denen Kasein, wie bekannt, gut klebende Lösungen gibt⁴⁾. Die betreffenden Versuchsergebnisse gestalten sich wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung: | Vor der I. Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|---------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| Drehungswinkel | —4,8° | —3,5° | —2,8° |
| l | 1 dm | 1 dm | 1 dm |
| c ⁵⁾ | c = 5,0204 | c' = 3,68 | c'' = 2,95 |
| Spez. Drehung | —95,5° | —95,1° | —94,9° |

Anmerkungen: 1. Kasein nach Hammarsten. 2. 2-proz. Boraxlösung.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7, 1883, p. 727; Bd. 9, 1885, p. 273.

2) Robertson, Die physikal. Chem. d. Prot., Dresden 1912, p. 66, 82, 304.

3) Journ. d. russ. physiko.-chem. Ges., Bd. 47, 1915, p. 1059—1061.

4) Rud. Wagner, Handb. d. chem. Technol., Leipzig 1886, p. 717 u. 765.

5) Bei der Bestimmung von c wurden 0,02 in Abzug gebracht, und zwar auf den Gehalt der Lösung an Borax.

Diese Daten sind überaus lehrreich: vor allem wurden für das reine Kasein optische Daten erhalten, die mit den von Rakusin¹⁾ seinerzeit zuerst erhaltenen sehr gut übereinstimmen. Ferner sehen wir, daß wir es hier tatsächlich mit einer wahren Adsorption ohne jegliche Spaltungsprozesse zu tun haben: das $\text{Al}(\text{OH})_3$ nimmt bei jeder der zwei ausgeführten Adsorptionen lediglich das kolloidale Kasein auf und nichts vom kristalloiden Borax. Des weiteren sei bemerkt, daß die Adsorption in bezug auf siedendes Wasser irreversibel ist.

Folgender Kontrollversuch beweist mit genügender Deutlichkeit, daß an der Adsorption nur das kolloide Kasein, und nicht das kristalloide, in Lösung dissoziierte $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, teilnimmt: die zur Auflösung des Kaseins angewandte 2-proz. Boraxlösung wurde mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ behandelt und zwar durch einstündiges Schütteln unter Zuhilfenahme einer Wasserturbine, wobei folgende Daten gewonnen wurden:

Spezifisches Gewicht (15° C) der 2-proz. Boraxlösung:

| | |
|--------------------|---------------------|
| Vor der Adsorption | Nach der Adsorption |
| 1,0112 | 1,0112 |

Auf die Adsorption des Kaseins zurückkommend, will ich noch bemerken, daß sich gerade hier die Möglichkeit einer methodischen Adsorption gut veranschaulichen läßt: man beachte nur, daß nach der Ostwald-Freundlichschen Regel die adsorbierte Substanzmenge in Prozenten der gelösten Substanz mit abnehmender Konzentration zunimmt. Wir kommen aber zu noch wichtigeren Schlüssen; es finden nämlich zwei für die allgemeine Adsorptionslehre äußerst bedeutungsvolle Annahmen Bestätigung: 1) die Annahme von Michaelis²⁾, daß „eine hohe Adsorbierbarkeit geradezu als ein Charakteristikum der Kolloide hingestellt werden kann“, und 2) die Annahme von Freundlich³⁾, die er in vorsichtiger Weise mit folgenden Worten ausdrückte: „Neigung zur Dissoziation hemmt die Adsorption“. Soweit meine eigenen zahlreichen Daten ausreichen, läßt sich das Freundlichsche

1) Journ. d. russ. physiko-chem. Ges., Bd. 47, 1915, p. 148, 1331—1332.

2) W. Ostwald, Grundr. d. Kolloidchem., Dresden 1908, p. 416.

3) Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 57, 1907, p. 335—470.

Postulat folgendermaßen ausdrücken: es werden nur kolloide Molekel irreversibel adsorbiert, nicht aber Ionen. Dissoziierte Stoffe (s. o.) werden also überhaupt nicht adsorbiert.

So erklärt es sich unter anderem, warum die Filtration von Bakterien („unfiltrierbaren“) in der Kerze von Chamberland-Pasteur einen irreversiblen Adsorptionsprozeß repräsentiert und warum die Regenerierung der Kerzen nur durch vorsichtiges Ausglühen usw. geschehen kann.

C. Adsorption von Glutin.

(Zur Chemie des α - und β -Leims.)

Glutin (Knochenleim oder Gelatine) wird bekanntlich auch α -Leim genannt, und zwar im Gegensatz zum β -Leim, der aus α -Leim, nach Framm¹⁾, durch mehrstündiges Erhitzen desselben mit der doppelten Menge Wasser in der Druckflasche auf dem Wasserbade entsteht, und der nicht nur die Fähigkeit zu gelatinieren verloren hat, sondern auch eine ganz bedeutende Löslichkeit in Wasser gewonnen hat; die Löslichkeit beider Leimarten in H₂O ist nämlich folgende:

- 1) α -Leim = 0,75 Proz. (ohne bei gew. Temp. zu gelatinieren).
- 2) β -Leim = 15,80 Proz.

Ich habe mich bei meinen hier zu besprechenden Versuchen des nach Framm bereiteten β -Leims bedient. Doch möchte ich hier bemerken, daß es mir nach Abschluß dieser Versuche eine etwas einfachere, aber leider in Vergessenheit geratene Methode von Moritz Traube²⁾ in der Literatur zu finden gelang, die im folgenden besteht: 50 g Gelatine werden mit 200 g Wasser auf dem Oelbad in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben bei der Siedetemperatur der Lösung (101° C) erwärmt. Nach 12-stündigem Erwärmen erhält man eine beim Erkalten nicht mehr gelatinierende Lösung, während nach 30-stündigem Erwärmen die Flüssigkeit

1) Landolt, Das optische Drehungsvermögen org. Verbindungen, Braunschweig 1897, p. 629.

2) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1867, p. 141, 147 ff.; zitiert nach Waldens Mag.-Diss. „Osmot. Erscheinung. an Niederschlagsmembranen“, Odessa 1893

auch beim längeren Aufbewahren nicht gelatiniert. Ich habe hier diese Arbeitsmethode angegeben für den Fall, daß jemand bei der Fortsetzung meiner Proteinstudien die Methode von Traube der von Framm vorziehen möchte.

Die positiven Adsorptionen des α - und β -Leims wurden, wie bereits beschrieben, ausgeführt und gestalten sich, wie aus folgenden Zusammenstellungen erhellt:

Adsorption von α -Leim.

| Versuchsdaten | Vor der I. Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|----------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Drehungswinkel | $-1,0^\circ$ | $-0,5^\circ$ | $-0,5^\circ$ |
| c | $c = 0,7545$ | $c' = 0,38$ | $c'' = 0,38$ |
| l | 1 dm | 1 dm | 1 dm |
| Spez. Drehung | $-132,38^\circ$ | $-131,84^\circ$ | $-131,84^\circ$ |

Reaktion: neutral.

Charakter der Adsorption: irreversibel.

Anmerkung: c wurde durch Abdampfen auf dem elektrischen Bad von Hereus bei 45° C bestimmt.

Adsorption von β -Leim.

| Versuchsdaten | Vor der I. Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|----------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Drehungswinkel | $-2,5^\circ$ | $-2,0^\circ$ | $-2,0^\circ$ |
| c | $c = 3,95$ | $c' = 3,16$ | $c'' = 3,16$ |
| l | 0,5 dm | 0,5 dm | 0,5 dm |
| Spez. Drehung | $-126,58^\circ$ | $-126,58^\circ$ | $-126,58^\circ$ |

Reaktion: neutral.

Charakter der Adsorption: irreversibel.

Anmerkungen: 1) c wurde wie oben bestimmt. 2) Beide Adsorptionen sind gegenüber kochendem H_2O irreversibel.

Wir sehen somit, daß wir es in beiden Fällen mit erschöpfenden Adsorptionen zu tun haben. Während der zweiten Adsorption wird von Neuem nichts mehr adsorbiert. Im späteren werden wir noch Gelegenheit haben, solche Adsorptionen kennen zu lernen.

Was nun die Mengen der aus beiden Leimarten adsorbierten Substanz anbetrifft, so lassen sich dieselben, wie gesagt, nach der Formel von Gurwitsch berechnen und sind die folgenden:

1) Bei der Adsorption des α -Leimes = 49,88 Proz.

2) „ „ „ „ β -Leimes = 20,65 „

Ihrem Charakter nach unterscheiden sich beide Adsorptionen ganz wesentlich voneinander: offenbar trat beim Ueber-

gang des α -Leims in β -Leim eine Vereinfachung in der Zusammensetzung der Molekel ein, die vorläufig unerklärt bleibt. Die üblichen Farbenreaktionen geben hierüber keinen Aufschluß, da beide Leimarten dieselben Farbenreaktionen aufweisen, und zwar sowohl die Stickstoffreaktionen, d. h. die Biuretreaktion und die von Ostromyslenski mit Pikraminsäure¹⁾, als die Kohlehydratreaktion von Molisch.

D. Adsorption des Chondrins.

Das Chondrin, der Hauptbestandteil der Knorpelsubstanz nach der Benennung des unsterblichen Johannes Müller²⁾, verhält sich gegen Aluminiumhydroxyd überaus merkwürdig; es stellte sich nämlich, wie es Rakusin und Braudo³⁾ zu beweisen gelang, heraus, daß das Chondrin, je nach der Konzentration der Lösung, mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ ganz eigentümliche chemische, resp. Adsorptionsverbindungen gibt. Wir arbeiteten zunächst mit einem Chondrinpräparat von Theodor Schuchardt in Görlitz. Alsdann waren wir wegen der Kriegszeit genötigt, uns Chondrin selbst zu bereiten, und dienten uns hierbei Schweinsknorpel als Ausgangsmaterial³⁾. Das gewonnene Chondrin stimmte in seinen Eigenschaften mit dem Präparat von Schuchardt überein. Die wässerigen Lösungen des Chondrins opaleszieren sehr stark, so daß beispielsweise eine Lösung von $c = 0,1927$ sich als milchig-trüb erwies, und man durch solch eine Lösung im gewöhnlichen Probierring (Durchmesser 15 mm) nicht lesen konnte. Ebensolch eine Lösung entschlossen wir uns mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ zu behandeln, und zwar in der festen Uebersättigung, daß dieses „Adsorptionsmittel“ und die Aufgüßmethode uns hier ebenso gute Dienste leisten würden, wie bei den bereits beschriebenen Versuchen. Unsere Hoffnungen übertrafen jede Erwartung, wie aus folgenden Daten zu ersehen ist:

1) Auf diese, für die Biochemie höchst wichtige Farbenreaktion der Proteine und deren Derivate soll a. a. O. näher eingegangen werden.

2) Lieb. Ann., Bd. 21, 1837, p. 277.

3) M. Rakusin und Kat. Braudo, Zur Frage über die Zusammensetzung u. Eigensch. d. Chondrins u. d. Chondroitinschwefelsäure. Journ. d. russ. physiko-chem. Ges., Bd. 49, 1917, p. 200—207.

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der Adsorption |
|--------------------------------|---|------------------------------------|
| Konzentration | 0,1927 | 0,0987 |
| Spez. Drehung | -208,64° | -286,59° |
| Reaktion: | Neutral | Schw. sauer |
| Farbenreaktionen: | Biuret, Xanthoprot., Molisch und Ostromyalenski | Keine einzige Proteinreakt. |
| Reaktion mit BaCl ₂ | Wegen starker Opaleszenz unausführbar | Niederschlag mit BaCl ₂ |

Anmerkungen: Adsorptionsprodukte in Prozenten nach der Formel von Gurwitsch berechnet: Chondrinrest im Niederschlag 48,26 Proz., Chondroitinschwefelsäure im Filtrat 51,74 Proz., bestätigt.

Auf die Daten dieser Tabelle kamen wir auf folgende Weise: Nachdem wir uns überzeugten, daß die nach 24 Std. abgestandene, völlig klare Lösung keine einzige Eiweißreaktion aufweist, glaubten wir wohl annehmen zu dürfen, daß im Adsorptionsfiltrat lediglich die für das Chondrin charakteristische Chondroitinschwefelsäure vorhanden sein muß, die also in diesem Falle quantitativ abgespalten wurde. Der Versuch hat diese Annahme bestätigt, indem das Filtrat nur mit BaCl₂ reagierte. Aber im Gegensatz zur Schwefelsäure und deren Salzen war das Filtrat optisch aktiv, und zwar linksdrehend, wobei die spezifische Drehung sich zu -46,59° (in H₂O) ergab. Es war ohne Zweifel reine Chondroitinschwefelsäure, die mit der seinerzeit von Moerner und Schmiedeberg¹⁾ dargestellten Säure identisch war, denn die Rechtsdrehung der damals dargestellten Säure + 42° wird angezweifelt²⁾, was begreiflich wird, wenn man bedenkt, mit welchen Schwierigkeiten die Isolierung der reinen Säure nach der früheren Methode selbst in kolloidaler Form³⁾ verbunden war.

Von den weiteren Eigenschaften der nach der neuen Methode dargestellten Chondroitinschwefelsäure sei bemerkt, daß sie mikrokristallinisch ist, und bei 180° C sich zersetzt. Wie aus dem ermittelten Schwefelgehalt der Säure

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., 1891, p. 365; Oppenheimer, l. c. p. 208, 211.

2) Otto Cohnheim, Die Chemie d. Eiweißstoffe, Braunschweig 1900, p. 263.

3) Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie (russ. Uebersetzung 1913), Bd. 1, p. 173 u. 180.

zu ersehen ist, entspricht ihre Formel der von Moerner und Schmiedeberg festgestellten:

| Berechnet für | Gefunden |
|------------------------|------------------------------|
| $C_{18}H_{28}O_{17}NS$ | Analysierte Menge = 0,1354 g |
| 5,72 Proz. S. | BaSO ₄ = 0,0614 g |
| | S = 0,0084 g |
| | S = 6,27 Proz. |

So viel über die aus dem Chondrin mittels Al(OH)₃ isolierte Chondroitinschwefelsäure. Was nun den vom „Adsorbens“ aufgenommenen Chondrinrest anbetrifft, so läßt sich dessen spezifische Drehung aus obigen Daten, wie folgt, berechnen:

$$51,74 (-46,59^\circ) + 48,26 x = 100 (-208,64^\circ),$$

woraus die spezifische Drehung $x = -382,37^\circ$.

Man sieht endlich ohne weiteres, daß die beschriebenen Versuche die erwähnten Annahmen von Michaelis und Freundlich wiederum bestätigen, denn das Al(OH)₃ adsorbiert irreversibel den kolloidalen Chondrinrest, während die kristallinische, dissoziierte Chondroitinschwefelsäure in Lösung bleibt. Unerklärlich erscheint übrigens die Tatsache, daß die Chondroitinschwefelsäure sich mit dem Tonerdehydrat nicht verbindet. Vielleicht überwiegt in diesem Falle die Kraft der Oberflächenspannung die der chemischen Verwandtschaft. Im weiteren werden wir allerdings noch Gelegenheit haben, uns von ganz eigentümlichen Erscheinungen der Wahlverwandtschaft zu überzeugen, in denen Al(OH)₃ sich in dieser Beziehung analog dem Trypsin verhält, das gegenüber einer ganzen Reihe von Polypeptiden eine Wahlverwandtschaft aufweist¹⁾.

Ich hielt mich deshalb so lange mit der Beschreibung des Verhaltens des Chondrins gegenüber Al(OH)₃ auf, weil das ein merkwürdiger Fall einer gelinden Hydrolyse ist, die bei gewöhnlicher Temperatur und quantitativ, also ohne Verluste, verläuft. Speziell die Chondroitinschwefelsäure, als Produkt der Hydrolyse der betreffenden Proteine (Glutin, Chondrin, Amyloid usw.), ist bekanntlich noch sehr wenig erforscht; ja das Schicksal dieser Säure bei der durchgreifenden Hydrolyse (mittels HCl, H₂SO₄ etc.) scheint ganz übergangen zu sein. Wenigstens figuriert diese Säure, so-

1) Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie (russ. Uebersetzung), Bd. 1, 1913, p. 233.

weit die Literatur (bis 1914) ausreicht, unter den Produkten der hydrolytischen Spaltung der Proteine nicht. Auch scheint das Al(OH)_3 für die Zwecke der Spaltung der Proteine und deren Abkömmlinge ebenfalls zuerst angewandt zu werden.

Wir haben im obigen die „Adsorption“ des Chondrins mittels Al(OH)_3 in sehr verdünnten Lösungen besprochen. Nun wollen wir sehen, welchen Einfluß die Konzentration der Lösung auf diesen Prozeß ausübt. Bei einer Konzentration von ca. 0,5 Proz. geht der Adsorptionsprozeß, wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung: | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|------------------------------|---|-------------------------------|----------------------------------|
| Konzentration | 0,4980 | 0,3864 | 0,1532 |
| Farbenreaktionen | Biuret, Xanthoproteinreaktion, Molisch und Ostromyslenski | Biuret- und Molischs Reaktion | Keine einzige Proteinreaktion |
| Reaktion mit BaCl_2 | Weg. Opaleszenz unausführbar | | Niederschlag mit BaCl_2 |

In diesen zwei Adsorptionen haben wir ein merkwürdiges Beispiel von aufeinander folgenden spaltenden Adsorptionen, die aber in Wirklichkeit unsichtbare chemische Reaktionen sind, von denen die erste sich durch den Unterschied in den Proteinreaktionen kennzeichnet, während die zweite die uns schon bekannte Abspaltung der Chondroitinschwefelsäure repräsentiert, welche letztere nur bei passenden Verdünnungen eintritt und sich durch Ausbleiben sämtlicher Proteinreaktionen, die Reaktion mit BaCl_2 und das für die Chondroitinschwefelsäure charakteristische Drehungsvermögen erkennen läßt. Speziell während der I. „Adsorption“ tritt eine Verbindung des Al(OH)_3 mit einem polypeptidartigen Spaltprodukt des Chondrins ein, das nur die Biuretreaktion und die von Molisch aufweist; es ist das offenbar eine glukosidartige Verbindung, auf die ich a. a. O. zurückzukommen gedenke.

Bei weiterer Steigerung der Konzentration bis auf zirka 1 Proz. gestaltet sich der Adsorptionsvorgang, wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der Adsorption |
|--------------------------|------------------------------|------------------------|
| Konzentration | 1,2 | 0,8890 |
| Farbenreaktionen | 4 Farbenreaktionen (s. oben) | Dieselben 4 Reaktionen |
| Opaleszenz | stark | stark |

Anmerkungen: Adsorbierte Chondrinmengen nach der Formel von Gurwitsch berechnet: 0,3137 g oder 26,14 Proz.

Wir sehen somit, daß bei Konzentrationen von ca. 1 Proz. eine normale Adsorption des Chondrins stattfindet, die sich bis zur Erreichung der oben erwähnten Grenzen fortsetzen läßt, um entweder in eine partielle Abspaltung eines noch zu untersuchenden Polypeptids überzugehen oder in eine quantitative Abspaltung von Chondroitinschwefelsäure.

Fassen wir nun alles über das Verhalten des Chondrins gegenüber $\text{Al}(\text{OH})_3$ Gesagte zusammen und suchen wir uns die beschriebenen Erscheinungen zu erklären, so kommen wir zur Ueberzeugung, daß die wässerigen Chondrinlösungen bei Konzentration unter 1,2 Proz. hydrolytisch dissoziiert sind: bei Konzentrationen von ca. 0,5 Proz. geht diese Dissoziation bis zur Bildung des oben beschriebenen Polypeptids, während bei Konzentrationen von ca. 0,2 Proz. Chondroitinschwefelsäure glatt abgespalten wird.

Für die allgemeine Adsorptionslehre sind diese Adsorptionsphänomene insofern von Bedeutung, als sie wieder beweisen, daß die Erscheinungen der Adsorption und chemischen Verbindung nicht streng auseinanderzuhalten sind, daß sie vielmehr einander oft begleiten. Im weiteren werden wir noch mehrmals auf Beispiele zurückkommen, die nicht minder lehrreich sind, als die bereits beschriebenen.

Zuletzt sei bemerkt, daß die obigen Daten unsere Kenntnisse über die Chemie des Chondrins wesentlich ergänzen. Vor allem ist es interessant, daß Chondrin im Gegensatz zum Glutin die Xanthoproteinreaktion gibt. So erklärt es sich auch, daß unter den Produkten der hydrolytischen Spaltung der Gelatine Tyrosin und Tryptophan fehlen, weshalb Gelatine auch kein vollwertiger Nährstoff ist. Was nun die Produkte der Hydrolyse des Chondrins anbetrifft, so scheinen dieselben (bis 1914) nur teilweise untersucht zu sein. So fand ich nur einige Angaben über die Fäulnisprodukte des Chondrins¹⁾, unter denen Leuzin vorhanden sein soll, wogegen Glykokol und Tyrosin fehlen. Ferner findet man in technologischen Werken auch einige Angaben über die Spaltungsprodukte des Chondrins bei der auf ver-

1) La grande encyclopédie, T. 11, p. 224; nach der hier angegebenen Methode, die man übrigens in ausführlichen Lehrbüchern der Leimfabrikation findet, wurde das zu obigen Arbeiten angewandte Chondrin bereitet.

schiedenem Wege ausgeführten Hydrolyse, so z. B. bei der Behandlung mit 1-proz. H_2SO_4 und beim Kochen mit $Ba(OH)_2$ ¹⁾, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. Für die zukünftigen Arbeiten über die durchgreifende Hydrolyse des Chondrins werden die vorgeführten Daten über dessen gelinde Hydrolyse ohne Zweifel von Nutzen sein.

III. Adsorption der Fermente.

A. Verhalten des Pepsins gegen $Al(OH)_3$.

Wie die übrigen Fermente, sind die Pepsine des Handels nicht rein und sollen meistens kristalline und kolloidale Kohlehydrate in wechselnden Mengen enthalten²⁾. Dementsprechend gehen auch die Ansichten über die Zusammensetzung der Pepsinmolekel weit auseinander; während z. B. Nenzky und Sieber³⁾ von einem äußerst komplizierten, leicht zersetzlichen Komplex, ja sogar von einer Riesemolekel sprechen, und Aschoff⁴⁾ die verschiedenen fermentativen Wirkungen des Pepsins (Peptonisierung, Labwirkung etc.) auf das Vorhandensein von Seitenketten im Sinne von Paul Ehrlich zurückführt, vermochten andererseits Bugarski und Liebermann⁵⁾ festzustellen, daß das Molargewicht des Pepsins nur 760 beträgt⁶⁾. Ferner ist es bemerkenswert, daß selbst über die Farbenreaktionen und das optische Drehungsvermögen des Pepsins man in der Literatur (bis 1914) nur finden konnte, daß „nach den meisten Autoren das Pepsin alle Eiweißreaktionen aufweist und linksdrehend ist“⁷⁾. Endlich ist nicht zu vergessen, daß von einigen Forschern, wie

1) Ludwig Thiele, Die Fabrikation des Leims und der Gelatine (russ. Uebersetzung, Petrograd 1918), p. 19.

2) Ernst Schmidt, Ausführliches Lehrbuch der pharmakologischen Chemie, 1911, II, 2, p. 2111.

3) I. A. Smorodinzew, Die Fermente des Pflanzen- und Tierreichs, Moskau 1915, Teil 1 (russ.), p. 57.

4) Ebenda.

5) F. N. Schulz, Die Größe der Eiweißmoleküle (Jena 1903), p. 17 und 29.

6) Soweit ich die Literatur verfolgen konnte, liegen für andere Fermente noch keine Bestimmungen des Molargewichts vor.

7) Hoppe-Seylers Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse, bearbeitet von Thierfelder (Berlin 1909), p. 523.

z. B. von I. P. Pawlow und Parastschuk¹⁾, ferner von Rakoczy²⁾ Ansichten über die Identität von Pepsin und Chymosin ausgesprochen wurden, gegen die bekanntlich Hammarsten³⁾ Einwendungen erhob.

Mit Rücksicht auf das Gesagte sah ich mich genötigt, das von mir in Arbeit genommene Pepsin vorläufig auf seine Proteinreaktion und seine optischen Eigenschaften zu prüfen, die, wie wir sahen, bei Adsorptionsstudien sich von solchem Nutzen erwiesen, denn die Darstellungsmethoden des Pepsins waren zu verschiedenen Zeiten verschieden, und haben verschiedene Forscher offenbar Pepsinpräparate verschiedenen Reinheitsgrades in ihren Händen gehabt.

Ich bediente mich bei meinen Arbeiten des Pepsins von Witte in Rostock, welches folgende Eigenschaften aufwies:

Farbenreaktionen: die von Ostromyslenski auf Stickstoffverbindg. und
 „ „ Molisch „ Kohlehydrate.
 Spezifische Drehung in H₂O-Lösung = +64,5°.

Diese Daten sind äußerst bemerkenswert: da das in Arbeit genommene Pepsin abiuret ist und ferner keine einzige der anderen Stickstoffreaktionen der Proteine aufweist, so bleibt die von Ostromyslenski 1915⁴⁾ in Vorschlag gebrachte Reaktion mit Pikraminsäure die einzige Reaktion, die beweist, daß wir es im Pepsin mit einem stickstoffhaltigen Proteinbruchstück zu tun haben; sonst müßte man nach einer anderen Probe auf Stickstoff greifen, wie die mit Natronkalk oder metallischem Natrium etc. Was nun das optische Drehungsvermögen des Pepsins anbetrifft, so sehen wir, daß dasselbe sich als rechtsdrehend erwies. Diese Eigenschaft scheinen die Pepsinpräparate konstant aufzuweisen, denn ein anderes, von Dr. Matthias Wermel in Moskau auf meine Veranlassung untersuchtes Pepsin von unbekannter Herkunft ergab genau denselben Drehungswert,

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 42, 1904, p. 415.

2) A. G. Rakoczy, Untersuchungen über die Einheit des Pepsins und Chymosins. Mitteilungen der Universität Kijew, 1913, p. 184; Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1913, p. 349. (Zit. nach Smorodinzew, p. 88. Hier selbst ausführliche Literatur über Fermente.)

3) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 56, 1908, p. 18.

4) I. I. Ostromyslenski, Die Pikraminsäure als Reagens auf Eiweißverbindungen. (Notiz.) Journ. d. Russ. physiko-chem. Ges., 1915, p. 317.

und zwar ebenfalls Rechtsdrehung. Recht nahe Drehungswerte ergaben auch einige andere Pepsinproben (siehe unten). Ich glaube wohl annehmen zu dürfen, daß man das optische Verhalten des Pepsins zu seiner quantitativen Bestimmung an Stelle der üblichen komplizierteren Methode¹⁾ wird benutzen können.

An der Hand der vorgeführten Daten ließ sich der Adsorptionsprozeß des Pepsins mittels $\text{Al}(\text{OH})_3$ verfolgen, und gestalten sich die dabei erzielten Daten, wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|--------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| Drehungswinkel | +3,4° | +3,0° | +3,0° |
| Konzentration | 5,0 | 4,4 | 4,4 |
| l | 1 dm | 1 dm | 1 dm |
| Spez. Drehung | +68,0° | +68,1° | +68,1° |
| Spez. Gew. 15° C | 1,0222 | 1,0215 | 1,0217 |
| Reaktion | Sauer | Neutral | Neutral |

Anmerkungen: Die I. Adsorption ist gegenüber H_2O irreversibel; nach 1-stündigem Schütteln (Turbine) entzog dasselbe dem $\text{Al}(\text{OH})_3$ nichts und blieb inaktiv, neutral und hinterließ keinen Rückstand beim Verdampfen.

Während der II. Adsorption wird also nichts adsorbiert. Somit ist die I. Adsorption eine erschöpfende, und verläuft analog der des Glutins. Ob hier auch eine Abspaltung stattgefunden hat, läßt sich vorläufig nicht mit Sicherheit sagen. Nach der Formel von Gurwitsch läßt sich nur berechnen, daß das $\text{Al}(\text{OH})_3$ 12,4 Proz. von der gelösten Pepsinmenge irreversibel gebunden hat. Der physiologische Charakter der gelösten und adsorbierten oder eventuell chemisch gebundenen Substanz soll nun später ergründet werden. Diesen Teil der Arbeit, und zwar nicht nur am Pepsin, sondern auch an anderen Fermenten, führt in Gemeinschaft mit mir Herr S. L. Iwanow, Professor der Pflanzenphysiologie an der Universität Nijni-Nowgorod, aus. Hier sei nur bemerkt, daß schon die bloße Beobachtung im Polarisationsmikroskop (1:40) uns von der Inhomogenität der Pepsinsubstanz überzeugt. In der amorphen Grundmasse sieht man deutlich eingebettete Kriställchen, die wahrscheinlich die bereits erwähnten Kohlehydratbeimengungen repräsentieren.

1) J. Wohlgemuth, Grundriß der Fermentmethoden, Berlin 1913.

B. Adsorption des Trypsins.

Die Eigenschaften des Trypsins, welches auch mit den Namen „eigentliches Pankreatin“ oder „Myopsin“ bezeichnet wird, scheinen noch ebenfalls wenig untersucht zu sein¹⁾. Etwas mehr kennt man die Adsorptionsverhältnisse des Trypsins. So untersuchte Hedin²⁾ die Adsorption mittels Tierkohle. Ferner liegen Daten über die Adsorption mittels Seide, Wolle und Baumwollfäden, sowie Leinwand- und Papierstreifen, Agar-Agarstränge, Asbest und Glaswolle vor³⁾. Von besonderem Interesse ist der Umstand, daß das Trypsin, sowie Pepsin und einige andere Fermente von der Chamberlandkerze, also vom Kaolin adsorbiert werden. Ueber die chemische Natur des Trypsins ist nur so viel bekannt, daß es ein abiureter Körper, und kein Nukleoproteid ist⁴⁾.

In der Absicht, die Daten früherer Forscher nach Kräften zu ergänzen, habe ich sowohl die Adsorptionsverhältnisse des Trypsins gegen $\text{Al}(\text{OH})_3$, als einige andere Eigenschaften desselben zu untersuchen versucht. Doch muß ich sagen, daß die untersuchten Daten auf Vollständigkeit durchaus keine Ansprüche geltend machen können, da ich keine einheitlichen Trypsinpräparate erhalten konnte, und die Menge des Erhaltenen nicht für alle Versuche ausreichend war. Die untersuchten 2 Präparate wiesen folgende Eigenschaften auf:

| Präparate | Proteinreaktionen | Kohlehydratreaktionen |
|-----------|---------------------------------|-----------------------|
| No. 1 | Biuret- und Xanthoproteinreakt. | Reaktion von Molisch |
| No. 2 | Millons und Ostromyslenskis | „ „ „ |

Es ist also klar, daß wir es mit zwei ganz verschiedenen Substanzen zu tun haben. Das Präparat No. 2 scheint mir zuverlässiger zu sein, und zwar nicht nur, weil es im Einklange mit den Beobachtungen früherer Forscher abiuret ist, sondern auch weil das erste Präparat überhaupt verdächtig erscheint, indem es sich als inaktiv erwies, sauer reagierte und sogar 3,09 Proz. HCl enthielt (?). Zu der Zeit, als ich

1) Ernst Schmidt, l. c. p. 2113.

2) H. Euler, Allgemeine Chemie der Enzyme (Wiesbaden 1910), p. 226, 227, 256, 258.

3) Ebenda.

4) Ebenda.

mit dem Präparat No. 2 arbeitete, hatte ich wegen der Zustände im Lande mein wohleingerichtetes Laboratorium verloren und war gezwungen, auf polarimetrische und andere Beobachtungen zu verzichten. Ich muß mich deshalb auf folgende wenige Daten beschränken: die wässrige Lösung reagierte neutral und gab mit AgNO_3 eine Trübung. Bei der Adsorption mittels Al(OH)_3 gelang es mir, nur folgende Konzentrationsdaten zu ermitteln:

| | | |
|---------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Vor der Adsorption: | Nach der I. Adsorption: | Nach der II. Adsorption: |
| $c = 2,18$ | $c' = 1,67$ | $c'' = 1,59$ |

Beide Adsorptionen waren in bezug auf kochendes Wasser irreversibel. Im übrigen wird es mich freuen, wenn diese Arbeit fortgesetzt und so einiges Licht in die Frage über die chemische Natur des Trypsins hineingebracht werden wird.

C. Adsorption des Pankreatins.

Auch über dieses Ferment, das bekanntlich als ein Gemenge von Trypsin, Pankreasdiastase und einer Lipase aufzufassen ist¹⁾, gelang es mir aus oben angegebenen Gründen nur ziemlich dürftige Daten zu erzielen, die sich, wie folgt, gestalten²⁾:

Farbenreaktionen: biuret, von Ostromyslenski und Molisch.
Optisches Verhalten: inaktiv.

In Arbeit wurde „Pepsinum siccum in lamellis“ der Firma Stoll & Schmidt in St. Petersburg genommen. Außer den eben erwähnten Eigenschaften wies die Substanz folgendes Verhalten gegen Al(OH)_3 auf:

$$c = 2,177; c' = 1,931; c'' = 1,718; c''' = 1,698.$$

Alle drei Adsorptionen sind in bezug auf siedendes Wasser irreversibel. Wie gesagt, bin ich jetzt nicht imstande, die Arbeit fortzusetzen, ungeachtet des Interesses, die deren Fortsetzung bietet.

1) Ernst Schmidt, l. c.

2) M. Rakusin, Das optische Drehungsvermögen der Proteine etc. Journ. d. russ. physiko-chem. Gesellschaft, 1916, p. 1251—1294.

D. Adsorption des Papains.

Das Papain (Papayotinum), das peptonisierende Ferment, welches aus dem Frucht-, Stamm- und Blattsaft der *Carica papaya* gewonnen wird, wird auch Pflanzenpepsin genannt¹⁾. Dieser letztere Name scheint nicht ganz zutreffend zu sein. Abgesehen davon, daß Papain, im Gegensatz zu Pepsin, in neutraler Reaktion wirkt und auch labwirkende Eigenschaften aufweist, sind auch seine chemischen Eigenschaften grundverschieden, worauf S. L. Iwanow²⁾ bereits 1912 hinwies, und wie das aus folgenden von mir vorläufig gewonnenen Daten hervorgeht:

Spezifische Drehung des Pepsins: + 64° (Rakusin).
 „ „ „ Papains: + 32,9° (Iwanow).

Diese letztere Beobachtung habe ich an einem Papayotinpräparat der Firma K. I. Ferrein in Moskau bestätigen können.

Farbenreaktionen des Pepsins: Ostromyslenski u. Molisch (s. o.).
 „ „ Papains: dieselben und außerdem Spuren der Reaktion von Adamkewitsch.

Somit enthielte das Papain unzweifelhaft Spuren von Tryptophan, falls es bewiesen wäre, daß die Reaktion von Adamkewitsch die für diesen Körper einzige charakteristische Reaktion ist, was vorläufig nicht gesagt werden kann. Auf einige andere Unterscheidungsmerkmale des Papains soll a. a. O. eingegangen werden. Hier würde uns das zu weit führen.

Im weiteren Gegensatz zum Pepsin scheint das Papain in wässriger Lösung von $\text{Al}(\text{OH})_3$ nicht adsorbiert zu werden, wie das aus folgenden Daten erhellt:

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der Adsorption |
|--------------------------|--------------------|---------------------|
| Drehungswinkel | +0,55° | +0,55° |
| l | 1 dm | 1 dm |
| c | 1,5338 | 1,5423 |
| Spezifische Drehung | +35,93° | +35,97° |

Anmerkung: Es findet eine geringe, umkehrbare Adsorption statt. Die Waschwässer geben die Reaktion von Molisch; die Reaktion von Adamkewitsch ist wegen eintretender Verkohlung der Kohlehydrate unausführbar.

1) Ernst Schmidt, l. c. p. 2110.

2) Beihefte z. Bot. Zentralblatt, 1912, Abt. 1, p. 155.

Das wirksame Prinzip des Papains läßt sich also aus der wässrigen Lösung nicht adsorbieren. Vielleicht gelingt diese Adsorption in einem anderen Lösungsmittel. Eben in dieser Richtung wird die Arbeit von mir fortgesetzt, und zwar in Gemeinschaft mit S. L. Iwanow, der auch den physiologisch-chemischen Teil der Arbeit im Auge hat.

E. Adsorption der Diastase.

Sowohl die von den Eiweißstoffen abweichende elementare Zusammensetzung¹⁾ als die Farbenreaktionen (s. u.) beweisen, daß die Diastase ein Bruchstück der Eiweißstoffe repräsentiert. Die Farbenreaktionen sind in dieser Beziehung besonders maßgebend, denn während vollwertige Proteine, wie z. B. Eialbumin oder Blutfibrin, 8 Farbenreaktionen (also so gut wie alle) geben, weist die Diastase nur folgende Reaktionen auf: die Biuret- und Xanthoproteinreaktion und ferner die Reaktionen von Ostromyslenski und Molisch, und zwar mit den Empfindlichkeitsgrenzen: 1:160, 1:840, 1:750 und 1:6660. Diese, wie die unten folgenden Daten wurden an einem Präparat von Merck in Darmstadt gewonnen, und wenn man in der Literatur etwas abweichende Resultate findet²⁾, so mag das auf den verschiedenen Reinheitsgrad der betreffenden Präparate zurückzuführen sein.

Was nun die Adsorptionsverhältnisse der Diastase anbetrifft, so liegen hierüber in der Literatur sehr interessante Daten vor, die eben Veranlassung zu dieser Arbeit gaben. Wolfgang Ostwald³⁾ teilt nämlich mit, daß kolloidale Malzdiastase in alkalischer oder neutraler Lösung durch elektropositive Tonerde adsorbiert wird, während das elektronegative Kaolin keine Adsorption hervorruft.

Mit Rücksicht auf den amphoteren Charakter der $\text{Al}(\text{OH})_3$ und den spaltenden Einfluß desselben auf Proteine und deren

1) Ernst Schmidt, l. c. p. 2107.

2) Ernst Schmidt, l. c. p. 2107.

3) W. Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie, Dresden 1909, p. 424; B. I. Slowzow, Lehrbuch der physiologischen Chemie, St. Petersburg 1914, p. 130.

Abkömmlinge glaubte ich die von W. Ostwald beschriebenen Erscheinungen eben auf diese Eigenschaften des Tonerdehydrates zurückführen zu können. Es läßt sich also voraussagen, daß die Adsorption der Diastase mittels $\text{Al}(\text{OH})_3$ eine quantitative und spaltende sein muß. Der Versuch hat diese Annahme bestätigt, wie aus folgenden Daten zu ersehen ist:

| Versuch No. | D | D' | c | c' | $\frac{x}{g}$ | $\frac{x}{\text{Proz.}}$ |
|-------------|--------|--------|--------|--------|---------------|--------------------------|
| 1. | 1,0146 | 1,0136 | 3,3645 | 3,1296 | 0,2420 | 7,19 |
| 2. | 1,0149 | 1,0139 | 3,4581 | 3,2244 | 0,2456 | 7,10 |

Anmerkung: D und D' bedeuten das spezifische Gewicht bei 15°C vor und nach der Adsorption, c und c' die zugehörigen Konzentrationen und x die Menge der adsorbierten Substanz.

In beiden Versuchen war die Adsorption in bezug auf Wasser irreversibel.

Der spaltende Charakter der Adsorptionen geht aus folgenden Versuchsdaten hervor:

| Eigenschaften der Lösung: | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|---------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| D | 1,0146 | 1,0136 | 1,0136 |
| c | 3,3645 | 3,1296 | 3,1294 |

Spezifische Drehung: inaktiv.

Reaktion: neutrale Reaktion.

Mit der I. Adsorption ist der Prozeß also erschöpft. Die vom Tonerdehydrat aufgenommene Substanz gab nach ihrer Isolierung aus dem Adsorptionsniederschlag dieselben Farbenreaktionen, wie die in Arbeit genommene Diastase, mit Ausnahme der von Ostromyslenski. Wir haben es also im Niederschlag wirklich mit einem abgespaltenen Komplex zu tun, dessen Menge 7,19 Proz. beträgt. Da die Diastase bekanntlich aus einigen Enzymen besteht, unter anderem einer Dextrinase und einer Maltase, so ist es natürlich möglich, daß die Spaltung eben in diesem Sinne geschah. Das kann aber nur durch Fortsetzung der Arbeit in physiologisch-chemischer Richtung geschehen, an deren Notwendigkeit sich nicht zweifeln läßt.

Zuletzt sei erwähnt, daß auch die zweite Angabe W. Ostwalds über das Ausbleiben der Adsorption bei Kaolin sich ebenfalls bestätigte.

IV. Adsorption der Toxine.

A. Adsorption von Kochs Alttuberkulin.

(In Gemeinschaft mit G. D. Ffleher.)

Die Toxine oder „Toxalbumine“, nach der älteren Bezeichnung von Ludwig Brieger, lassen sich, je nach ihrer Herkunft, einteilen in: 1) Zootoxine (Kobra- und andere Schlangen- und Skorpionengifte usw.: Neurotoxine und Hämolytine), 2) Phytotoxine (Rizin aus Rizinussamen, Abrin aus *Abrus precatorius* usw.) und 3) Bakterientoxine (Diphtherie-, Tetanus- und andere Toxine). Die Bezeichnung Briegers „Toxalbumine“, resp. die von Nenzky „Bakterienproteine“ (Anthraxprotein etc.) scheinen mir doch gewisse Existenzberechtigung zu haben. Denn wenn beispielsweise Armand Gautier¹⁾ und andere französische Biochemiker die Toxine zu den Diastasen oder diastasischen Fermenten zählen, so wird dabei der eiweißartige Charakter dieser Körper hervorgehoben, was für unsere Betrachtungen, wie wir bald sehen werden, von höchster Wichtigkeit ist. Nicht minder wichtig für uns ist die fast einstimmig von den Chemikern angenommene Ansicht von der Analogie zwischen den Toxinen und Fermenten und dem katalytischen Charakter der durch Fermente und Toxine hervorgerufenen Erscheinungen²⁾.

Ich habe mir hier diese einleitenden Worte nicht nur deshalb gestattet, weil ich überzeugt bin, daß bei der Fortsetzung der Arbeit alle drei Toxinklassen zu berücksichtigen wären, sondern auch deshalb, weil diese und andere meine Studien mich unabhängig von den genannten Forschern zu ganz ähnlichen Schlüssen führten. Besondere Anregung speziell zu den Toxinstudien gewann ich aus den Arbeiten von Ostromyslenski³⁾, Edgar Zunz⁴⁾ und Weichardt⁵⁾, deren Ergebnisse später a. a. O. im Zusammenhang mit meinen eigenen Versuchsergebnissen kurz besprochen werden sollen.

Das nach der Pharm. germ., Ed. IV und V offizielle Tuberculinum Kochii, Alttuberkulin, wird aus glyzerinhaltigen Fleischbrühekulturen der Tuberkelbazillen durch Eindampfen auf ein Zehntel und darauf folgendes

1) A. Gautier, Die Chemie der lebenden Zelle, russ. Uebers. von Lindemann, Moskau 1895, p. 46 ff.

2) Oppenheimer, Handbuch der Biochemie, Bd. 1, 1909, p. 501 ff.

3) Journ. d. russ. physiko-chem. Ges., 1915, p. 263–317.

4) E. Zunz, Sur l'adsorption des toxines, des lysines et de leurs anticorps par l'acide silicique, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., 1913, p. 326 ff. (Die Arbeit behandelt auch Adsorptionen mit $Al(OH)_3$ und anderen Stoffen.)

5) Jahresber. über die Ergebnisse der Immunitätsforsch., Bd. 7, 1912, p. 220, 229–232, 245; zitiert nach Ostromyslenski.

Filterieren erhalten. Dieses Tuberkulin bildet eine klare, braune Flüssigkeit, welche 40 Proz. Glycerin enthält, und unterliegt der staatlichen Kontrolle¹⁾. Man sieht, daß hier von einem chemischen Individuum keine Rede sein kann. Das Gesagte gilt von den Toxinen ganz allgemein.

Das in Arbeit genommene Tuberkulinpräparat verdanke ich der außerordentlichen Liebenswürdigkeit meines seligen Freundes, Dr. Matthias Wermel in Moskau. Das Präparat repräsentierte eine orangefarbene Flüssigkeit von folgenden Eigenschaften:

Spez. Gew. (15° C) = 1,0852
Spez. Drehung = -14,62°
(H₂O-Lösung)

Farbenreaktionen: Biuret-,
Millon, Xanthoprotein-,
Adamkewitsch, Ostro-
myslenski, Molisch und
Pettenkofer

Anmerkung: Die Konzentration für die Bestimmung der spezifischen Drehung wurde durch Eindampfen im elektrischen Ofen von Hereus bei 50° C bis zum konstanten Gewicht ermittelt. Das Glycerin wurde aber nicht beseitigt (s. o.). Die betreffenden Daten waren: $\alpha = -0,7^\circ$; $l = 0,5$ dm; $c = 9,588$.

Einiges über die Eigenschaften des Tuberkulins, namentlich seine Farbenreaktionen als Hinweis auf seinen Proteincharakter, war bereits bekannt. So teilt Armand Gautier²⁾ mit, daß das Tuberkulin von Koch die Biuretreaktion und die von Millon und Adamkewitsch aufweist. Diese Angabe hat sich, wie wir sehen, nicht nur bestätigen lassen, sondern das Tuberkulin erwies sich, wenigstens soweit das aus den Farbenreaktionen zu ersehen ist, als ein recht vollwertiges Protein, namentlich als Analogon des Kaseins, Legumins etc. Es sei hierbei bemerkt, daß das Eialbumin, das Prototyp der Proteine, nur um eine Reaktion mehr gibt, namentlich auch die Reaktion von Liebermann³⁾, die gleich der Reaktion von Adamkewitsch als Tryptophanreaktion betrachtet wird, was noch nicht bewiesen ist; denn es gibt Verbindungen, die nur eine der zwei genannten Reaktionen aufweisen. — Natürlich spricht auch die Linksdrehung des Tuberkulins für den Proteincharakter desselben. Für die fernere Analogie des Tuberkulins mit den Nukleoalbuminen würde vielleicht auch sein Phosphorgehalt sprechen.

1) E. Schmidt, l. c. p. 2116.

2) A. Gautier, l. c. p. 52.

3) M. Rakusin, Kat. Braudo und Gal. Pekarskaja, Ueber die Grenze der Empfindlichkeit der Farbenreaktion der Proteine etc. Journ. d. russ. physiko-chem. Ges., 1915, p. 2051—2056.

Behufs Adsorption mittels Aluminiumhydroxyds wurde eine verdünnte Tuberkulinlösung genommen, da bekanntlich der Adsorptionsprozeß in verdünnten Lösungen sein Maximum erreicht. Die Versuchsergebnisse gestalten sich, wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|------------------------------------|--|------------------------|-------------------------|
| Spez. Gew. 15° C | 1,0074 | 1,0059 | 1,0059 |
| c | 0,8539 | 0,8163 | 0,8163 |
| Reaktion | Neutral | Neutral | Neutral |
| Farbenreaktionen des Filtrats | Alle Proteinreaktionen mit Ausnahme der von Liebermann (s. o.) | | |
| Farbenreaktionen des Niederschlags | Nur die Reaktionen von Molisch und Ostro-myslenski | | |

Anmerkungen: 1) Die nach der Formel von Gurwitsch berechnete Menge der adsorbierten Substanz ist = 4,44 Proz. 2) Die Adsorption ist gegenüber kochendem H₂O irreversibel.

Sowohl die zahlenmäßigen Daten als das chemische Verhalten des Niederschlags und Filtrats überzeugen uns von einer unzweifelhaften Abspaltung gewisser Atomkomplexe von der Molekel des Tuberkulins. Ich glaube wohl annehmen zu dürfen, daß die chemische Methode zur qualitativen und quantitativen Beurteilung des Adsorptionsprozesses und der dabei entstehenden Produkte hier zuerst in Anwendung gebracht wird. Zwar hat Edgar Zunz bereits 1919¹⁾ einige Spaltungsprozesse von Gemischen aus Toxinen mit den Antitoxinen entsprechend untersucht, aber bei diesen Untersuchungen wurden: 1) die Adsorptionsprodukte nach ihrer Wirkung auf Meerschweinchen etc. identifiziert, 2) gemäß dem rein biochemischen Charakter der Arbeit wurde von einer qualitativen und quantitativen Untersuchung des Prozesses abgesehen, und 3) wurde die Frage über die Reversibilität des Prozesses nicht berührt. Es sei übrigens bemerkt, daß die letzten zwei Fragen gewissermaßen unabhängig vom Experimentierenden ihre Erledigung in der Arbeit finden, denn es ist ja klar, daß das Amlebenbleiben des Versuchstierchens nach der Injektion der betreffenden Flüssigkeit auf eine quantitative Ausscheidung des Toxins hindeutet; es ist aber des weiteren auch klar, daß hier nur von irreversiblen Prozessen die Rede sein kann: sonst würden sie sich nicht nach

1) l. c.

der Aufgußmethode (24 Stunden) ausführen lassen, zu der wir, wie man sieht, unabhängig voneinander kamen.

Wie es scheint, ergänzen sich unsere Arbeiten in merkwürdiger Weise: offenbar komme ich auf rein chemischem Wege zu Resultaten, die Zunz auf biochemischem Wege erzielte. Ja, vielleicht sollen in Zukunft ähnliche Arbeiten überhaupt nur parallel ausgeführt werden, um so auf die medizinische Chemie, Chemotherapie etc. fördernd zu wirken.

Auf die vorgeführten Adsorptionsresultate des Alttuberkulins zurückkommend, will ich sagen, daß in diesem Falle nicht der wirksame Bestandteil des Tuberkulins, sondern nur eine dasselbe vielleicht belästigende Beimengung von relativ einfacher Zusammensetzung abgespalten wurde. Ja, vielleicht haben wir in der Behandlungsweise mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ eben eine Reinigungsmethode der Toxine und Fermente? Natürlich läßt sich diese Frage nur auf biochemischem Wege beantworten. Ich habe aber schon jetzt Daten, die die Richtigkeit dieser meiner Annahme außer Zweifel lassen, und soll das Nähere hierüber einer meiner nächsten Mitteilungen überlassen werden.

Zum Schluß möchte ich mir gestatten, im Anschluß an meine Daten die wichtigsten Ergebnisse der verdienstvollen Arbeit von Zunz, die in ihrer ganzen Tragweite noch nicht gewürdigt wurde (1914), hier vorzuführen. Zunz arbeitete außer mit $\text{Al}(\text{OH})_3$ und den verschiedenen Modifikationen der SiO_2 mit einer ganzen Reihe anderer, eigens präparierter Adsorptionsmittel und sah sich deshalb veranlaßt, in der bereits zitierten Arbeit sich nur auf einige charakteristische Gemische von „Körpern“ und „Antikörpern“ zu beschränken, deren Verhalten gegen Adsorption sich, wie folgt, gestaltet:

| No. | Adsorbens | Gemische von: | Adsorptionsprodukte im: | |
|-----|-------------------|--------------------------------|-------------------------|-----------|
| | | | Niederschlag | Filtrat |
| 1 | Aluminiumhydroxyd | Diphtherietoxin + Antitoxin | Toxin | Antitoxin |
| 2 | Tierkohle | dgl. | „ | „ |
| 3 | BaSO_4 | Tetanustoxin + Antitoxin | Antitoxin | Toxin |
| 4 | Talk | dgl. | Toxin | Antitoxin |
| 5 | Tripel | „ | Antitoxin | Toxin |

Zum Teil unter Zuhilfenahme der Gesetze der allgemeinen Adsorptionslehre, zum Teil aber auch auf Grund der Ergeb-

nisse der in vorliegender Abhandlung beschriebenen Versuche mit Aluminiumhydroxyd und der Kenntnisse über die chemische Natur der „Körper“ und „Antikörper“, worüber wichtige Arbeiten von Ostromyslenski (s. o.) vorliegen, wird der Leser sich die Beobachtungen von Zunz zu erklären imstande sein. Uebrigens sieht Zunz den Grund der von ihm beobachteten Erscheinungen in den elektrochemischen Gegensätzen der betreffenden „Körper“ und „Antikörper“, eine nicht unbegründete Ansicht, die W. Ostwald u. a. in bezug auf Diastase und andere Fermente aussprachen, und von der bereits oben die Rede war.

B. Adsorption des Tuberkulins von Denys.

Von dieser interessanten Substanz hatte ich weder genügende Mengen zur Untersuchung noch die diesbezügliche Literatur zur Verfügung. Die Beschaffung derselben ist mir zurzeit unmöglich, und so will ich deshalb hoffen, daß die unwillkürlichen Lücken meiner Arbeit bei deren Fortsetzung ausgefüllt werden.

In Arbeit wurden zwei Präparate genommen, für die ich wiederum meinem unvergeßlichen Freund Dr. Matthias Wermel zum innigsten Dank verpflichtet bin:

- 1) Tuberkul. Denys — Moskauer Fabrikat (M), und
- 2) Tuberkul. Denys — Präparat des „Institut de Bactériologie de Louvain“, „Bouillon filtré de Tuberculose“ (L).

In unerwarteter Weise erwiesen sich beide Präparate in chemischer Beziehung als grundverschiedene Substanzen, wie das aus folgender Zusammenstellung ihrer Eigenschaften erhellt:

| Physikalische Eigenschaften | Präp. | | Farbenreaktionen: | Präp. | |
|--|---------------|---------|------------------------|-------|---|
| | M | L | | M | L |
| Spez. Gew. 15° C | 1,0223 | 1,0194 | Biuret | — | — |
| Konzentration | 6,3174 | 2,2850 | Millon | — | + |
| Drehungswinkel } bei l = 1 dm } bei l = 0,5 dm } | undurchlässig | —0,48° | Xanthoprotein | Spur | + |
| | | —0,31° | Liebermann | „ | + |
| Spez. Drehung | —9,81° | —21,22° | Adamkewitsch | + | + |
| | | | Ostromyslenski | + | + |
| | | | Molisch | + | + |
| | | | Pettenkofer | + | + |
| | | | Freies NH ₃ | + | + |

Anmerkung: Farbe der flüssigen Präparate: M = gelb, L = strohgelb.

Sowohl an und für sich, als im Vergleich mit dem Tuberkulin von Koch sind die vorgeführten Daten auffallend.

Vor allem sehen wir, daß beide Präparate **abiuret** sind und beide **freies Ammoniak** enthalten. Im Gegensatz zum Tuberkulin von Koch sind also die beiden Präparate des Tuberkulins von Denys offenbar **polypeptidartige Abspaltungsprodukte** der Proteine, die durch gelinde Hydrolyse gewonnen wurden, und unter deren Produkten auch **freies NH₃** vorhanden ist, wie das beispielsweise bei der Hydrolyse der Pflanzenglobuline, Kaseine, Phytovitelline etc., nach der Klassifikation von Abderhalden ¹⁾, der Fall ist. Ein Kontrollversuch überzeugte uns, daß die Biuretreaktion, ungeachtet der Gegenwart von freiem NH₃, nicht maskiert wird, daß also die beiden Produkte wirklich **abiuret** sind.

Entsprechend dem Unterschiede in den Eigenschaften, die, wie es scheint, hier zuerst (1914) beschrieben werden, weisen die beiden Präparate auch ganz verschiedene **Adsorptionsverhältnisse** auf, wie das aus folgenden Versuchsergebnissen zu ersehen ist:

a) Adsorption des Präparates M.

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|--------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| Spez. Gew. 15° C | 1,0087 | 1,0074 | 1,0072 |
| Drehung (l = 1 dm) | -0,6° Ventzke | -0,2° V. | -0,2° V. |
| Reaktion | Neutral | Neutral | Neutral |
| Farbenreaktion | | Wie oben angegeben | |
| Farbe d. Lösung | Strohgelb | Farblose Lösung | |

Anmerkung: Die nach der Formel von Gurwitsch berechnete Menge der adsorbierten Substanz = 0,1613 g oder 7,67 Proz.

b) Adsorption des Präparates L.

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|--------------------------|--------------------|--|-------------------------|
| Spez. Gew. 15° C | 1,0076 | 1,0065 | 1,0065 |
| Konzentration | 0,8245 | 0,6354 | 0,6354 |
| Reaktion: | Neutral | Neutral | Neutral |
| Farbenreaktion | Wie oben angegeben | Die Lösung gibt die oben unter L angegebenen Reaktionen mit Ausnahme der Xanthoproteinreaktion und der von Millon und Liebermann, die nur in Spuren auftreten. | |

Anmerkung: Die nach der Formel von Gurwitsch berechnete Menge der „adsorbierten“ Substanz beträgt 0,1903 g oder 23,08 Proz.

1) E. Abderhalden, Lehrbuch der physiolog. Chemie (russische Uebersetzung, 1913), Bd. 1, p. 215, 216.

Die unter a und b vorgeführten Adsorptionsdaten bedürfen kaum der Erläuterung: man sieht ohne weiteres, daß die Adsorption im ersten Falle (Präp. M) nur in einer Entfärbung der Lösung besteht; es wurden offenbar nur gefärbte kolloidale Beimengungen von unbestimmter Zusammensetzung adsorbiert (7,67 Proz.), und zwar irreversibel, während der wirksame Bestandteil des Tuberkulins unberührt blieb. Wir haben es also hier wirklich mit einer Reinigungsmethode mittels $\text{Al}(\text{OH})_3$ zu tun (s. o.). Ein ganz anderer „Adsorptionsprozeß“ ist unter b beschrieben. Hier fand eine unzweifelhafte Abspaltung eines polypeptidartigen Produktes statt, das die Xanthoproteinreaktion und die von Molisch und Liebermann aufweist, und über dessen Zusammensetzung wir uns deshalb einen gewissen Begriff machen können. Gleichzeitig muß hier aber darauf aufmerksam gemacht werden, daß $\text{Al}(\text{OH})_3$ einen Körper abgespaltet hat, der die „Tryptophanreaktionen“ von Liebermann und Adamkewitsch nicht gleichzeitig gibt, sondern nur die von Liebermann, während die Reaktion von Adamkewitsch dem in Lösung gebliebenen Körper gehört. Es ist also klar, daß nur die eine der zwei genannten Reaktionen dem Tryptophan entspricht, und es noch bestimmt werden soll, welche eben die unzweifelhafte Tryptophanreaktion wäre. Ich hoffe, auf diese interessante Frage noch zurückkommen zu können, da ich noch viele andere Beobachtungen machte, die der beschriebenen ähnlich sind.

V. Adsorption der Leukomaine unbekannter Konstitution.

Adsorption von Pöhls Spermin.

Zu der Gruppe der Leukomaine von unbekannter Konstitution zählt Armand Gautier ¹⁾ die Protamine, das Salamandrin und das Spermin (Pöhl). Letzteres ist im Gegensatz zu den ersteren sauerstofffrei und soll die Formel $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_4$ besitzen, während Pöhl selbst der von ihm aus dem Sperma isolierten Verbindung andere Formeln zuzuschreiben versuchte ²⁾. Im geraden Gegensatz zu diesen Formeln steht

1) A. Gautier, l. c. p. 63 und 68; derselbe, *Les toxines microbiennes et animales Paris, 1896*, p. 282 f. (zit. nach Pöhl).

2) Oppenheimer, l. c. p. 817.

die von Schreiner 1878 vorgeschlagene Formel $C_4H_{10}N_2$ ¹⁾. Schreiner hat nämlich festgestellt, daß das Spermin (Schreinersche Base) sich in dem Sperma in Form eines Phosphates befindet und beim Eintrocknen dem Sperma sich in Form von charakteristischen Kristallen ausscheidet (Schreiners Kristalle). 1888 vermochten Ladenburg und Abel ²⁾ die von Schreiner in Vorschlag gebrachte Formel zu bestätigen und zu beweisen, daß die Zusammensetzung des Spermins der des Diäthylendiamins nahe steht, welches letzteres von Aug. Wilh. Hofmann ³⁾ synthetisch dargestellt wurde. Man sieht also, daß die Vertreter der reinen Chemie sich fast einstimmig für die Identität des Spermins mit dem Piperazin aussprachen. Ja, manche schreiben dem Spermin die noch einfachere Formel des Hemipiperazins C_2H_5N ⁴⁾ zu. Gegen diese Identität sprachen sich jedoch S. Mayer und A. Schmidt aus ⁵⁾. — Fassen wir die Arbeiten der erwähnten Forscher zusammen, so kommen wir zur Ueberzeugung, daß die Frage über die Zusammensetzung des Spermins im Laufe der letzten drei Dezennien so gut wie nicht berührt wurde, so daß wir bis jetzt hierüber im unklaren sind.

Was speziell das Spermin von Pöhl, als chemisch-pharmazeutisches Präparat anbetrifft, so soll es eine 2-proz. Lösung vom Chlorhydrat des Spermins sein, welches letzteres nach Pöhl und anderen in dem Sperma enthalten ist ⁶⁾. Dieses Präparat wird zu subkutanen Injektionen angewandt. Um mich zu überzeugen, ob wir es im Spermin mit einem sauerstoffhaltigen oder sauerstofffreien Proteinderivat zu tun haben. (daß es ein Bruchstück der Proteine des Protoplasmas ist. kann ja keinem Zweifel unterliegen), habe ich mich entschlossen, das Pöhl'sche Sperminpräparat nach obigem Schema zu untersuchen.

1) Ebenda; E. Schmidt, l. c. Bd. 2,1, p. 775.

2) Bericht der Deutschen chem. Gesellschaft 1888, p. 748 u. 2706 (zit. nach Neumeister, Bd. 2; hiers. u. bei Oppenheimer ausf. Lit.).

3) Ber. 1890, p. 3297.

4) V. v. Richter, Chemie der Kohlenstoffverbindungen, Bonn 1891, p. 325, 1038.

5) Ber. 1890, p. 3718.

6) Hager, Handbuch der pharmaz. Praxis, Berlin 1913, Bd. 2, p. 536, 541.

Das Präparat wies folgende Eigenschaften auf:

Es war eine rötlich-braune Flüssigkeit von neutraler Reaktion, die Linksdrehung aufwies, und zwar waren: $\alpha = 0,83^\circ$; $l = 1$ dm; $c = 15,65$ Proz.; $[\alpha]_D = -5,30^\circ$; die Konzentration des Präparates wurde durch vorsichtiges Eindampfen bis zum konstanten Gewicht, wie oben mehrmals angegeben, ermittelt.

Ferner gab das Präparat folgende 6 Proteinreaktionen: die Biuret- und Xanthoproteinreaktion und ferner die Reaktionen von Adamkewitsch, Ostromyslenski, Molisch und Pettenkofer; mit anderen Worten: es gibt alle Proteinreaktionen mit Ausnahme der von Millon und Liebermann. Diese Daten sind von doppeltem Interesse: vor allem ist es klar, daß das Spermin (Pöhl) ein Bruchstück des vollwertigen Albumins repräsentiert, wofür übrigens auch die Linksdrehung spricht; es kann also von einem reinen Piperazinpräparat, oder sogar überhaupt von irgendeiner sauerstofffreien Substanz keine Rede sein. Ferner haben wir in diesem Präparat ein nochmaliges Beispiel einer Substanz, die von den beiden „Tryptophanreaktionen“ nur die von Adamkewitsch aufweist (s. o.). Ich habe auch umgekehrte Beispiele beobachtet, und hoffe hierauf a. a. O. zurückzukommen.

Gegen Adsorption mittels $Al(OH)_3$ verhält sich Spermin (Pöhl), wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|--------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| Spez. Gew. 16° C | 1,0032 | 1,0024 | 1,0024 |
| Konzentration | 5,7505 | 5,0012 | 5,0010 |
| α ($l = 1$ dm) | -0,42° | -0,31° | -0,31° |
| $[\alpha]_D$ | -7,23° | -6,24° | -6,24° |
| Reaktion | Neutral | Neutral | Neutral |

Anmerkungen: 1) Es wurde eine andere Probe des Präparats untersucht, da die obige nicht ausreichte. 2) Die Adsorption ist irreversibel (kochendes H_2O).

Die nach der Formel von Gurwitsch berechnete Menge der abgespalteten Substanz beträgt 0,7887 g oder 13,7 Proz. Auch läßt sich natürlich die schwache Linksdrehung dieser Sperminkomponente berechnen. Die Eigenschaften beider Komponenten wurden aber nicht bestimmt, weil wegen der damaligen Zeitverhältnisse die Arbeit an dieser Stelle abgebrochen werden mußte.

VI. Adsorption der Sera.

Adsorption des Diphtherieheilserums, Diphtherie-Antitoxin-Behring, Serum antidiphtheriticum¹⁾.

In Arbeit wurde ein Präparat des Gabritschewskischen bakteriologischen Instituts der Universität Moskau genommen, welches eine gelbe Flüssigkeit von folgenden Eigenschaften darstellte:

Spez. Gewicht 15° C: 1,0340.

Konzentration: 10,5047 Proz.

Spez. Drehung: $-28,76^\circ$ ($\alpha = -3,12^\circ$; $l = 1$ dm).

Reaktion: neutral.

Proteinreaktionen: alle 8 Farbenreaktionen (s. o.).

Das Verhalten des Diphtherieheilserums gegen Adsorption mittels $\text{Al}(\text{OH})_3$ erhellt aus folgenden Versuchsdaten:

| Eigenschaft der Lösung | Vor der Adsorpt. | Nach der I. Adsorpt. | Nach der II. Adsorpt. | Nach der III. Adsorpt. |
|------------------------|------------------|---|-----------------------|------------------------|
| Spez. Gew. 15° C | 1,0117 | 1,0088 | 1,0074 | 1,0074 |
| Konzentrat. | 3,2853 | 2,3746 | 1,8851 | 1,8839 |
| α ($l = 1$ dm) | $-1,04^\circ$ | $-0,69^\circ$ | — | — |
| Farbe | Strohgelb | Farblose Lösung | | |
| Reaktion | Neutral | Neutral | Neutral | Neutral |
| Farbenreakt. | Siehe oben | Alle 8 Reaktionen des Ausgangsmaterials | | |

Anmerkungen: 1) Serumverdünnung = 1:3. 2) Alle 3 Adsorptionen sind irreversibel (koch. H_2O). 3) Alle Adsorptionen wurden nach der Aufgußmethode (24 Std.) ausgeführt.

Die während der einzelnen Adsorptionen aufgenommenen Substanzmengen lassen sich leicht berechnen und sind die folgenden:

| | | |
|------------------------------|---|-------------|
| I. 0,9520 g oder 28,54 Proz. | } | 43,77 Proz. |
| II. 0,4989 g „ 15,19 „ | | |
| III. 0,0012 g „ 0,04 „ | | |

Wir sehen somit, daß die Adsorption nach 48 Stunden vollendet war, und während der III. Adsorption nur Spuren der Substanz vom $\text{Al}(\text{OH})_3$ aufgenommen wurden. Es liegt also vor uns ein Beispiel einer recht langsamen Adsorption. In der Technik, namentlich bei der Reinigung der Abwässer der Farbenfabriken lassen sich solche langsamen Adsorptionsprozesse, je nach der Art des Filtrationsmaterials (Koks etc.) und der Korngröße desselben, oft beobachten.

1) E. Schmidt, l. c. Bd. 2, 2, p. 2117.

Jetzt können wir uns die Frage stellen, was für eine Substanz während der Adsorption von dem Diphtherieheilserum quantitativ (vielleicht liegt hier auch eine eigentümliche Stöchiometrie vor?) abgespalten (adsorbiert) wurde, das Antitoxin oder die dasselbe „begleitenden“ Proteinsubstanzen? Auf Grund der bereits erwähnten Versuche von Zunz können wir mit genügender Begründung annehmen, daß vom $\text{Al}(\text{OH})_3$ nur die Proteinbeimengungen des Diphtherieantitoxins aufgenommen wurden, da das Antitoxin selbst, nach dem Befunde von Zunz, wie wir sahen, nicht aufgenommen wird. Es ist somit anzunehmen, daß man auf die beschriebene Weise mittels $\text{Al}(\text{OH})_3$ Diphtherieheilserum reinigen kann. Ich zweifle nicht daran, daß die biochemische Kontrolle die Richtigkeit dieser Annahme bestätigen wird.

VII. Adsorption der Peptone.

Adsorption des Pepsin-Fibrinpeptons.

Dieses Präparat kommt in den Handel unter dem Namen Peptonum siccum. Ich bediente mich bei meiner Arbeit eines Präparats der Fabrik „Pharmakon“ in St. Petersburg, und das ist leider der einzige Körper aus der Klasse der Peptone, der mir während des Krieges zugänglich war. Des weiteren ist es interessant, daß die Eigenschaften sowohl des Blutfibrins¹⁾ als auch der Fibrinpeptone noch nicht genau beschrieben wurden (1915). Ich hielt es deshalb für zweckmäßig, den Adsorptionsversuchen eine Untersuchung der Eigenschaften des Pepsin-Fibrinpeptons vorzuschicken, die sich folgendermaßen gestaltet:

Spez. Drehung = $-95,24^\circ$ (s. u.). Nach einer früheren Angabe von Borkel²⁾ beträgt diese Größe nur $-36,36^\circ$ (H_2O). Offenbar handelt es sich hier um Präparate verschiedener Bereitungsart, bzw. verschiedenen Reinheitsgrades.

Farbenreaktionen der Proteine: Das Präparat wies alle 8 Farbenreaktionen auf, also wie ein vollwertiges Protein (s. o.).

1) M. Rakusin, Ueber einige Eigenschaften des Blutfibrins. Ber. unter der Presse.

2) Robertson, Die physikalische Chemie der Proteine, Dresden 1912, p. 311—316.

Die Adsorptionsverhältnisse des Pepsin-Fibrinpeptons gestalten sich, wie folgt:

| Eigenschaften der Lösung | Vor der Adsorption | Nach der I. Adsorption | Nach der II. Adsorption |
|--------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| α | $-1,0^\circ$ | $-1,2^\circ$ | $-1,2^\circ$ |
| l | 0,5 dm | 1 dm | 1 dm |
| c | 2,1 | 1,6 | 1,6 |
| $[\alpha]_D$ | $-95,24^\circ$ | $-75,0^\circ$ | $-75,0^\circ$ |

Anmerkungen: 1) Adsorption irreversibel (koch. Wasser). 2) Die vom $\text{Al}(\text{OH})_3$ „adsorbierte“ Menge der Substanz beträgt 0,5081 g oder 24,19 Proz. vom gelösten Pepton.

Die Aenderung der spezifischen Drehung der Lösung beweist ohne weiteres, daß im gegebenen Fall nicht eine normale, positive Adsorption stattfand, sondern eine Abspaltung einer Komponente des Peptons, deren Menge 24,19 Proz. beträgt, und deren spezifische Drehung sich, wie folgt, berechnen läßt:

$$24,19 \cdot x + 75,81 \cdot 75 = 100 \cdot 95,24,$$

wo x eben die spezifische Drehung der abgespalteten Peptonkomponente bedeutet. Mithin ist:

$$x = -158,66^\circ.$$

Hieraus ergibt sich folgende Zusammensetzung des Pepsin-Fibrinpeptons:

- 1) „Adsorbierbare“ Komponente im Niederschlag: 24,19 Proz.;
 $\alpha_D = -158,66^\circ$, und
- 2) nicht adsorbierbare Komponente im Filtrat: 75,81 Proz.;
 $\alpha_D = -75,00^\circ$.

Offenbar repräsentieren die beiden Komponenten polypeptidartige Verbindungen, und äußert $\text{Al}(\text{OH})_3$ gegenüber einer dieser Verbindungen eine Wahlverwandtschaft.

VIII. Zusammenfassung der Resultate und Schlußbetrachtung.

Das Arbeitsmaterial hat sich, wie wir sehen, sehr ausgedehnt, und so glaube ich, daß eine zusammenfassende Uebersicht der gewonnenen Resultate wohl am Platze sein wird.

| No. Objekte | Relative Mengen der Adsorptionsprodukte und deren Eigenschaften: | | Anmerkungen |
|--------------|--|--|-----------------------------------|
| | Niederschlag | Filtrat | |
| 1. Eialbumin | 19,22 Proz.; spez. Dreh. = $-56,00^\circ$ | 80,78 Proz.; spez. Dreh. = $-32,6^\circ$ | Nähere Eigenschaften unerforscht. |
| 2. Kasein | Normale positive Adsorption der ganzen Molekel. (Auch methodisch möglich.) | | |

| No. Objekte | Relative Mengen der Adsorptionsprodukte und deren Eigenschaften: | | Anmerkungen |
|--------------------------------------|--|---|--|
| | Niederschlag | Filtrat | |
| 3. α -Leim | 49,88 Proz. | 50,12 Proz. | Erschöpfend. Ads., vielleicht auch Abspaltung |
| 4. β -Leim | 20,65 Proz. | 79,35 Proz. | Ebenfalls |
| 5. Chondrin ($c=0,2$ Proz.) | 48,26 Proz. Chondroitinrest $\alpha_D = -382,37^\circ$. (Berechnet) | 51,74 Proz. Chondroitinschwefelsäure; $\alpha_D = -46,59^\circ$ (BaCl ₂ !) | Die Säure wurde zuerst rein dargestellt u. untersucht. |
| ($c=0,5$ Proz.) | Zuerst Abspaltung des Biuretcomplexes, alsdann bei $c = 0,3864$ Abspaltung d. Chondroitinschwefelsäure | | |
| ($c=1,2$ Proz.) | Normale Adsorption der ganzen Chondrinmolekel | | |
| 6. Pepsin | 12,4 Proz. | 87,6 Proz. | Vgl. die beiden Leime |
| 7. Papain | Wird nicht adsorbiert | | |
| 8. Diastase | 7,14 Proz.; negative Reaktion von Ostromyslenski | 92,86 Proz.; gibt wohl die gen. Reaktion | |
| 9. Kochs Alt-tuberkulin | 4,44 Proz.; Reaktionen von Mollisch und Ostromyslenski | 95,26 Proz., die übrigen 5 Reakt. der Nukleoprot. (s. o.) | |
| 10. Tuberkulin v. Denys (Pr. Moskau) | 7,67 Proz.; wahrscheinlich nur gefärbte Verunreinigung | 92,33 Proz. | |
| 11. Dasselbe (Louvain) | 23,08 Proz.; polypeptidart. Verb. (Reakt. v. Millon u. Liebermann) | 76,92 Proz.; gibt d. übrig. Reakt. d. Präp. (s. o) | |
| 12. Spermin (Pöhl) | 13,7 Pr.; schwach linksdrehend | 86,93 Proz.; $\alpha_D = -6,24^\circ$ | Die Untersuch. ist nicht beendet |
| 13. Diphtherieheils Serum | 43,77 Proz.; wahrscheinlich nur beigemengte Proteine | 56,23 Proz.; wahrscheinlich reines Antitoxin | Eine biochem. Prüfung des Serums würde die Arbeit gut ergänzen |
| 14. Pepsin-Fibrinpepton | 24,19 Proz.; $\alpha_D = -158,66^\circ$ | 75,81 Proz.; $\alpha_D = -75,00^\circ$ | Fortsetzung erwünscht |

Das wären wohl die wichtigsten der bei den beschriebenen Adsorptionstudien erzielten Daten. Wie man sieht, sind in die Zusammenfassung nur die Daten von Arbeiten aufgenommen, die als nach Kräften und Wissen abgeschlossen betrachtet werden können. Von den 14 typischen Beispielen der Einwirkung von $Al(OH)_3$ auf Proteine und deren Deri-

vate haben wir nur in einem einzigen Fall des Kuhkaseins eine normal verlaufende positive Adsorption. In allen übrigen Fällen liegen Spaltungsprozesse vor, die bis auf wenige Ausnahmen recht vollständig untersucht wurden. Das Verhalten der wässerigen Lösungen des Chondrins gegen Al(OH)_3 repräsentiert ein merkwürdiges Beispiel eines Ueberganges von einem rein chemischen, durch hydrolytische Spaltung bedingten, Prozeß zu einer normalen Adsorption, die Michaelis¹⁾ mit vollem Rechte als Charakteristikum des kolloidalen Zustandes bezeichnet.

Im übrigen sehen wir, daß das Al(OH)_3 in seinem Verhalten gegenüber den amphoteren Proteinen und deren Abkömmlingen vor allem seinen amphoteren Charakter äußert, und nicht den eines Kolloids; das Aluminiumhydroxyd erweist sich, mit anderen Worten, als farbloses Reagens auf den amphoteren Charakter einer Verbindung. Hierin äußert sich nicht nur die rein chemische Bedeutung des Al(OH)_3 , sondern auch seine Bedeutung für die physiologische und speziell medizinische Chemie, die ich desto mehr empfinde, je weiter ich meine Arbeiten fortsetze. Ich sah mich deshalb nicht einmal veranlaßt, mit Medizinern in Gedankenwechsel zu treten. Bereits 1916 teilte mir Dr. A. J. Mehr, mein Freund und Lehrer (damals Militärarzt im Felde) mit, daß Tonerde, namentlich Bolus alba, als Heilmittel schon Anwendung gefunden hat und zwar mit Erfolg. Es war nämlich Julius Stumpf²⁾, der bereits 1911 sein „Bolusverfahren“ zur Heilung der Cholera und ähnlicher Krankheiten anwandte. Zwar fehlt es in der Mitteilung von Stumpf an einem Hinweis auf eine wissenschaftliche Begründung des „Bolusverfahrens“, denn die Ergebnisse der erfolgreichen Heilversuche können in keinen Zusammenhang mit der Lehre von der Adsorption gebracht werden, aber die Heilwirkung des Bolus alba wird anerkannt, und soll, nach der Mitteilung von Stumpf, der eine ständigen Vorrat dieses Mittels „einer jeden Hausmutter“

1) W. Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie, Dresden 1909, p. 416.

2) J. Stumpf, Ueber Choleraabehandlung und Cholera prophylaxe auf Grund meiner Erfahrungen in Nisch und Belgrad. Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 14, p. 759 ff.; hierselbst auch die Literatur über das „Bolusverfahren“.

empfiehlt, Bolus alba an die Soldaten der Würzburger Garnison verteilt werden. Ferner brachte die Firma Merck in Darmstadt folgende Boluspräparate („Prof. Stumpfs sterilisierter Bolus“, Name geschützt) in den Handel:

- 1) Loses Pulver in verlöteten Blechdosen;
- 2) Sterilis. Bolus-Verbandschlauch (enth. 200—250 g auf 15 m Schlauch);
- 3) Sterilis. Boluskompressen und
- 4) Sterilis. Bolus-Wundverband (in Touristenpackung).

Stumpf selbst verteidigt sein Heilverfahren mit größter Ueberzeugung: In Nisch genasen von 31 Kranken 30. „Aber auch dieser würde genesen“, schreibt Stumpf, „wenn man ihm das Mittel um jeden Preis in genügender Menge in den Körper hineingebracht hätte.“ Vom Standpunkte der oben beschriebenen Adsorptionsstudien sowohl von Rakusin als von Zunz erscheint die eben zitierte Behauptung von Stumpf als völlig begründet. Nicht minder begründet erscheinen folgende Worte Stumpfs: „Die besonders schweren Cholerafälle wollen mir weit mehr als eine wirkliche Vergiftung (Bakterientoxin), denn als ein Krankheitsprozeß imponieren.“ Im übrigen sei auf die Originalabhandlung von Stumpf hingewiesen.

Das von Stumpf in Vorschlag gebrachte Mittel, Bolus alba (weißer Ton), besteht hauptsächlich aus wasserhaltigem Aluminiumsilikat (Deutsch. Arzneibuch, Ed. IV), während Rakusin, sowie Zunz und andere, mit Aluminiumhydroxyd arbeiteten. Es fragt sich nun, ob es einen chemischen, resp. biochemischen Unterschied in der Wirkung der genannten Substanzen gibt. Ich habe schon darauf hingewiesen, daß das käufliche Aluminiumoxydat. praecipit. ca. 18 Proz. H_2O enthält, und beispielsweise auf Eialbumin bedeutend schwächer wirkt, als bis zum konstanten Gewicht getrocknetes $Al(OH)_3$. Noch schwächer ist die Wirkung von Al_2O_3 . Folgende Zusammenstellung¹⁾ veranschaulicht die erwähnten Unterschiede:

1) M. Rakusin u. Kat. Braudo, Aluminiumoxyd und Aluminiumhydroxyd als Adsorber und ihr Verhalten gegen wässrige Albuminösungen. Journal d. russ. physiko-chem. Gesellsch., Bd. 48, 1916, p. 95—97.

| No. | Adsorbens | c | c' | x g | x Proz. |
|-----|---------------------------------------|------|------|-------|---------|
| 1. | Chem. reines $\text{Al}(\text{OH})_3$ | 7,76 | 6,55 | 1,29 | 16,60 |
| 2. | Käufliches | 7,05 | 6,22 | 0,884 | 12,53 |
| 3. | Chem. reines Al_2O_3 | 7,76 | 7,35 | 0,442 | 5,69 |

Anmerkung: Die Eiweißlösung wurde mit 10 Proz. des Adsorbens 24 Stunden stehen gelassen.

Noch wesentlichere Unterschiede ergeben sich bei Anwendung von Kaolin oder gewöhnlichem Ton (Ziegelton, Töpferton) als Adsorptionsmittel für Eialbumin, wie das aus folgenden Daten ¹⁾ erhellt:

1) Bei der Aufgußmethode ads. Kaolin: 3,56 Proz.

2) „ „ „ „ Ton: 5,29 Proz. (Ton lufttrocken).

Beide Adsorptionen (10-proz. Adsorbens) waren wohl irreversibel, aber ohne Spaltung der Albuminmolekel, denn die spezifische Drehung blieb in beiden Fällen unverändert.

Da Kaolin, resp. Ziegelton, als Analoga von Bolus angesehen werden können, so läßt es sich wohl annehmen, daß dem „Bolusverfahren“ von Stumpf normale Adsorptionsprozesse ohne Spaltung der Molekel zugrunde liegen, denn Stumpf geht von der richtigen Ansicht aus, daß es sich in seiner Heilpraxis um Vergiftungen mit Bakterientoxinen handelt.

Sollte es also in früherer oder fernerer Zukunft zu entscheiden sein, welchem Adsorbens als Heilmittel der Vorzug zu geben wäre, so würde die Frage sich folgendermaßen beantworten lassen: theoretisch ist jedes irreversibel adsorbierende Mittel als Heilmittel anwendbar, wie das auch bei der Tierkohle, diesem Adsorbens par excellence, von jeher der Fall ist. Das von Rakusin vorläufig rein chemisch studierte Aluminiumhydroxyd müßte unbedingt auf seine physiologischen Eigenschaften geprüft werden, wobei natürlich mit chemisch reinem $\text{Al}(\text{OH})_3$ zu operieren wäre (s. o.). Was nun die von Zunz angewandten Adsorptionsmittel anbetrifft, so läßt sich a priori sagen, daß diejenigen Adsorbentien, die das Toxin aufnehmen, auch als Heilmittel (Gegengift) werden dienen können. Des weiteren ist es klar, daß die Zunzschen Versuche, die seit 1913 ohne Zweifel von verschiedenen Seiten her Fortsetzung erfahren haben, auch zu weiteren Arbeiten Veranlassung geben werden und zwar:

1) M. Rakusin, Ueber die Adsorption des Eialbumins mittels verschiedener Adsorber und nach verschiedenen Adsorptionsmethoden. Bericht unter der Presse.

1) zu neuen Reinigungsmethoden der Sera etc., wie das Rakusin (s. o.) am Diphtherieheilserum bereits gezeigt hat, und 2) zu neuen Reinigungsmethoden der Abwässer, namentlich der Krankenhäuser, oder auch der unreinen Wässer im Schlachtfelde etc. Erinnern wir uns nur, daß in einem der erwähnten Versuche von Zunz Al(OH)_3 das Diphtherietoxin quantitativ adsorbiert hat.

Ehe ich die Besprechung meiner eigenen Arbeiten, sowie der meiner genannten Vorgänger verlasse, möchte ich mir eine historische Notiz gestatten, aus der hervorgeht, daß Adsorptionsheilmethoden mittels Bolus bereits Plinius bekannt waren, wie ich das den Angaben des um die technische Chemie hochverdienten Otto Dammer¹⁾ entnehme. Zu den Zeiten von Plinius fand Bolus Anwendung in der Augenheilkunde, ferner als Mittel gegen Ruhr (!), und schließlich auch als Gegengift (!). Dammer berichtet ferner über die weite Verbreitung des Bolus als Heilmittel im Mittelalter. Von dieser Zeit stammt auch der Name „Sächsische Wundererde“ (aus Strigau), oder auch „Terra alba sigillata“, weil sie in den Handel in Form von mit Siegel versehenen Scheiben kam. Ich wollte nur mit dieser Notiz darauf hinweisen, daß es sich in den Heilversuchen von Stumpf um entweder vergessene oder wenigstens unterschätzte, und deshalb wenig untersuchte medizinische Tatsachen handelt.

Wir sehen somit, daß schon die ersten, rein chemischen Adsorptionsversuche des Verfassers, wie auch die biochemischen Studien von Zunz und endlich die sozusagen im Dunkeln begonnenen Heilversuche von Stumpf unabhängig voneinander zu ein und denselben Schlüssen führen, namentlich daß man auf dem Wege der Adsorption Krankheiten, die den Charakter von Vergiftungen haben, wird heilen können, ferner Fermente, Toxine etc. rein darstellen und eventuell Abwässer reinigen. Wir stehen also vor der Adsorptiologie als einer neuen Disziplin und vor der Adsorptiotherapie als einer ihrer schönsten Anwendungen zum Wohle der leidenden Menschheit.

1) Meyers Konversationslexikon, 3. Auflage, 1874—1882; vgl. auch Ernst Schmidt, l. c. 1907, 1. Bd., p. 947.

Nachdruck verboten.

Der Einfluß der Alkalität auf die Wirksamkeit der Chininalkaloide.

Von **L. Michaelis** und **K. G. Dernby**.

Mit 4 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Januar 1922.)

Inhaltsübersicht: I. Die Stellung des Problems. — II. Die angewandten Mikroorganismen. a) Wachstumskurve bei verschiedenem p_{H} . b) Die Lebensfähigkeit bei verschiedenem p_{H} . — III. Die angewendeten Chininalkaloide. a) Löslichkeit der Alkaloide bei verschiedenem p_{H} . b) p_{a} -Messungen in alkaloidhaltigen Lösungen. — IV. Die Abhängigkeit der bakteriziden Wirkung der Alkaloide vom p_{H} . a) Die Wirkungsreihe der Alkaloide bei konstantem p_{H} . b) Zeitlicher Verlauf der Abtötung der Staphylokokken durch Eucupin bei variiertem p_{H} . c) Aktivitätskurve des Eucupin. — V. Die Wirkung der Alkaloide in Bouillon von verschiedenem p_{H} . — VI. Die Beziehung der Oberflächenaktivität zum p_{H} . — VII. Die medizinische Bedeutung der Befunde.

I. Die Stellung des Problems.

Die von Morgenroth eingeführten Chininderivate haben als Desinfektionsmittel die besondere Eigenschaft, daß sie in ihrer Wirkung durch die Gegenwart von Eiweißstoffen verhältnismäßig wenig beeinflußt werden. Da sie gleichzeitig ziemlich ungiftig sind, war die Erwartung berechtigt, daß sie auch im lebenden Organismus als praktisch brauchbare Desinfektionsmittel für pathogene Keime verwendet werden konnten. In der Tat ist in den letzten Jahren eine gewaltige Literatur über diesen Gegenstand entstanden. Die Wirkung von Optochin und anderen Derivaten auf Pneumokokken wurde experimentell und klinisch von Morgenroth (1), Morgenroth und Bumke (2), Morgenroth und Kaufmann (3), Kaufmann (4), Gutmann (5), Wright (6), Moor (7), Neufeld und Schiemann (8) u. a. studiert; die Wirkung auf Diphtheriebazillen von H. Schäffer (9), Braun und Schäffer (10), W. Pfeiffer (11), Sommer (12), gegen Gasbrand von Morgenroth und R. Bieling (13), gegen Trypanosomen von J. Cohn (14), gegen Streptokokken und Staphylokokken von Kaufmann (15), von Morgenroth und Tugend-

reich (16) u. a. untersucht. Wenn wir aus allen diesen Arbeiten im Verein mit den Erfahrungen der Praktiker ein Resümee ziehen wollen, so wäre es etwas folgendes: In vitro sind die Chininderivate Desinfektionsmittel von höchster Wirksamkeit. In vivo sind sie es unter Umständen ebenfalls, aber nicht von so großer Allgemeinheit. Die Bedingungen im lebenden Organismus sind so kompliziert, daß nach der Ansicht von Morgenroth (17) der Reagenzglasversuch zur Beurteilung der klinischen Wirksamkeit nur eine sehr beschränkte Bedeutung hat. Recht zufriedenstellend waren im allgemeinen die Resultate bei abgekapselten Eiterungen. Weniger sicher sind die Wirkungen bei diffusen Gewebsinfektionen, Phlegmonen und besonders bei allgemeiner Sepsis. Als naheliegendste Erklärung hierfür könnte man annehmen, daß die einverleibten Alkaloide zum Teil schnell wieder ausgeschieden, zum Teil durch Anreicherung in den Zellen den Gewebsflüssigkeiten entzogen werden, so daß genügend hohe Alkaloidkonzentrationen nur vorübergehend erreicht werden können. Immerhin aber sind diese Alkaloide in Reagenzglasversuchen so wirksam, daß die Erklärung nicht befriedigt. Die Erklärung dieser Diskrepanz erscheint uns aber eine notwendige Vorbedingung zur Erreichung des gesteckten praktischen Zieles. Wir suchten deshalb nach einer anderen Erklärung und glauben diese wenigstens teilweise in gewissen physikochemischen Verhältnissen gefunden zu haben. Wir glauben zwar keineswegs, daß diese Erklärung erschöpfend sei, aber die hier darzulegenden Umstände bilden auf jeden Fall einen Teil derjenigen Dinge, die zur Lösung dieser Frage aufgeklärt sein müssen.

In der bisherigen Literatur über die Wirkung dieser Alkaloide ist noch keine Rücksicht genommen worden auf die Konzentration der H-Ionen. Soviel uns bekannt ist, kommt in dieser Beziehung nur eine Angabe von Braun und Schäffer in Betracht, welche fanden, daß diese Alkaloide durch Säure in ihrer bakteriziden Wirkung gegen Diphtheriebazillen geschwächt werden, und dementsprechend die Bichlorhydrate schlechter wirken als die Monochlorhydrate. Da nun der Dissoziationszustand der Alkaloide vom p_H abhängt, und die biologische Wirksamkeit der verschiedenen Dissoziationsformen

der Alkaloide zweifellos nicht die gleiche ist, so konnte man vermuten, daß eine bestimmte Menge eines Alkaloids je nach dem p_H der Lösung ein verschiedenes Desinfektionsvermögen besitzt. Von diesem Gesichtspunkt gingen auch Rona und Bloch (19) aus, als sie die Wirkung des Chinins auf Zellen (Blutkörperchen, Infusorien) und auf Enzyme (Invertase) untersuchten: Sie fanden eine starke Abhängigkeit der Chininwirkung vom p_H , und ihre Befunde ließen sich gemeinschaftlich durch die einfache Annahme deuten, daß die pharmakologische Wirkung nur der freien Chininbase anhafte, während die Ionen, bzw. Salze des Chinin, wirkungslos seien.

II. Die angewandten Mikroorganismen.

Um den Zusammenhang von p_H und bakterizider Wirkung der Alkaloide klar überblicken zu können, muß man zunächst mit einer Bakterienart arbeiten, welche an sich, ohne Gegenwart von Alkaloiden, in ihren Lebensbedingungen möglichst wenig vom p_H beeinflusst wird, leicht kultivierbar ist, und gleichzeitig genügend empfindlich gegen die Alkaloide ist. Diese Bedingungen schienen uns am besten beim Staphylococcus erfüllt. Wir arbeiteten mit einem Staphylococcus aureus, der aus menschlichem Eiter gezüchtet war.

a) Die Wachstumskurve des Staphylococcus aureus.

Der eine von uns (Dernby) hat in einer Reihe von Arbeiten den Zusammenhang von Bakterienwachstum und p_H schon wiederholt untersucht (20). Die jetzt angewendete Methode war folgende: Gewöhnliche Nährbouillon wird durch Zusatz von HCl oder NaOH auf ein bestimmtes p_H gebracht, und zwar wurden 9 verschiedene Bouillons hergestellt mit p_H von 3 bis 9. p_H wurde sowohl vor als nach der Kultivierung bestimmt, und zwar mit der kolorimetrischen Methode von Michaelis (21). Von diesen Bouillons wurden je 5 ccm in Reagenzgläschen abgefüllt und sterilisiert. Die Röhren müssen dabei klar bleiben. Dann wurden die Röhren mit je 0,1 ccm von einer Aufschwemmung des 24stündigen Agarrasens in Kochsalzlösung beimpft. Nach verschiedenen Zeiten wurde die Trübung der Kultur notiert. In der Tabelle I bedeutet:

0 kein Wachstum ++ gutes Wachstum
 ± Spuren +++ üppiges Wachstum.
 + deutliches Wachstum

Tabelle I.

| No. | p _H | | Wachstumsgrad nach | | | |
|-----|----------------|-----------------------|--------------------|--------|---------|---------|
| | vorher | nach 24-std. Wachstum | 3 Std. | 7 Std. | 20 Std. | 48 Std. |
| 1 | 3,0 | 3,0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 4,3 | 4,3 | 0 | 0 | ± | ± |
| 3 | 5,7 | 5,7 | ± | + | +++ | +++ |
| 4 | 6,5 | 6,5 | + | + | +++ | +++ |
| 5 | 7,0 | 7,0 | + | ++ | +++ | +++ |
| 6 | 7,4 | 7,3 | + | ++ | +++ | +++ |
| 7 | 7,8 | 7,5 | ± | ++ | +++ | +++ |
| 8 | 8,5 | 8,0 | 0 | ± | +++ | +++ |
| 9 | ca. 9 | ca. 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Wenn wir in ähnlicher Weise wie in die früheren Arbeiten die Wachstumskurve zeichnen, mit p_H als Abszisse und dem Wachstumsgrad als Ordinate, so erhalten wir folgendes Bild:

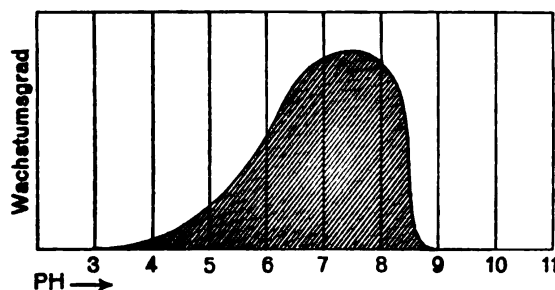


Fig. 1.

Das Optimum des Wachstums liegt etwa zwischen p_H = 7 und 8. Die äußersten Wachstumsgrenzen sind wohl asymptotisch aufzufassen und daher nicht sehr scharf anzugeben, jedoch können wir praktisch als Grenzen, innerhalb deren überhaupt ein merkliches Wachstum eintritt, p_H = 4 bis 4,5, andererseits p_H = 8,5 angeben.

Die Staphylokokken verändern das p_H während ihres Wachstums nicht sehr, zumal in zuckerfreier Bouillon. Am stärksten ist die p_H-Änderung in den alkalischsten Lösungen. Da wir jedoch im folgenden solche Lösungen nicht anwenden werden, spielt das keine Rolle.

Dieser Staphylococcus ist daher in der recht breiten Zone von $p_H = 4$ bis 8,5 wachstumsfähig, während nach den Untersuchungen von Dernby und Avery diese Zone für Pneumokokken in zuckerfreier Bouillon nur zwischen 7,1 und 8,2 liegt.

b) Die Lebensfähigkeit der Staphylokokken bei verschiedenem p_H

Es soll hier untersucht werden, wie lange die Staphylokokken in eiweißfreien Lösungen bei verschiedenen p_H am Leben bleiben. Zu diesem Zweck wurden einige Standardpuffermischungen in größerem Vorrat hergestellt, teils Aceat-, teils Phosphatgemische, p_H in denselben ein für allemal bestimmt, und in abgefüllte Proben derselben Staphylokokken abgeimpft, verschieden lange Zeit bei 37° in Thermostaten gehalten und dann davon Agarabstriche gemacht.

Tabelle II.

Resistenz des Staphylococcus aureus gegen H^- - und OH^- -Ionen. Je 1,5 ccm Kochsalzlösung + 0,5 ccm Puffer + 0,1 ccm Bakterienemulsion. Nach der in der Tabelle angegebenen Zeit wurden die Abstriche gemacht und 24 Stunden danach das Wachstum notiert.

| No. | p_H | Wachstum auf Agar nach Stehen von | | | |
|-----|-------|-----------------------------------|---------|---------|---------|
| | | 2 Std. | 24 Std. | 48 Std. | 6 Tagen |
| 1 | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 3,9 | + | + | + | + |
| 3 | 4,5 | + | + | + | + |
| 4 | 5,1 | + | + | + | + |
| 5 | 5,5 | + | + | + | + |
| 6 | 6,1 | + | + | + | + |
| 7 | 6,7 | + | + | + | + |
| 8 | 7,4 | + | + | + | + |
| 9 | 8,0 | + | + | + | + |
| 10 | 8,6 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Hieraus geht hervor, daß die Bakterien selbst nach 6 Tagen noch nicht abgestorben sind innerhalb $p_H = 3,7$ bis 8,2. Da wir in den folgenden Hauptversuchen kein einziges Experiment von so langer Dauer haben, können wir sicher sein, daß in diesen Versuchen es niemals die Natur des Milieus ist, die die Bakterien tötet, außer wenn das zugesetzte Alkaloid wirksam war.

Da nach den Untersuchungen von Dernby und David, Dernby und Allander Phosphate in höheren Konzentrationen viele Bakterien töten können, wurde darauf noch besonders Rücksicht genommen. In den vorangehenden Versuchen war die definitive Phosphatkonzentration $\frac{1}{60}$ molar. Der folgende Versuch zeigt, daß selbst in $\frac{1}{15}$ molar. Lösungen die Phosphate an sich noch nicht eine störende Wirkung ausüben.

Tabelle III.

Einfluß der Phosphatkonzentration auf die Wachstumfähigkeit der Staphylokokken. 24 Std. bei 37°.

| Phosphatkonzentration | Wachstum auf Agarplatten | |
|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | p _H der Bouillon = 6,7 | p _H der Bouillon = 8,0 |
| $\frac{1}{15}$ mol. | ++ | ++ |
| $\frac{1}{30}$ mol. | ++ | ++ |
| $\frac{1}{60}$ mol. | ++ | ++ |

In unseren Hauptversuchen überschreiten die Phosphatkonzentration niemals $\frac{1}{30}$ molar. Eine bakterizide Wirkung der Phosphate ist also hier nicht zu befürchten.

III. Die angewandten Alkaloide.

Am vorteilhaftesten erwies sich für unsere Versuche das Eucupin; alle genaueren Versuche wurden mit ihm gemacht. Die Vorteile desselben bestehen darin, daß die Löslichkeit seiner Base bei alkalischer Lösung besser als die höheren Derivate (Vuzin), seine Desinfektionswirkung wiederum besser, als die der niederen (Optochin oder gar Chinin) ist. Ueber die physikochemischen Eigenschaften der Alkaloide soll einiges mitgeteilt werden, nur gerade so viel, wie für die vorliegenden Zwecke erforderlich ist.

a) Die Löslichkeit der Alkaloide bei verschiedenem p_H.

Die Chlorhydrate bzw. die Ionen dieser Alkaloide sind sämtlich ziemlich gut löslich, während ihre freien Basen sämtlich schwerlöslich sind. Die Löslichkeit ist daher vom p_H abhängig. Die Löslichkeit der Base wird um so geringer, je höher die Alkaloide substituiert sind. Die Basen des Chinin

und des Optochinin sind immerhin noch so gut löslich, daß wir sie nicht näher untersuchten. Der Grund, weshalb wir die Löslichkeit überhaupt studierten, war nämlich nur folgender. Um das Desinfektionsvermögen eines Alkaloids bei wechselndem p_H zu studieren, müssen wir Lösungen von gleicher Alkaloidkonzentration, aber von verschiedenem p_H miteinander vergleichen. Dieser Vergleich hat nur dann einen Sinn, wenn das Alkaloid innerhalb der ganzen Versuchsreihe, auch in dem alkalischsten Röhrchen, gelöst bleibt. Die Untersuchung mußte sich also darauf erstrecken, welche Konzentration des Alkaloids wir anwenden durften, um überall, auch bei unseren alkalischsten Reaktionen, haltbare klare Lösungen zu erhalten, welche, wenn vielleicht nicht immer molekulardispers, aber jedoch auf die Dauer ohne Flockenbildung blieben und die gleichmäßige Verteilung des Alkaloids garantierten. Zu diesem Zweck wurden zunächst wieder Standard-Puffermischungen hergestellt, über welche Tabelle IV Auskunft gibt.

Tabelle IV.

Die Standard-Puffermischungen.

a) Acetatgemische

| No. | ccm 0,1 mol. Na-Acetat | ccm 0,1 mol. Essigs. | p_H (elektrometr. gemessen) |
|-----|---------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | 2 | 98 | 3,04 |
| 2 | 15 | 85 | 3,94 |
| 3 | 40 | 60 | 4,50 |
| 4 | 70 | 30 | 5,09 |

b) Phosphatgemische

| No. | ccm $m/_{15}$ Na_2HPO_4 | ccm $m/_{15}$ KH_2PO_4 | p_H elektrometr. gemessen | p_H n. d. Dia- gramm v. S5- rensen z. erwart. |
|-----|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|---|
| 5 | 0,4 | 9,6 | 5,47 | 5,50 |
| 6 | 1,2 | 8,8 | 6,06 | 6,00 |
| 7 | 5 | 5 | 6,77 | 6,81 |
| 8 | 8 | 2 | 7,40 | 7,38 |
| 9 | 9,5 | 0,5 | 8,02 | 8,1 |
| 10 | 10 | 0 | ca. 8,5 | — |

Zu je 1,8 ccm dieser Puffermischungen werden 0,2 ccm einer Lösung von Eucupinbichlorhydrat zugesetzt, und die Konzentration dieser zugesetzten Alkaloidlösung variiert. Die

folgende Tabelle gibt die definitiven Konzentrationen an Eucupin an sowie den Lösungszustand desselben nach längerer Beobachtung; es bedeutet

- klare Lösungen,
+, ++ verschiedene Trübungsgrade.

Tabelle V.

Löslichkeit des Eucupin in den Puffermischungen. Je 1,8 ccm Puffer- + 0,2 ccm Eucupin-bichlorhydrat-Lösung wechselnder Konzentration. Zimmertemperatur.

| No. | pH | Eucupin-Konzentration | | | | | |
|-----|-----|-----------------------|--------|---------|---------|---------|----------|
| | | 2:1000 | 1:1000 | 6:10000 | 2:10000 | 1:10000 | 6:100000 |
| 1 | 3,0 | — | — | — | — | — | — |
| 2 | 3,9 | — | — | — | — | — | — |
| 3 | 4,5 | — | — | — | — | — | — |
| 4 | 5,1 | — | — | — | — | — | — |
| 5 | 5,5 | — | — | — | — | — | — |
| 6 | 6,1 | + | — | — | — | — | — |
| 7 | 6,8 | ++ | + | — | — | — | — |
| 8 | 7,4 | ++ | ++ | ± | — | — | — |
| 9 | 8,0 | ++ | ++ | ++ | ± | — | — |
| 10 | 8,5 | ++ | ++ | ++ | + | ± | — |

Das Eucupinbichlorhydrat verändert natürlich das pH der Lösung etwas. Davon wird nachher ausführlich die Rede sein; es wird sich zeigen, daß diese Änderung sehr gering ist, und wir tragen zunächst diesem Umstand dadurch Rechnung, daß wir die pH-Werte etwas abrunden. Diese ganz rohen Versuche belehren uns genügend über alles, was wir praktisch brauchen, und wir gehen auf eine Theorie der Löslichkeit der Alkaloide nicht ein.

Tabelle VI.

Löslichkeit des Eucupinotoxin. Anordnung wie Tabelle V.

| No. | pH | Konzentration des Eucupintoxin | | | | |
|-----|-----|--------------------------------|---------|---------|---------|----------|
| | | 1:1000 | 6:10000 | 3:10000 | 1:10000 | 3:100000 |
| 1 | 5,5 | — | — | — | — | — |
| 2 | 6,1 | + | — | — | — | — |
| 3 | 6,8 | ++ | ± | — | — | — |
| 4 | 7,4 | ++ | ++ | — | — | — |
| 5 | 8,0 | ++ | ++ | + | — | — |
| 6 | 8,5 | ++ | ++ | + | ± | — |

Tabelle VII.
Löslichkeit des Vuzin. Anordnung wie Tabelle V.

| No. | p _H | Konzentration des Vuzin | | | |
|-----|----------------|-------------------------|---------|----------|----------|
| | | 1:1000 | 1:10000 | 3:100000 | 1:100000 |
| 1 | 3,0 | — | — | — | — |
| 2 | 3,9 | — | — | — | — |
| 3 | 4,5 | — | — | — | — |
| 4 | 5,1 | + | — | — | — |
| 5 | 5,5 | ++ | — | — | — |
| 6 | 6,1 | ++ | ± | — | — |
| 7 | 6,8 | ++ | + | — | — |
| 8 | 7,4 | ++ | ++ | ± | — |
| 9 | 8,0 | ++ | ++ | + | — |
| 10 | 8,5 | ++ | ++ | + | ± |

Tabelle VI zeigt den gleichen Versuch mit Eucupinotoxin. Es ist vielleicht ein klein wenig schwerer löslich, im allgemeinen aber dem Eucupin recht ähnlich. Dagegen ist die Löslichkeit des Vuzin (Tabelle VII) viel geringer.

b) p_H-Messungen in alkaloidhaltigen Lösungen.

Chinin, welches an der Platinelektrode reduziert wird, verhindert die p_H-Messung mit der Gaskette völlig. Dagegen sind die hydrierten Derivate, das Optochin, Eucupin, Vuzin bei der Messung mit der Gaskette in keiner Weise störend. In den folgenden Versuchsreihen wäre es aber praktisch schwer durchführbar, in jedem einzelnen Versuchsröhrchen p_H mit der Gaskette zu messen. Die Frage ist vielmehr, wieviel das durch elektrometrische Eichung schon bekannte p_H des Puffers durch den Alkaloidzusatz verändert wird. Darüber gibt Tabelle VIII Auskunft.

Tabelle VIII.
p_H-Messungen in Mischungen von Eucupin mit Phosphatpuffern.

| Eucupin- Konzentration | p _H (elektrometr. gemessen in den verschiedenen Puffermischungen) | | | | |
|---------------------------|---|------|--------|------|------|
| | Pufferlösung No. | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0 | 5,47 | 6,06 | 6,77 | 7,41 | 7,95 |
| 1:100000 | 5,45 | 6,06 | 6,77 | 7,40 | 7,95 |
| 1:10000 | 5,40 | 6,01 | 6,73 | 7,31 | 7,88 |
| 1:1000 | 4,80 | 5,90 | (6,58) | — | — |

Bei dieser Gelegenheit sei eine kurze vorläufige Bemerkung gemacht über die kolorimetrische p_H -Messung bei Gegenwart von Alkaloiden. Es zeigte sich, daß die geringsten Spuren eines solchen Alkaloids die Messung mit Hilfe der sonst so schönen Indikatoren von Clark nach der Sörensenschen Methode illusorisch machen. Nicht nur kommt ein ganz gewaltiger „Alkaloidfehler“ zum Vorschein, wie der Vergleich der kolorimetrischen und der elektrometrischen Messung zeigt, sondern bisweilen wird die Nuance des Farbstoffes sogar qualitativ verändert. Dagegen geben die von Michaelis eingeführten einfarbigen Indikatoren nur sehr geringe, praktisch bedeutungslose Fehler. Die Methode von Michaelis kann daher bei einigermassen niedrigen Alkaloidkonzentrationen angewendet werden. Unsere Zahlen sind aber alle elektrometrisch gewonnen.

Man sieht aus Tabelle VIII, daß der Zusatz von Eucupin in den von uns benötigten Konzentrationen praktisch so gut wie belanglos für das p_H ist.

IV. Die Abhängigkeit der bakteriziden Wirkung der Alkaloide vom p_H in reinen Pufferlösungen.

a) Die Wirkungsreihe der Alkaloide bei konstantem p_H .

Morgenroth und Tugendreich geben für die bakterizide Wirkungsstärke der Alkaloide auf Staphylokokken folgende Reihe an:

Vuzin > Eucupin > Optochinin > Chinin;
Vuzinotoxin > Vuzin;
Eucupinotoxin > Eucupin.

Nach diesen Autoren werden in gewöhnlicher Nährbouillon Staphylokokken durch Eucupin 1 : 10000 in 24 Stunden getötet. Es ist wohl anzunehmen, daß diese Autoren in ihren Versuchen ziemlich gleiches p_H anwendeten; wir wollten diese Versuche nochmals machen, und zwar erstens mit bewußter Anwendung von konstantem p_H , und zweitens zunächst in peptonfreier reiner Pufferlösung. Es wurde überall $p_H = 7,4$ angewendet. Die reine Pufferlösung wurde mit Staphylokokken in der früher angegebenen Weise beimpft, nach Zusatz variiertes Alkaloidmengen 24 Stunden bei 37° gehalten, und dann je ein Tropfen davon auf Agar ausgestrichen. Auf diese Weise ergab sich als kleinste tötende Dosis:

Tabelle IX.

Kleinste tötende Dosis des Alkaloids für *Staphylococcus aureus* in eiweißfreier Pufferlösung.

Einwirkungszeit 24 Std. bei 37°; p_H überall = 7,4.

| Alkaloid | Kleinste tödliche Konzentration | |
|---------------|---------------------------------|----------------------|
| Chinin | — | (1:1000 tötet nicht) |
| Optochin | 1: 1000 | |
| Eucupin | 5:100 000 | |
| Eucupinotoxin | 2:100 000 | |
| Vuzin | 1:100 000 | |

Die Zahlen haben nur einen rohen Annäherungswert, aber die Unterschiede sind deutlich und bestätigen die Angaben von Morgenroth und Tugendreich. Weiterhin haben wir Chinin nicht wieder untersucht. Man braucht von ihm so hohe Konzentrationen, daß durch den Zusatz des Chinin p_H schon merklich geändert wird. Da aber die Messung von p_H bei Gegenwart größerer Chininmengen weder mit der Gaskette noch elektrometrisch genau ausgeführt werden kann, sehen wir hiervon ab.

Die meisten Untersuchungen wurden mit Eucupin gemacht.

b) Zeitlicher Verlauf der Abtötung der Staphylokokken durch Eucupin bei variiertem p_H .

Als Maß für das bakterizide Vermögen kann man entweder die Zeit nehmen, welche eine bestimmte Menge Eucupin zur Abtötung braucht, oder die Menge, welche in einer bestimmten Zeit abtötet.

Tabelle X zeigt den zeitlichen Verlauf der Abtötung einer konstanten Eucupin-Konzentration (2:10 000) bei variiertem p_H .

Die Tabelle X zeigt, daß nach 1 Stunde keine andere Wirkung zu bemerken ist, als ohne Eucupin; $p_H = 3,5$ und $8,6$ tötet auch ohne Eucupin, die anderen bleiben auch mit Eucupin am Leben. Aber im weiteren Verlauf werden die Unterschiede deutlich; von $p_H \leq 6$ wirkt das Eucupin nach 6 Stunden tötend; nach 72 Stunden wirkt das Eucupin in dieser Konzentration bei jedem p_H tötend.

In den anderen Versuchen wurde die Einwirkungszeit konstant gehalten (24 Stunden), dagegen die Alkaloidmengen und p_H variiert. Sie ergeben zunächst die Resultate der Tabellen XI—XIV.

Tabelle X.

Zeitlicher Verlauf der Desinfektionswirkung.

1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,5 ccm Puffer + 0,1 Bakteriensuspension.
Temp. 37°. Eucupinkonzentration = 2:10 000.

| No. | pH | Wachstum auf Agar nach Einwirkung des Eucupin in der wässrigen Lösung + Puffer von | | | | |
|-----|-----|---|--------|--------|---------|---------|
| | | 0 Std. | 1 Std. | 5 Std. | 24 Std. | 72 Std. |
| 1 | 3,5 | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 3,9 | ++ | ++ | + | + | 0 |
| 3 | 4,5 | ++ | ++ | ++ | + | 0 |
| 4 | 5,1 | ++ | ++ | ++ | + | 0 |
| 5 | 5,5 | ++ | ++ | ++ | ± | 0 |
| 6 | 6,1 | ++ | ++ | ± | 0 | 0 |
| 7 | 6,7 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 7,4 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 |
| 9* | 8,9 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 |
| 10* | 8,6 | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 |

*) Trübung; Eucupin fällt aus.

Tabelle XI.

Optochin auf Staphylokokken. Behandlungszeit 24 Std. Temp. 37° C.

| No. | pH | Wachstum auf Agar Optochin-Konzentration | | | |
|-----|-----|---|----------|--------|--------|
| | | 0 | 2:10 000 | 1:1000 | 2:1000 |
| 1 | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 3,9 | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 3 | 4,5 | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 4 | 5,1 | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 5 | 5,5 | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 6 | 6,1 | ++ | ++ | ++ | + |
| 7 | 6,7 | ++ | ++ | + | 0 |
| 8 | 7,4 | ++ | ++ | 0 | 0 |
| 9 | 8,0 | ++ | ++ | 0 | 0 |

Tabelle XII.

Eucupin auf Staphylokokken. Behandlung wie Tabelle XI.

| No. | pH | Wachstum auf Agar. Eucupinkonzentration | |
|-----|-----|--|-----------|
| | | 0 | 5:100 000 |
| 1 | 3,5 | 0 | 0 |
| 2 | 3,9 | ++ | ± |
| 3 | 4,5 | ++ | ++ |
| 4 | 5,1 | ++ | ++ |
| 5 | 5,5 | ++ | ++ |
| 6 | 6,1 | ++ | ++ |
| 7 | 6,7 | ++ | ++ |
| 8 | 7,4 | ++ | ± |
| 9 | 8,5 | ++ | 0 |
| 10 | | 0 | 0 |

14*

Tabelle XIII.
Eucupinotoxin auf Staphylokokken (wie Tabelle XI und XII).

| No. | p _H | Wachstum auf Agar. Eucupinotoxin-Konzentration | | |
|-----|----------------|---|-------------|-------------|
| | | 0 | 2 : 100 000 | 1 : 100 000 |
| 1 | 3,5 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 2,9 | ++ | ± | 0 |
| 3 | 4,5 | ++ | ++ | 0 |
| 4 | 5,1 | ++ | ++ | 0 |
| 5 | 5,5 | ++ | ++ | 0 |
| 6 | 6,1 | ++ | ++ | 0 |
| 7 | 6,7 | ++ | ++ | 0 |
| 8 | 7,4 | ++ | 0 | 0 |
| 9 | 8,6 | ++ | 0 | 0 |
| 10 | 8,5 | 0 | 0 | 0 |

Tabelle XIV.
Vuzin auf Staphylokokken (wie Tabelle XI—XIII).

| No. | p _H | Wachstum auf Agar. Vuzin-Konzentration | | |
|-----|----------------|---|-------------|-------------|
| | | 0 | 1 : 100 000 | 3 : 100 000 |
| 1 | 3,5 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 3,9 | ++ | ± | 0 |
| 3 | 4,5 | ++ | ++ | 0 |
| 4 | 5,1 | ++ | ++ | 0 |
| 5 | 5,5 | ++ | ++ | 0 |
| 6 | 6,1 | ++ | ++ | 0 |
| 7 | 6,7 | ++ | ± | 0 |
| 8 | 7,4 | ++ | 0 | 0 |
| 9 | 8,0 | 0 | 0 | 0 |

Ein ausführlicher Versuch ist in Tabelle XV im nächsten Abschnitt zusammengestellt.

Der Sinn des Ergebnisses ist bei allen Alkaloiden der gleiche: zunehmende bakterizide Wirkung mit zunehmender Alkalität. Der Befund stimmt überein mit den Ergebnissen von Rona und Bloch für Paramäcien und für Fermente (Invertase, Lipase) sowie für die Atmung der Blutkörperchen. Die Erklärung ist sehr einfach: nur die freie Base der Alkaloide ist giftig.

c) Die Aktivitätskurve des Eucupin.

Der folgende, etwas ausführlichere Versuch (Tabelle XV), soll die bisherigen, qualitativen Angaben wenigstens einigermaßen quantitativ machen. Die Anordnung des Versuchs ist genau wie die frühere.

Tabelle XV.
Eucupin auf Staphylokokken (wie Tabelle XI).

| No. | pH | Wachstum auf Agar nach 24 Std. Eucupinkonzentration | | | | | |
|-----|-----|--|-----------|-----------|----------|----------|--------|
| | | 0 | 1:100 000 | 3:100 000 | 1:10 000 | 3:10 000 | 1:1000 |
| 1 | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 3,9 | ± | ± | ± | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 4,5 | ++ | ++ | + | + | ± | 0 |
| 4 | 5,1 | ++ | ++ | ++ | ++ | ± | 0 |
| 5 | 5,5 | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 |
| 6 | 6,1 | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 |
| 7 | 6,7 | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 7,4 | ++ | ++ | ± | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 8,6 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 8,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Aus dieser Tabelle können wir angenähert interpolieren, welches die kleinste tödliche Dosis Eucupin für ein beliebiges pH ist. Dies ist in Tabelle XVI zusammengestellt.

Tabelle XVI.
Minimale tödliche Eucupin-Konzentration.
Minimale tödliche Dosis bei 24-stündiger Einwirkung bei 37° in eiweißfreier Lösung

| | |
|-----|-----------|
| pH | |
| 4,5 | 3: 10 000 |
| 5,1 | 3: 10 000 |
| 5,5 | 2: 10 000 |
| 6,1 | 2: 10 000 |
| 6,7 | 6:100 000 |
| 7,4 | 3:100 000 |
| 8,0 | 2:100 000 |

Das Diagramm (Fig. 2) gibt dieses Resultat anschaulich wieder.

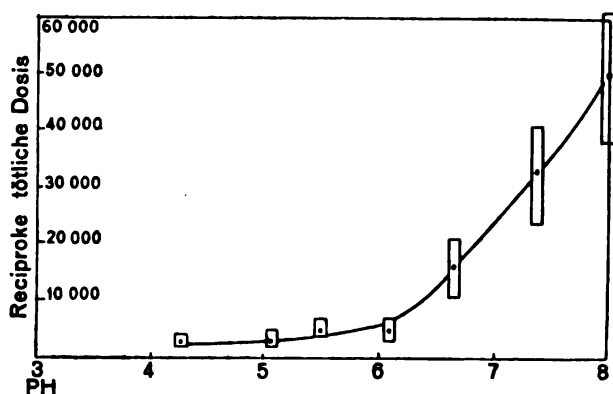


Fig. 2. Abszisse: pH. Ordinate: Reziproker Wert der tödlichen Eucupinkonzentration. Die Beobachtungspunkte sind entsprechend der zu erwartenden Unsicherheit des Versuchs eingerahmt, welche mit $\pm \frac{1}{3}$ des Gesamtwertes veranschlagt worden ist.

**V. Die Wirkung der Alkaloide in Bouillon
von verschiedenem p_H .**

Nunmehr wurde die Wirkung der Alkaloide auf das Wachstum der Staphylokokken in Bouillon von verschiedener Alkalität untersucht. Die Bouillon wurde hergestellt aus 10 g Liebigs Fleischextrakt, 10 g Pepton Riedel, 3 g NaCl und 2 g käuflichem „Natriumphosphat“ (21 d), und größere Proben davon durch Zusatz von HCl oder NaOH auf verschiedenes p_H eingestellt; die Messung des p_H wurde mit der Methode von Michaelis (21) ausgeführt. Die alkalischsten Lösungen wurden nach der Sterilisierung von etwa entstandenen Trübungen abfiltriert und nochmals sterilisiert und je 4 ccm in Reagenzgläser abgefüllt. Das p_H wird in dieser, zuckerfreien, Bouillon durch das Wachstum der Staphylokokken äußerst wenig geändert. Alle Röhrchen wurden mit 0,1 ccm einer Kochsalzaufschwemmung des Agarrasens beimpft. Das Resultat für Eucupin bezüglich des Wachstums ist in Tabelle XVII notiert; das Wachstum wurde an dem Trübungsgrad abgeschätzt.

Tabelle XVII.

Eucupinwirkung auf Staphylokokken in Bouillonkultur. 24 Stunden bei 37°.

| No. | p_H | Wachstum bei Eucupinkonzentration | | |
|-----|-------|-----------------------------------|-----------|----------|
| | | 0 | 3:100 000 | 1:10 000 |
| 1 | 3,0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 4,3 | + | + | + |
| 3 | 5,7 | ++ | ++ | ++ |
| 4 | 6,5 | ++ | ++ | + |
| 5 | 7,0 | ++ | ++ | 0 |
| 6 | 7,4 | ++ | ± | 0 |
| 7 | 7,8 | ++ | 0 | 0 |
| 8 | 8,5 | ++ | 0 | 0 |
| 9 | 9,0 | 0 | 0 | 0 |

Die Resultate sind also fast identisch mit denen für die Abtötung der Kokken in ClNa-Lösung. Das ist eine gute Bestätigung der Beobachtung von Morgenroth und Tugendreich, daß Gegenwart von Eiweißkörpern keinen bedeutenden Einfluß auf die Giftwirkung dieser Alkaloide auf Bakterien hat. Wir müssen uns indessen bewußt bleiben, daß wir in den

Versuchen mit NaCl-Lösung das abtötende Vermögen, in den jetzigen Versuchen das wachstumshemmende Vermögen der Alkaloide untersuchen.

Der soeben geschilderte Versuch wurde häufig wiederholt; er ist so leicht reproduzierbar und frappant, daß man ihn geradezu als Vorlesungsversuch empfehlen kann (s. Fig. 3).

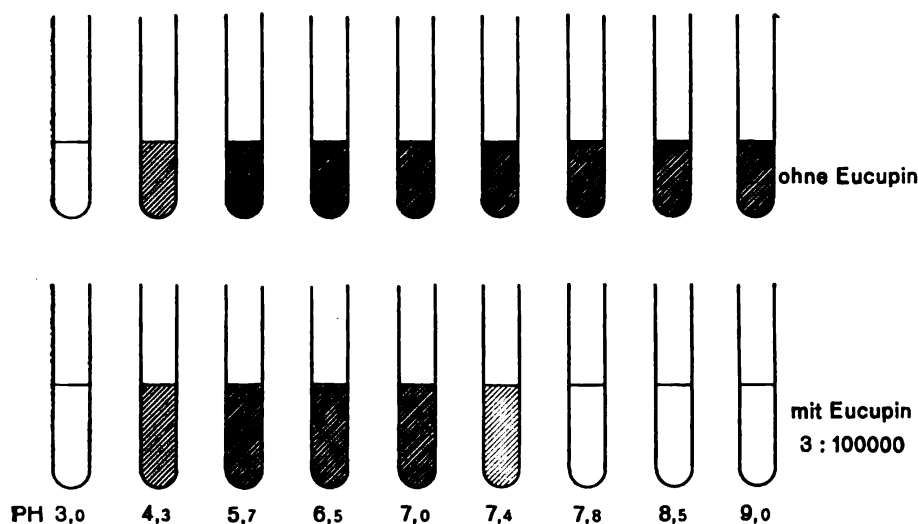


Fig. 3.

Aehnliche Versuche mit Optochin zeigt Tabelle XVIII, für Eucupinotoxin Tabelle XIX, für Vuzin Tabelle XX.

Tabelle XVIII.

Optochin auf Staphylokokken in Bouillon. 24 Std. bei 37°.

| No. | pH | Wachstum | |
|-----|-----|---------------|----------------------|
| | | ohne Optochin | mit Optochin 5:10000 |
| 1 | 3,0 | 0 | 0 |
| 2 | 4,3 | + | + |
| 3 | 5,7 | ++ | ++ |
| 4 | 6,5 | ++ | ++ |
| 5 | 7,0 | ++ | + |
| 6 | 7,4 | ++ | ± |
| 7 | 7,8 | ++ | 0 |
| 8 | 8,5 | ++ | - ¹⁾ |
| 9 | 9,0 | 0 | - ¹⁾ |

1) Das Optochin ist nicht mehr klar löslich.

Tabelle XIX.

Eucupinotoxin auf Staphylokokken in Bouillon. 24 Std. bei 37°.

| No. | pH | Wachstum | |
|-----|-----|---------------|-----------------------|
| | | ohne Alkaloid | m. Alkaloid 2:100 000 |
| 1 | 3,0 | 0 | 0 |
| 2 | 4,3 | + | + |
| 3 | 5,7 | ++ | ++ |
| 4 | 6,5 | ++ | ++ |
| 5 | 7,0 | ++ | + |
| 6 | 7,4 | ++ | 0 |
| 7 | 7,0 | ++ | 0 |
| 8 | 8,5 | ++ | 0 |
| 9 | 9,0 | 0 | — ¹⁾ |

Tabelle XX.

Vuzin auf Staphylokokken in Bouillon. 24 Std. bei 37°.

| No. | pH | Wachstum | |
|-----|-----|------------|---------------------|
| | | ohne Vuzin | mit Vuzin 1:100 000 |
| 1 | 3,0 | 0 | 0 |
| 2 | 4,3 | + | + |
| 3 | 5,7 | ++ | ++ |
| 4 | 6,5 | ++ | ++ |
| 5 | 7,0 | ++ | 0 |
| 6 | 7,4 | ++ | 0 |
| 7 | 7,8 | ++ | 0 |
| 8 | 8,5 | ++ | 0 |
| 9 | 9,0 | 0 | — ¹⁾ |

Wiederum zeigt sich in der absoluten Wirkungsstärke die gleiche Reihenfolge der Alkaloide wie früher, und durchgängig steigert sich die Wirksamkeit jedes einzelnen Alkaloids mit zunehmender Alkalität.

VI. Die Beziehung der Oberflächenaktivität zum pH.

Bekanntlich hat J. Traube (22) darauf aufmerksam gemacht, daß die biologische (toxische, narkotische) Wirkung der verschiedenen Mittel ihrer Oberflächenaktivität in auffälliger Weise parallel geht. Obwohl es wichtige Ausnahmen von dieser Regel gibt (besonders Chloroform), trifft sie doch im allgemeinen so gut zu, daß ihr ein erheblicher Wert innewohnt, und man kann Traube sogar beipflichten, wenn er meint, daß die stalagmometrische Vorprüfung neuer Substanzen bisweilen sogar die Zahl der nötigen Tierversuche herabsetzen kann.

1) Trübe durch Ausfallen der Alkaloidbase.

Merkwürdigerweise verknüpft aber Traube seine anerkanntwertigen Befunde mit einer durchaus einseitigen Theorie, und was noch weniger zweckmäßig ist, mit der Bekämpfung anderer Theorien, die in Wirklichkeit gar keinen Widerspruch zu seiner eigenen bedeuten. Einen ganz besonderen Kampf führt Traube gegen die Lehre von den Wasserstoffionen. Er meint, für physiologische Wirksamkeit käme es viel mehr auf die Titrationsazidität als auf das p_H an. In solcher Allgemeinheit ist diese Behauptung wesenlos; es gibt eben einige Eigenschaften, die von der Titrationsazidität, und andere, die vom p_H abhängen. Die beiden Verfasser dieser Arbeit glauben in einer nicht kleinen Anzahl von Arbeiten und an verschiedenstem Material gezeigt zu haben, von wie großem Einfluß p_H ist, und daß man durch die Einführung der p_H -Messung an Stelle der Titration sehr oft leicht erkenntliche Zusammenhänge aus früher unentwirrbaren Beziehungen ermitteln kann.

So zeigten wir soeben auch die Beziehung von p_H zur Desinfektionswirkung der Chininalkaloide. Wollte man die Titrationsazidität statt des p_H als Bezugsvariable benutzen, so bekäme man überhaupt nichts heraus. Denn z. B. wird die Titrationsazidität einer Essigsäurelösung nicht geändert, wenn man Natriumacetat zugibt, und doch ändert sich der Einfluß auf das Desinfektionsvermögen der Alkaloide. Bezieht man diesen Einfluß auf das p_H , so werden die Verhältnisse sofort übersichtlich.

Der Grund, warum Traube sich so sehr gegen die p_H -Messung sträubt, scheint ein doppelter zu sein; erstens ein persönlicher: er hat sich offenbar noch nicht zur Einführung der Methoden der p_H -Messung entschlossen und kennt sie nicht genügend aus Erfahrung; jedenfalls hat er über sie nicht mehr Erfahrung, als sie jeder Physikochemiker von Ruf — als den wir Traube natürlich gern und voll anerkennen — im allgemeinen besitzt; aber das ist für die biologische Anwendung zu wenig. Der zweite Grund ist wohl der, daß Traube die Vorstellung hat, daß durch die p_H -Theorie seine Oberflächenaktivitätstheorie aus dem Sattel gehoben werde. Aber das ist gar nicht der Fall. Das Eigenartige ist, daß Traube in nuce selbst den Beweis geliefert hat, daß beide

Auffassungen miteinander vereinbar sind. Er zeigte nämlich, daß viele Alkaloidsalze und andere Salze, welche an sich nicht oberflächenaktiv sind, es durch Alkalizusatz werden. Was hätte da näher gelegen, als für diese Stoffe einen Zusammenhang zwischen Oberflächenaktivität und p_H anzunehmen. Der physikochemische Zusammenhang ist so einleuchtend. Man braucht nichts anderes als die plausible Annahme, daß die freie Base des Alkaloids oberflächenaktiv, aber ihre Salze bzw. Ionen nicht merklich oberflächenaktiv sind. Da nun die Konzentration der freien Base durch p_H bestimmt wird, wird auch die Oberflächenaktivität der Alkaloidlösung durch p_H bestimmt. Zu derselben Anschauung sind auch Windisch und Dietrich (23) gekommen. Solche Stoffe, deren Oberflächenaktivität durch das p_H beeinflußt wird, nannte der eine von uns (Michaelis, 21e) „bedingt oberflächenaktive Stoffe“. In derselben Weise wird für alle Chininalkaloide, wie Traube gezeigt hat, die Oberflächenaktivität durch Alkalizusatz vermehrt, und wir wollen noch einige derartige Versuche anführen, bei denen die Oberflächenspannung der Lösung in Beziehung zu p_H gesetzt wird:

Tabelle XXI.

Oberflächenspannung von Eucupinlösungen bei verschiedenem p_H bei 18° C.
Wasserwert der Tropfpipette bei 18°: 101 Tropfen.

| p_H | Tropfenzahl, $\frac{1}{2}$ Std. nach der Vermischung mit dem Puffer. | |
|-------|--|-----------------|
| | Eucupin 1:10000 | Eucupin 3:10000 |
| 5,0 | 104 | 116 |
| 5,5 | 106 | 121 |
| 6,6 | 107 | 126 |
| 6,4 | 108 | 135 |
| 6,8 | 109 | 138 |
| 7,0 | 106 | 137 |
| 7,4 | 102 | 132 |
| 7,6 | 102 | (131) |
| 8,0 | (101) | — |

Freilich steigt die Oberflächenaktivität nicht stetig mit der Vergrößerung von p_H ; von Erreichung eines gewissen p_H an stellt sich die definitive Oberflächenspannung der Lösung überhaupt nicht sofort konstant ein, sondern verändert sich mit der Zeit; und betrachtet man nur die zeitlich konstant gewordenen, definitiven Werte, so findet man, daß die Oberflächenspannung bei steigendem p_H durch ein Minimum geht.

Ganz offensichtlich liegt das daran, daß die freie Base ungemein schwer löslich ist, aber bei ihrer Freisetzung aus dem Salz je nach den Umständen mehr oder weniger hochdisperse kolloide Lösungen bildet, die sich zeitlich verändern. Sieht man von diesen Komplikationen ab, so kann man wohl sagen, daß die drei Eigenschaften: Oberflächenspannung, p_H und Desinfektionsvermögen parallel gehen, und die Lehre vom p_H keinen Widerspruch zur Traubeschen Auffassung darstellt.

Aber, wie gesagt, um das zu erkennen, muß man von den Komplikationen infolge der Dispersionsänderungen absehen. Wie man das tun soll, ist nicht ganz leicht zu sagen: eigentlich besteht dieses „Absehen“ nur darin, daß man jede Abweichung von der Traubeschen Regel eben durch die Annahme kolloider Zustandsänderung erklärt. Das ist zweifellos berechtigt, aber nur eine qualitative Erklärung. Messen kann man da nicht viel. Unter diesen Umständen muß man allerdings sagen, daß es heutzutage übersichtlicher ist, die bakterizide Wirkung einer überhaupt desinfizierend wirkenden Base (oder Säure) auf das p_H zu beziehen. Dann hat man vollkommene Parallelität der Erscheinungen, das Desinfektionsvermögen der Alkaloide wächst stetig und ohne Minimum- oder Maximumbildung mit zunehmendem p_H und nähert sich asymptotisch einem Grenzwert, bei dessen genauer Ermittlung allerdings nicht vergessen werden darf, daß mit weiter steigendem p_H die OH' -Ionen auch schon ohne Alkaloid desinfizierend wirken.

Aber hier sind wir in keiner anderen oder schwierigeren Lage, als jedesmal, wenn es sich um die Ermittlung einer Wirkungsschwelle irgend eines auf Kolloide oder Zellen wirksamen Agens handelt: niemals können wir diese Wirkung rein beobachten, und wir haben neben dem zu prüfenden Stoff stets auch die hochwirksamen H' - und OH' -Ionen in Lösung, mit deren Wirkung sich die spezifische Wirkung des untersuchenden Agens nach einem besonderen Gesetz summiert (21 f).

Wir kommen also bei quantitativen Auswertungen heute weiter, wenn wir die Wirkung auf p_H beziehen, als wenn wir sie auf die Oberflächenaktivität beziehen. Das hindert nicht, daß wir das qualitative Gesetz anerkennen müssen, daß

oft gerade die (bedingt) oberflächenaktiven Stoffe es sind, deren Wirkung so eindeutig vom p_H abhängt. Die ganze Lehre von der Oberflächenaktivität und vom „Dis-

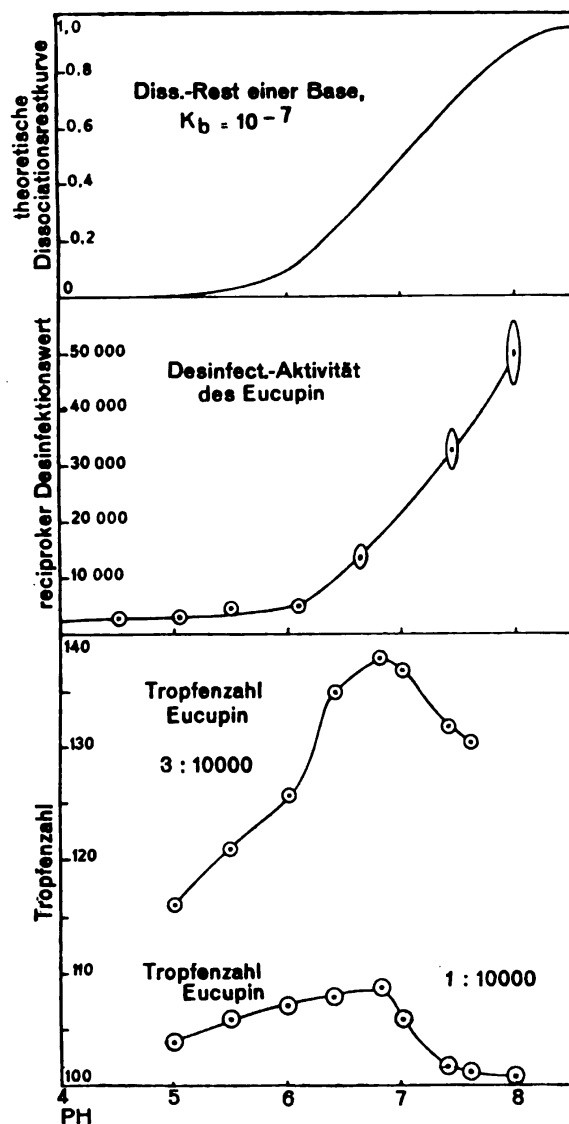


Fig. 4.

wenn wir es auf die Oberflächenspannung beziehen, zeigt die graphische Darstellung der drei Variablen (Fig. 4).

Auf der Abszisse ist p_H aufgetragen. Die untersten beiden Kurven geben die Oberflächenspannung, ausgedrückt in

persionsgrad“ bedürfte von Grund aus einer rationellen theoretischen Umarbeitung, und ehe diese geleistet ist, kommen wir über rein qualitative Regeln nicht hinaus. Wenn wir also das desinfizierende Vermögen eines Alkaloids so eindeutig quantitativ mit dem p_H und so wenig eindeutig mit der Oberflächenspannung in Beziehung setzen können, erscheint es uns berechtigt, zunächst der Beziehung zum p_H für die quantitativen Versuche den Vorzug zu geben. Wieviel eindeutiger es ist, wenn wir für ein gegebenes Desinfektionsmittel das Desinfektionsvermögen auf p_H , als

der Tropfenzahl, für zwei verschiedene Eucupinkonzentrationen, weiter oben folgt die Kurve der Desinfektionsaktivität, gemäß der vorher gegebenen Definition, und ganz oben die theoretische Dissoziationsrestkurve einer Base mit den Dissoziationskonstanten $K_b = 10^{-7}$, ein Wert, der für die Chininalkaloide als in erster Annäherung brauchbar angesetzt werden darf. Die Aktivitätskurve läuft durchaus anders als die Oberflächenspannungskurve, aber scheint sich befriedigend zu decken mit der Dissoziationsrestkurve. Das ist wiederum die beste Bestätigung der Grundannahme, von der wir ausgehen: Desinfizierend wirkt nur die freie Base der Alkaloide, nicht ihre Ionen oder Salze.

Wir sind uns bewußt, daß wir mit der Aufstellung dieser rohen Grundannahme noch von einer vollständigen Theorie weit entfernt sind, welche das physikochemische Gleichgewicht der beteiligten Stoffe genau aufklären müßte. Immerhin betrachten wir dieses vorläufige Resultat für eine erste Pionierarbeit auf dem Gebiete als genügend begründet.

VII. Die medizinische Bedeutung der Befunde.

An ein ideales internes Desinfektionsmittel wird man die Anforderung stellen, nicht nur daß es überhaupt in kleinen Konzentrationen hochwirksam ist, sondern auch daß die Bedingungen, auf die es im lebenden Organismus trifft, mit den günstigsten Bedingungen für seine Wirksamkeit zusammenfallen. Von diesen Bedingungen haben wir in dieser Arbeit das p_H studiert, und wir wollen untersuchen, inwieweit in bezug auf diese Bedingungen jene Anforderungen für die Chininalkaloide erfüllt sind. Das p_H der zirkulierenden Flüssigkeiten können wir gegen 7,4 veranschlagen, das gilt für Blut, wohl auch für die zirkulierende Lymphe, für freie, nicht eitrige Exsudate. Das p_H des Gewebssaftes können wir nach Michaelis und Kramstyk (24) etwa = 7,0 veranschlagen, und nach den Untersuchungen von Schade, Neukirch und Halpert (25) ist das p_H in entzündlichen Flüssigkeiten, insbesondere im akut entzündlichen Eiter noch saurer, bis p_H etwa 6. Betrachten wir nun die Aktivitätskurve des Eucupin, so sehen wir, daß das Maximum der Aktivität erst bei einem $p_H =$ etwa 8 erreicht wird, welches wohl kaum jemals im lebenden Organismus

vorkommen dürfte. Bei Blutreaktion ($p_H = 7,4$) ist die Aktivität etwa = 0,6 bis 0,7, wenn wir die maximale Aktivität = 1 setzen, d. h. man braucht die 1,4 bis 1,7fache Dosis des Eucupin zur Erreichung der gleichen Wirksamkeit wie beim günstigsten p_H ; die Bedingungen für die Wirksamkeit des Eucupin im Blut sind daher, wenn auch nicht optimal, so doch noch recht gut. Im Gewebe ($p_H = 7$) ist die Aktivität nur noch 0,5, und wenn wir uns an die Angaben von Schade, Neukirch und Halpert halten, ist in entzündlichen Säften, wo das Hauptwirkungsbereich des Mittels gefordert werden müßte, die Aktivität herabgedrückt unter ungünstigen Umständen ($p_H = 6$) bis auf $\frac{1}{6}$ bis $\frac{1}{8}$. D. h. die in solcher Umgebung soeben wirksame Alkaloidkonzentration ist 6—8mal größer als unter optimalen Bedingungen, und etwas 5—6mal größer als unter den Bedingungen, unter denen man die Wirksamkeit bisher ausschließlich untersuchte, wenn man sie in vitro prüfte, also in mäßig alkalischer Bouillon von p_H etwa = 7,3. Dadurch würde also z. B. der Effekt des Eucupin in vivo weit unter den Effekt des Optochin für die günstigen Reagenzglas-Bedingungen herabgedrückt werden, und wir dürfen annehmen, daß hierdurch wenigstens eine Teilursache der Diskrepanz zwischen Tierversuch und Reagenzglasversuch aufgeklärt ist.

Wenn wir nun diese Anschauung benutzen wollen, um dem Erfinder neuer Heilmittel einen Fingerzeig für seine weitere Arbeit zu geben, so könnten wir folgendes sagen:

Eine Vervollkommnung der inneren Desinfektionsmittel ist natürlich erstens dadurch zu erreichen, daß man ein Mittel von so hoher absoluter Wirksamkeit sucht, daß es selbst bei ungünstigem p_H noch genügend wirkt. Ein anderer Weg besteht darin, daß man von den Mitteln etwa gleicher absoluter Wirksamkeit dasjenige sucht, welches sein Wirkungsoptimum bei $p_H = 6,5$ bis 7 hat, statt bei 8, wie die bisher bekannten Alkaloide; dieses Mittel müßte also ein Alkaloid von schwächer basischem Charakter sein als die bisherigen Chininderivate, so daß es nicht erst bei $p_H = 8$, sondern schon bei $p_H = 7$ praktisch total hydrolytisch dissoziiert ist. Die Aufgabe, durch leichte chemische Abänderungen der bekannten Chinin- oder auch wohl der Akridinderivate ein solches zu finden, ist nicht aussichtslos.

Zusammenfassung.

Die bakterizide Wirkung der Chininalkaloide steigt mit steigendem p_H . Sie hat bei dem p_H des normalen Blutes noch nicht völlig ihr Maximum erreicht, wenn sie auch nicht weit von demselben entfernt ist. Bei dem p_H entzündlich veränderter Gewebssäfte ist jedoch die Wirksamkeit der Alkaloide weit entfernt von ihrer maximalen. Die einfachste Deutung dieses Befundes ist, daß nur die freien Basen, nicht aber die Salze wirksam sind. Es besteht für unsere bisherigen Methoden eine bessere Parallelität mit dem p_H der Lösungen als mit ihrer Oberflächenaktivität. Es ist wahrscheinlich, daß die Nichtbeachtung des p_H einen Teil der Inkongruenz zwischen Tierversuch und Reagenzglasversuch erklärt. Es empfiehlt sich daher, bei chemotherapeutischen Studien das p_H zu beachten.

Literatur.

- 1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 47 u. 48.
- 2) — und Bumke, Dtsch. med. Wochenschr., 1918, No. 1 u. 2.
- 3) — und Kaufmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913, p. 145.
- 4) Kaufmann, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 54, 1912.
- 5) Gutmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, 1912, p. 625.
- 6) Wright, Lancet, 1912.
- 7) Moor, Zeitschr. f. exp. Med., Bd. 22, 1915.
- 8) Neufeld und Schiemann, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 57, 1913.
- 9) H. Schäffer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 38; Biochem. Zeitschr., Bd. 83, 1917, p. 269.
- 10) Braun und Schäffer, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 37.
- 11) W. Pfeiffer, Dtsch. Arch. f. Lar. u. Rhinol., Bd. 31, Heft 1.
- 12) Sommer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 3.
- 13) Bieling, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 30.
- 14) J. Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913, p. 570.
- 15) Kaufmann, Beitr. z. klin. Chir., Bd. 116, 1919, p. 666.
- 16) Tugendreich, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 29; Biochem. Zeitschrift, Bd. 79, 1917, p. 257.
- 17) Morgenroth, Dtsch. med. Wochenschr., 1921.
- 18) Braun und Schäffer, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 37.
- 19) Rona und Bloch, Biochem. Zeitschr., Bd. 118, 1921, p. 213.
- 20a) Dernby and Avery, Journ. exp. Med., Vol. 28, 1918, p. 345.
 - b) — and David, Journ. of Path. and Bact., Vol. 24, 1921, p. 150
 - c) — und Alander, Biochem. Zeitschr., Bd. 123, 1921, p. 245.
 - d) — Ann. Pasteur, T. 35, 1921, p. 277.

- 218 L. Michaelis und K. G. Dernby, Einfluß der Alkalität usw.
- 21) L. Michaelis, a) Dtsch. med. Wochenschr., 1920, No. 45; b) ebenda, 1921, No. 17; c) ebenda No. 24.
d) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, 1921, p. 194.
e) — Praktikum der physikalischen Chemie, Berlin 1922.
f) — und Timéner-Diaz, Kolloid-Zeitschr., Bd. 29, 1921, p. 184.
- 22 a) J. Traube und Somogyi, Intern. Zeitschr. f. physikochem. Biol., Bd. 1, 1914.
b) — — Biochem. Zeitschr., Bd. 120, 1921, p. 90.
c) — Biochem. Zeitschr., Bd. 98, 1919, p. 197.
d) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, p. 286.
- 23) Windisch und Dietrich, Biochem. Zeitschr., Bd. 97, 1919, p. 135; Bd. 100, 1919, p. 130.
- 24) Michaelis und Kramstyk, Biochem. Zeitschr., Bd. 62, 1914, p. 180.
- 25) Schade, Neukirch und Halpert, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med., Bd. 24, 1921, p. 11.

Nachdruck verboten.

[Aus der III. med. Klinik der Kgl. ungarischen Universität zu Budapest (Direktor: Prof. Baron A. v. Korányi).]

Beiträge zur Frage der unspezifischen Beeinflussung der Immunkörperbildung.

Von **K. Hajós** und **F. Sternberg**.

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Februar 1922.)

I.

Auf dem Gebiete der unspezifischen Beeinflussung der Immunkörper sind schon zahlreiche Angaben in der Literatur zu finden; da sich aber die Resultate gewissermaßen widersprechen, haben wir diese Frage einer neuerlichen Prüfung unterworfen. — Unsere Untersuchungen hatten das Ziel, zu bestimmen, ob eine künstliche Beeinflussung der Immunkörperbildung bzw. eine unspezifische Steigerung derselben überhaupt möglich ist. Die weitere Frage war, ob eine in einer Richtung stattgefundene spezifische Immunkörperbildung durch andere Antigene, und drittens, ob durch die Einführung eines Antigens andere normale Immunkörper unspezifisch beeinflusst werden können.

Die Ergebnisse der Proteinkörpertherapie zeigen, daß eine auf spezifischer Art stattgefundene Antikörperbildung nach diesen unspezifischen Einspritzungen — nicht nur durch Proteinkörper, sondern durch andere parenteral zugeführten Reize — angeregt wird.

Borchardt hat die Beeinflussung der Typhusagglutininbildung durch eine Reihe von Organsubstanzen untersucht. Als Versuchspersonen dienten Gesunde, die 2—3 Wochen vor der unspezifischen Behandlung eine Typhusimpfstoffinjektion erhielten. Er untersuchte die Wirkung der Inkrete der Nebennieren, der Hypophyse, der Hoden etc. Der Agglutinintiter stieg schon nach 24 Stunden, und erreichte sein Maximum am 7.—10. Tage.

Nach der Auffassung von Weichardt können Leistungssteigerungen auf zwei Wegen entstehen: 1) daß wir die Protoplasmaaktivierung durch Eiweißspaltprodukte erreichen; 2) daß wir durch Einspritzung von gewissen wirksamen Gruppen die lähmenden Spaltprodukte auszuschalten suchen. Im Sinne Weichardts ist bei der Beurteilung der Leistungssteigerungen die Immunkörperbildung nur ein Symptom, welche nur mit allen anderen Funktionssteigerungen zusammen ihre schützende Wirkung ausübt. Friedberger konnte nachweisen, daß einmalige Alkoholgaben die Immunkörperbildung auf das 2 $\frac{1}{2}$ -fache zu steigern vermögen. Klemperer und Rosenthal beobachteten nach 10-proz. NaCl-Injektionen eine deutliche Steigerung der Agglutinine. Bijlsma konnte die Angaben von Borchardt, daß subkutane Injektionen von Adrenalin und Hypophysin die Agglutininbildung beeinflussen, nicht bestätigen. Bijlsma fand, daß bei Kaninchen weder Adrenalin-Injektionen noch die halbseitige Nebennierenausschaltung die Agglutinin- oder die Hämolysinbildung beeinflussen. Deutsch konnte bei Typhusfällen, wo die Agglutinationsprobe immer negativ ausfiel, nach 1 ccm subkutan verabreichten Adrenalin eine Steigerung des Agglutinationstiters auf 1:200 nachweisen.

Stoffe, welche auf das vegetative Nervensystem wirken, wurden von Salomonsen und Madsen geprüft. Sie fanden, daß Pilocarpininjektionen bei Pferden eine ausgesprochene Steigerung der Diphtherieantitoxine hervorrufen. Es ist hier

noch zu erwähnen, daß Pinner bei Meerschweinchen durch Atropin und Adrenalininjektionen eine Verminderung, durch Pilocarpin- und Physostigmininjektionen eine Vermehrung des Komplementgehaltes gefunden hat. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich bei allen diesen Immunkörpervermehrungen um eine Ausschwemmung oder um eine veränderte Verteilung derselben handeln kann. Die Untersuchungen von Pfeiffer und Marx zeigen, daß die Immunkörperbildung in der Milz beginnt und daß ihr Erscheinen im peripheren Blut erst in späteren Tagen stattfindet. Erst neuerlich zeigten die Untersuchungen von Russ und Kirschner die wichtige Rolle der Milz bei der Agglutininbildung.

Es ist bekannt, daß manche Mikroorganismen (wie Typhusbazillen, Malariaplasmodien) in gewissen Organen lange Zeit versteckt bleiben und durch mechanisch wirkende Reize, wie verschiedene Provokationsmittel (Adrenalin, Natr. nucleicum) in die Blutbahn hervorgebracht werden können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Immunkörper, welche besonders in der Milz aufgespeichert sind, auf demselben Wege in das kreisende Blut gelangen.

Da über die leistungssteigernde Wirkung der Proteinkörper schon viele Angaben in der Literatur zu finden sind, haben wir uns entschlossen, die unspezifische Beeinflussbarkeit der Immunkörperbildung durch solche Substanzen, deren Wirkungsweise physiologisch bzw. pharmakologisch aufgeklärt ist, zu prüfen. Wir haben einige Untersuchungen auch mit Proteinkörpern und mit gleichzeitig gegebenen zwei verschiedenen Antigenen ausgeführt.

Unsere Untersuchungen können in zwei Gruppen geteilt werden. Die erste Gruppe umfaßt Immunisierungsversuche mit Paratyphus B-Bazillen und Hammelblutkörperchen an Kaninchen und deren unspezifische Beeinflussung durch Salze, Antipyretica, durch die Aethernarkose, Morphium, Strophantin und durch Substanzen, welche auf das vegetative Nervensystem wirken (Atropin, Adrenalin, Pilocarpin).

Die zweite Gruppe umfaßt Untersuchungen an Menschen (Kranke und Rekonvaleszenten), bei denen die Wirkung des Adrenalins auf die Agglutinationskurve beobachtet wurde.

Immunisierungsversuche mit zwei Antigenen (Hammel-

blutkörperchen und Colibazillen) wurden bereits von Rosenthal und Minokichi vorgenommen und haben zum Resultate geführt, daß zwei Antigene die verschiedene Immunkörperbildung nicht beeinflussen. Matschumoto hat Kaninchen mit gewaschenen Menschen- und Hammelblutkörperchen gleichzeitig immunisiert, und fand, daß nur die spezifischen Antikörper gebildet werden, ohne daß nebenbei unspezifische Immunkörper entstanden wären. Er fand zwar, daß der Titer der normalen Antikörper etwas gestiegen ist, jedoch führte er diese kleine Steigerung nicht auf den Immunisierungsprozeß zurück.

Rothacker behandelte Kaninchen mit Paratyphus B- und Gärtner-Bazillus und fand, daß die auch normalerweise vorhandenen Hammelbluthämolyse nach der Bakterieneinspritzung sich vermehrt haben.

Wir injizierten 3 Kaninchen mit Hammelblutkörperchen und Paratyphus B-Bazillen: und zwar bekam das I. Kaninchen Paratyphus B-Bazillen und Blutkörperchen auf einmal eingespritzt. Das II. Kaninchen wurde am 1. Tag mit Paratyphus B-Bazillus, am 4. Tag mit Hammelblutkörperchen injiziert. Das III. Kaninchen bekam am 1. Tag die Hammelblutkörperchen und am 4. Tag die Paratyphus B-Bazillen. Es ergab sich, daß bei Kaninchen I die Hämolyse- und Agglutininbildung am 8. Untersuchungstag einen erheblichen Anstieg zeigte. Das Kaninchen II zeigte, daß die Agglutinkurve am 8. Tag steil anstieg, dagegen die Hämolysekurve erst am 14. Untersuchungstag sich erhöhte. Beim Kaninchen III begann die Steigerung beider Immunkörper erst am 8. Untersuchungstag.

Tabelle I.

| Versuchstag | Kaninchen I | | Kaninchen II | | Kaninchen III | |
|-------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| | Hämo- lysin | Agglu- tinin | Hämo- lysin | Agglu- tinin | Hämo- lysin | Agglu- tinin |
| 1. | — | — | — | — | — | — |
| 4. | — | — | — | — | — | — |
| 8. | 1:3200 | 1:3200 | — | 1:6400 | 1:3200 | 1:400 |
| 14. | 1:6400 | 1:6400 | 1:6400 | 1:12800 | 1:6400 | 1:6400 |

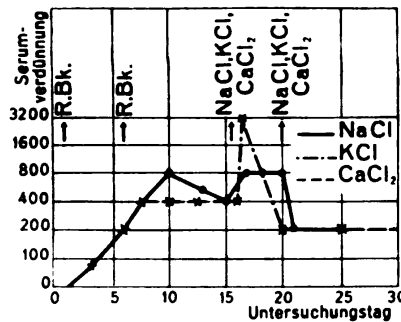
Aus der Tabelle I ist ersichtlich, daß die Immunkörperbildung des einen Antigens unabhängig vom anderen Antigen verläuft. Es ist auch ersichtlich, daß in den ersten Tagen

der Immunisierung, bevor noch die spezifische Antikörperbildung begonnen hatte, auch keine Steigerung des anderen Immunkörpers zu verzeichnen ist. Der weitere Verlauf der anderen Immunkörperkurve dieser 3 Kaninchen zeigte keine Besonderheiten.

Die nächste Versuchsreihe bezieht sich auf die Beeinflussung der Hämolysin- und Agglutinationskurve durch NaCl, CaCl₂ und KCl.

Wir arbeiteten mit folgender Technik:

3 Kaninchen bekamen am 1. und am 7. Versuchstag je 2 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchen intravenös. Sobald die Hämolysinkurve eine gewisse Höhe erreichte, welche, von täglichen Schwankungen abgesehen, als ständig betrachtet werden



Kurve 1.

konnte, wurde das I. Kaninchen 2mal nacheinander mit 2 ccm einer 10-proz. NaCl-Lösung, das II. Kaninchen mit 2 ccm CaCl₂, und das III. mit 2 ccm KCl-Lösung injiziert.

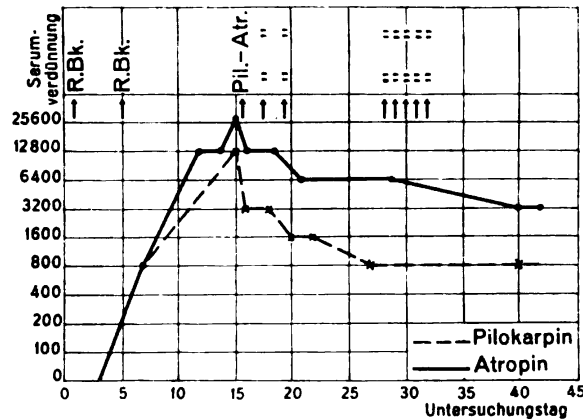
In der Kurve 1 fallen die NaCl- und CaCl₂-Kurven, besonders was die Wirkung der Salzeinspritzungen anbelangt, zusammen; dagegen wird nach der ersten KCl-Injektion eine erhebliche Steigerung verzeichnet, welche sich jedoch nach der zweiten Injektion nicht wiederholte. Bei 3 anderen Kaninchen, welche mit Paratyphus B-Bazillen geimpft wurden, konnte ebenfalls keine agglutininsteigernde Wirkung des Kaliums nachgewiesen werden.

Die nächste Versuchsreihe umfaßt die Wirkung des Pilocarpins, Atropins und die der Aethernarkose.

2 Kaninchen wurden auf ihre Hammelblutkörperhämolysine geprüft. Das eine Kaninchen bekam je eine Hammelblutkörpercheninjektion am 1. und am 7. Versuchstag, das II. Kaninchen bekam dieselben Injektionen in einer Aethernarkose, welche noch $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion andauerte. Die Hämolysinbildung beider Kaninchen zeigte keinen Unterschied.

Die Versuche mit Pilocarpin und Atropin wurden folgenderweise ausgeführt: 2 Kaninchen bekamen täglich zweimal 0,001 Atropin und 0,01 Pilocarpin; eine nachherige Immunisierung mit Hammelblutkörperchen ergab eine normal verlaufende Hämolysinkurve, und zeigte, daß die reizende bzw. lähmende Wirkung des Atropins und Pilocarpins an das vegetative Nervensystem auf die nachträgliche Hämolysinbildung keinen Einfluß hat.

4 immunisierte Kaninchen mit Atropin und Pilocarpin nachträglich behandelt, zeigten eine initiale Senkung der Hämolysinkurve, welche sich aber im Verlaufe der weiteren Behandlung auf einem ständigen Niveau erhielt. (Siehe Kurve 2.)



Kurve 2.

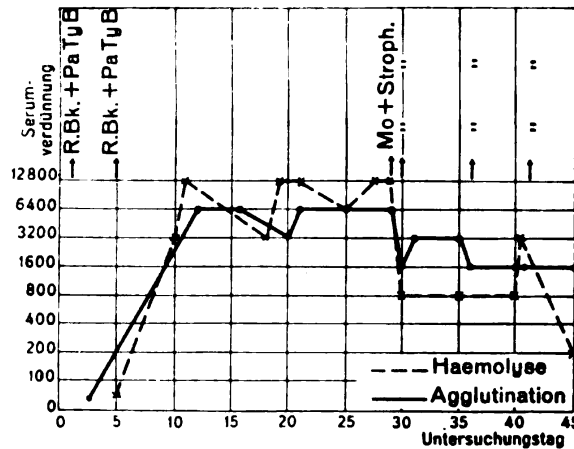
Nach den Beobachtungen v. Korányis über die gegenseitige Beeinflussung bei gleichzeitiger Anwendung von Digitalis und Morphium haben wir es für interessant gefunden, die Wirkungsweise dieser zwei Stoffe auch auf die Immunkörperbildung zu prüfen.

Es wurden 3 Versuche angelegt: um 1) die Wirkung des Strophantins allein, 2) die Wirkung des Morphiums allein und 3) die Wirkung beider Stoffe, gleichzeitig verabreicht, zu verfolgen.

Wir verwendeten bei den Untersuchungen folgende Dosen: Strophantin (Böhringer) 0,1 mgr intravenös pro kg Körpergew. Morphium hydrochloricum 0,025 gr " " " "

Die Methodik war die übliche. Die Kaninchen erhielten die Strophantin- und Morphiuminjektionen, sobald der Immunkörpertiter eine ziemlich gleichmäßige Höhe erreicht hat. Morphium und Strophantininjektionen (einige Tage fortgesetzt) hatten weder sofort noch in der weiteren Beobachtungszeit auf den Antikörpergehalt keinen nennenswerten Einfluß gehabt.

Die ersten Morphium- und Strophantininjektionen haben die Hämolysin- und Agglutininkurve etwas herabgedrückt, doch blieb sie in den nächsten Tagen trotz weiterer Behandlung auf einer konstanten Höhe. Dagegen haben wir bei einem Kaninchen, welches — wie die Kurve 3 zeigt — mit Hammelblutkörperchen und Paratyphus B-Bazillen gleichzeitig immuni-



Kurve 3.

siert wurde, nach der ersten und zweiten gleichzeitigen Einspritzung von Strophantin und Morphium einen größeren Abfall der Agglutinin- und Hämolysinkurve beobachtet.

Es wurde noch beobachtet, daß das vorherige Präparieren der Kaninchen

mit öfteren Morphium- oder Strophantininjektionen auf eine nachträgliche Immunisierung keinen Einfluß hat.

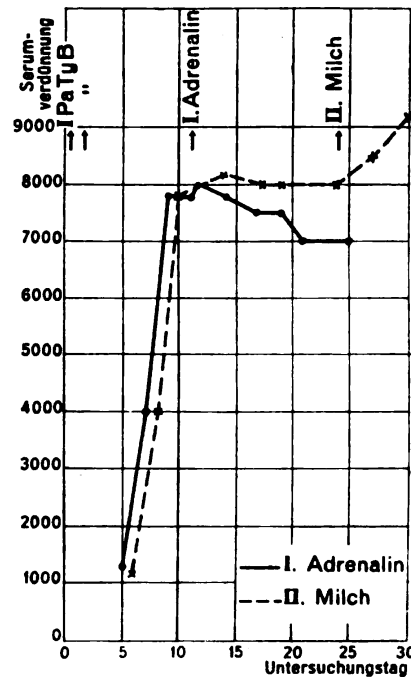
Antipyriminjektionen drücken die Hämolysinkurve in den ersten 24 Stunden nach der Injektion herab. Der Titer steigt jedoch wieder auf die ursprüngliche Höhe, um am zweiten Tag auf eine neuerliche Antipyriminjektion wieder herunterzufallen. Aus diesem Verhalten sehen wir, daß das Antipyrim zwar einen momentanen Einfluß auf die Verteilung der Hämolyse in der Blutbahn ausübt, ohne aber die Immunkörperbildung beeinflussen zu können. Ebenso drückt das Nalicylicum den Hämolysintiter herunter. Es ist zu bemerken, daß wir zu diesen Versuchen Kontrolltiere einstellten, um die aus der täglichen Schwankung des Hämolysintiters entstandene Fehlerquelle womöglich ausschalten zu können. Während unserer Untersuchungen hatten wir Gelegenheit, eine größere Anzahl von Kaninchenserum auf ihren Hämolysingehalt zu prüfen, und wir fanden, daß die tägliche spontane Schwankung wahrscheinlich von dem, als Komplement verwendeten Meer-schweinchenserum, vielleicht auch von den zwar ständig frisch

entnommenen Hammelblutkörperchen abhängt. Infolgedessen betrachteten wir als Maß der unspezifischen Beeinflussung immer eine größere Differenz als es die Tagesschwankung im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigte.

Untersuchungen mit Caseosan und Alttuberkulin wurden auch ausgeführt, jedoch an solchen Kaninchen, welche schon wochenlang mit Hammelblutinjektionen behandelt waren, und deren Hämolysinkurve eine spontan abfallende Tendenz zeigte. Es gelang uns, bei diesen Kaninchen die Hämolyse durch Caseosan oder Alttuberkulineinspritzungen nicht mehr zu beeinflussen.

Der Einfluß des Adrenalins wurde bei zwei mit Paratyphus B-Bazillen immunisierten Kaninchen geprüft. Einen Versuch, um die Adrenalinwirkung zu demonstrieren, geben wir in der nebenstehenden Kurve 4.

Die bedeutungslose Adrenalinwirkung stellte sich in diesem Falle schon eine Stunde nach der Injektion ein, und hatte keine dauernde, steigernde Wirkung auf die Agglutinationskurve, so daß sie als ein rein mechanischer Einfluß aufzufassen wäre. Dagegen hat die Milchinjektion eine auffallendere steigernde Wirkung, und da diese Wirkung noch einige Tage erhalten bleibt, können wir sie als eine immunkörpersteigernde Wirkung, und nicht als etwas Mechanisches auffassen, welches nur vorübergehend eine Verschiebung der Immunkörperverteilung in der Blutbahn hervorruft.



Kurve 4.

II.

Da die Wirkung der verschiedenen Proteinkörper schon vielfach studiert wurde, haben wir uns im folgenden nur auf

die Beobachtung der Adrenalinwirkung auf die Agglutinationskurve bei Typhuskranken bzw. bei Rekonvaleszenten beschränkt. Es ist bekannt, daß die Einspritzung einer Vakzine bei einem Gesunden oder bei einem Kranken verschiedene Erscheinungen hervorruft. Bei den ausgedehnten Schutzimpfungen im Laufe der letzten Jahre wurde die Erfahrung gemacht, daß die Injektion einer Typhusvakzine eine bedeutende Immunkörperbildung hervorruft. Dagegen erscheint bei einem Typhuskranken der therapeutische Effekt der Vakzineinspritzung in einer Zeit, wo sie auf den Immunkörpertiter noch keinen Einfluß hatte.

Wie aus unseren nachfolgenden Krankengeschichten ersichtlich ist, wurden die Adrenalininjektionen an verschiedenen Tagen im Verlaufe der Erkrankung ausgeführt; doch konnten wir keine größere Erhöhung des Agglutinationstiters beobachten. Weiter konnte auch keine Regelmäßigkeit für die Adrenalinwirkung festgestellt werden. Wir glauben auch sagen zu dürfen, daß auf Grund der Adrenalineinspritzungen weder im Beginn noch im Verlaufe bzw. in der Rekonvaleszenz solche Unterschiede entstehen, welche diagnostisch verwertet werden können. Weiter fanden wir, daß das Adrenalin auf die Immunkörperbildung weder nach kürzerer noch nach längerer Zeit irgendeinen in betracht kommenden Einfluß hat. Die kleinen beobachteten Titerdifferenzen möchten wir als etwas Mechanisches, als eine Ausschwemmung auffassen, welche der allgemeinen Adrenalwirkung zuzuschreiben wäre.

Auszüge aus den Krankengeschichten.

Versuche am Beginn der Erkrankung (schwere Fälle).

Fall 1. K. M. Typhus abdominalis. Schwerer Fall, hohes Fieber. Am 9. Krankheitstag, Agglutination: neg. 30 Min. nach der Injektion von 1 cm 1-prom. Adrenalinlösung: Agglutination: neg. Die Continua dauerte bis zum 16. Krankheitstag. 8 Tage nach der Adrenalininjektion, am 17. Krankheitstag, Agglutination: Ty 1:40 +, 1:80 Sp., Paty A neg. Paty B neg. 14 Tage nach der Adrenalineinspritzung am 24. Krankheitstag, Agglutination: Ty 1:40. Von nun an Pat. fieberfrei.

Fall 2. D. J. Typhus abdominalis. Sehr schwerer Fall, hohes Fieber, Herzschwäche. Agglutination auf Typhus 1:40 Spuren. 30 Min. nach einer Adrenalininjektion: Ty 1:40 +, 1:80 Spuren. Die Beobachtung konnte nicht fortgesetzt werden.

Versuche am Ende der Krankheit (leichte Fälle).

Fall 3. F. V. Abgelaufener Typhus abdominalis, seit einigen Tagen fieberfrei. Am 5. IX. Agglutination Ty 1:40 +. 30 Min. nach einer Injektion von 1 cem 1-prom. Adrenalin ergab die Agglutination dasselbe Resultat.

| | |
|------------------------------------|-------------------------|
| 9 Tage nach der Adrenalininjektion | Ty 1:80 +, 1:160 Spuren |
| 10 „ „ „ | „ Ty 1:80 +, 1:160 „ |
| 15 „ „ „ | „ Ty 1:80 +. |

Fall 4. K. V. Mittelschwerer Typhus.

Agglutination am (1. IX.) 10. Krankheitstag Ty 1:40 +,
 „ „ (2. IX.) 11. „ Ty 1:160 +, Paty A neg.
 Paty B 1:40 ±, 30 Minuten nach einer Adrenalininjektion Ty 1:160 +,
 Paty A 1:40 ±, Paty B 1:40 ±.

Von 11. IX. bis 16. IX. ein Rezidiv, während welcher am 23. Krankheitstag die Agglutination Ty 1:160 + ist. Während der folgenden Subfebrilität war die Agglutination immer unverändert Ty 1:160 +.

Fall 5. P. M. Continua. Die Agglutination negativ, Blutkultur Ty-Baz. 45 Min. nach einer Glanduitrininjektion blieb die Agglutination ebenfalls negativ. Während des langsamen Temperaturabfalls, und später während der fieberfreien Periode Widal ständig negativ, am 20. Tage nach der Glanduitrininjektion Widal: Ty 1:320 +, am 24. Tage nach der Glanduitrininjektion Widal Ty 1:160 +, am 27. Tag Ty 1:160. Diese Erhöhung des Agglutinationstiters am Ende der Krankheit kann nicht als durch die Glanduitrininjektion ausgelöste Erhöhung betrachtet werden. In der weiteren Rekonvaleszenz bekam Patient eine Adrenalininjektin; doch konnte binnen 3 Tagen keine Aenderung des Agglutinationstiters beobachtet werden.

Rezidiv nach Typhus.

Fall 6. Die Patientin bekam nach einer 10-tägigen fieberfreien Periode nach der Typhuserkrankung ein Rezidiv. Der Agglutinationstiter blieb auf eine 1 cem 1-prom. Adrenalineinspritzung, sowohl nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunden wie nach 3 Tagen unverändert.

Rekonvaleszenz nach Typhus.

Fall 7. H. J. 10 Tage fieberfrei, Agglutination Ty 1:160 +. Patient bekommt $\frac{1}{2}$ cem 1-prom. Adrenalin und am nächsten Tag 1 cem Adrenalin subkutan, der Agglutinationstiter ist nach einer Stunde, nach 2 bzw. 4 Tagen nach der letzten Adrenalininjektion unverändert. Am 7. Tag nach Adrenalin sank der Titer auf 1:80, und blieb auf diesem Niveau auch am 10. Tage nach der Injektion.

Wenn wir unsere Resultate noch einmal überblicken, so können wir zusammenfassend folgendes sagen:

Mit einem Antigen vorgenommene Immunisierung bei Versuchstieren konnte mit der Einspritzung eines anderen

Antigens nicht beeinflußt werden. Immunisierungsversuche mit Hammelblutkörperchen und Paratyphus B-Bazillen gleichzeitig durchgeführt, zeigen, daß die Bildung der zwei spezifischen Immunkörper unabhängig voneinander vor sich geht.

Die normalen Antikörper des Organismus erleiden während der Immunisierung mit irgendeinem Antigen keine nennenswerte Veränderung.

Im weiteren haben wir festgestellt, daß verschiedene Stoffe, so wie das NaCl, CaCl₂, KCl, Antipyrin, Na salic. usw., die Immunkörperkonzentration des Blutserums kaum oder sehr unbedeutend beeinflussen. Bei der Beurteilung unserer Versuche, besonders was die Schwankung der Hämolysinkurve anbelangt, müssen tägliche Differenzen im Vergleich zu den Kontrolltieren in Betracht gezogen werden, so daß die kleineren Schwankungen des Immunkörpertiters — besonders was die Hämolysine anbelangt — nicht mit Sicherheit auf die Wirkung einer unspezifischen Behandlung zurückzuführen sind.

Auf das vegetative Nervensystem wirkende Substanzen, wie Atropin, Pilocarpin, hatten keine besondere Wirkung auf den Immunkörpertiter gehabt. Die Adrenalinversuche zeigten, so bei immunisierten Tieren, wie an Typhuskranken und Rekonvaleszenten ausgeführt, daß eine ausgesprochene momentane oder ständige Erhöhung des Agglutinationstiters weder nach ganz kurzer (30 Min. bis 1½ Std.) noch nach längerer Zeit (1—20 Tage) beobachtet werden konnte. Die Befunde von Löhr, daß die Agglutination auf unspezifische Reize bei hochfebrilen Typhuskranken eine vorübergehende, bei Rekonvaleszenten und Bazillenträgern dagegen eine andauernde Erhöhung gezeigt hatte, werden durch unsere Versuche nur soweit nicht bestätigt, daß das Adrenalin weder bei künstlicher Immunisierung noch bei Rekonvaleszenten oder bei schweren Typhuskranken eine, den Angaben von Borchardt entsprechende Erhöhung des Agglutinationstiters aufwies. Was die Milchwirkung anbelangt, so konnten wir im Tierversuche die aus der Literatur bekannte steigernde Wirkung bestätigen.

Zusammenfassung.

Die von uns geprüften Stoffe, wie das NaCl, KCl, CaCl₂, das Natrium salicylicum und Antipyrin, das Morphinum und

Strophantin, von den Substanzen, welche auf das vegetative Nervensystem wirken, das Atropin und Pilocarpin, weiter das Adrenalin (Tonogen Richter), das Glanduitrin (Richter) führten zu keiner nennenswerten Steigerung der Immunkörperbildung.

Literatur.

- 1) Borchardt, Deutsche med. Wochenschr., 1919; Münchener med. Wochenschr., 1919.
- 2) Bijlsma, Centralbl. f. Bakt., Bd. 86, 1921.
- 3) Korányi, Orvosi Hetilap, 1917.
- 4) Löhr, Zeitschr. f. d. ges. exp. Path., Bd. 24, 1921.
- 5) Matsumoto, Journ. of immunol., Vol. 5. Ref. Kongr. Centralbl., Bd. 12, p. 394.
- 6) Pinner, Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose, Bd. 46.
- 7) Pfeifer und Marx, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 27.
- 8) Rosenthal und Minokichi, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1914.
- 9) Rothacker, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913.
- 10) Ruß und Kirschner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, 1921.
- 11) Weichardt, Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 22; 1919, No. 11.
- 12) Friedberger, Klemperer und Rosenthal, Müller und Dieudonné, Salomon und Madsen zit. bei Borchardt.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.]

Ueber Hämagglutininvermehrung und Hämagglutination fördernde Wirkung bei menschlichen Seren.

Von Dr. Kurt Meyer.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Februar 1922.)

In sehr seltenen Fällen beobachtet man gelegentlich der Anstellung der Wassermannschen Reaktion eine außerordentlich starke Agglutination der Hammelblutkörperchen; fast unmittelbar nach dem Zusatz sinken sie in Flocken zu Boden und bilden in kurzer Zeit eine zusammenhängende, nur durch starkes Schütteln zu lockernde Masse. Diese an die von Bordet und Streng¹⁾ beschriebene Konglutination durch

1) J. Bordet und O. Streng, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 49, 1909, p. 47.

Rinderserum erinnernde Zusammenballung kann die Hämolyse völlig verhindern.

Zur Aufklärung dieser interessanten Erscheinung habe ich einige Versuche angestellt, die allerdings bei der Seltenheit des Materials — unter etwa 100 000 Wassermann-Untersuchungen begegnete mir das Phänomen nur 8–10mal — noch zu keinem abschließenden Ergebnis führten.

Im ersten Falle, den ich näher untersuchte, handelte es sich um eine einfache Agglutination durch Normalagglutinine, die die bekannten Eigenschaften zeigten. Das Ungewöhnliche war die außerordentlich starke Wirksamkeit. Die agglutinierende Grenzdosis betrug für Kaninchenblut (0,25 ccm 5-proz. Aufschwemmung, Gesamtvolumen 1 ccm, Versuchsdauer 2 Stunden bei 37°, über Nacht bei Zimmertemperatur), 0,002 ccm, für Pferdeblut 0,005 ccm, für Meerschweinchen- und Menschenblut — das Serum gehörte zum isoagglutinatorischen Typus I von Landsteiner — 0,02 ccm, für Rinder- und Hammelblut 0,05 ccm.

Die Agglutinine wurden durch Erhitzen auf 56° nicht abgeschwächt und erst über 70° zerstört. Sie wurden von den Blutkörperchen gebunden, und zwar, wie schon Malkoff¹⁾ beschrieben hat, in spezifischer Weise, so daß bei Behandlung mit einer Blutart nur die dieser entsprechenden Agglutinine verschwanden, während die für andere Blutarten keine erheblichere Abschwächung erfuhren.

Gegenüber Bakterien — untersucht wurden Typhus-, Ruhr- und X 19-Bazillen — zeigte das Serum keine verstärkte Agglutininwirkung. Es handelte sich also offenbar nicht, woran man zunächst hätte denken können, um abnorme Stabilitätsverhältnisse der Serumkolloide, sondern um eine isolierte, außerordentlich starke Vermehrung der normalen Hämagglutinine, für die eine Ursache — es handelte sich um einen Fall von Pneumonie — nicht ersichtlich ist. Kürzlich beobachtete ich einen weiteren Fall von starker, allerdings nicht so hochgradiger Hämagglutininvermehrung.

Die Vermutung, daß das eingangs beschriebene Phänomen stets in gleicher Weise bedingt sei, bestätigte sich nicht. Vor kurzer Zeit begegneten mir zufällig kurz hintereinander zwei

1) G. M. Malkoff, Deutsche med. Wochenschr., 1900, p. 229.

Sera, bei denen die Erscheinung eine andere Aufklärung fand. Es ergab sich nämlich, daß sie nur zustande kam, wenn sensibilisiertes Blut verwendet wurde. Gegenüber unsensibilisierten Blutkörperchen zeigten die Sera keine stärkere agglutinierende Wirkung als andere Sera.

Mit dem ersten Serum, das von einem agonalen Fall von Lebercirrhose stammte und von dem nur eine geringe Menge zur Verfügung stand, konnten nur wenige Versuche angestellt werden. Es wurde ermittelt, daß es mit der doppelten hämolytischen Dosis sensibilisiertes Hammel- und Meerschweinchenblut (0,25 ccm, Gesamtvolumen 1 ccm) bis zu einer Menge von 0,001 ccm herab agglutinierte, während sensibilisiertes Rinderblut unbeeinflusst blieb.

Von dem zweiten Fall, einer chronischen Bronchitis, war eine größere Menge erhältlich, die für einige weitere Versuche, deren Ausführung Frl. H. Landé freundlicherweise übernahm, ausreichte.

Zunächst wurde die Stärke der agglutinationsfördernden Wirkung bestimmt. Es ergab sich, daß es, wie das erste Serum, noch in einer Menge von 0,001 ccm sensibilisiertes Hammelblut agglutinierte. Bei anderer Versuchsanordnung rief ein Hammelblutimmunserum, das an sich bis zu 0,002 ccm agglutinierte, in Gegenwart von 0,02 ccm Patientenserum noch in einer Menge von 0,0001 ccm Agglutination hervor. Die Agglutinationswirkung war also auf das 20-fache gesteigert.

Noch stärker war die agglutinationsfördernde Wirkung gegenüber einem Menschenblutimmunserum, bei dem der Grenzwert der Agglutination von 0,02 ccm auf 0,0002 ccm herabgesetzt wurde. Dagegen fehlte auffallenderweise auch diesem Serum jede agglutinationsfördernde Wirkung auf ein Rinderblutimmunserum, das mit wie ohne Serum bis 0,02 ccm agglutinierte.

Ebenso wurde die spezifische Agglutination von Typhus- und Ruhrbazillen durch das Serum nicht verstärkt.

Einen merkbaren fördernden Einfluß auf die hämolytische Wirkung von Hammel- und Menschenblutimmunserum übte das Patientenserum nicht aus.

Die agglutinationsfördernde Substanz wurde von nativen Blutkörperchen nicht gebunden, dagegen von sensibilisierten,

und zwar in um so größerer Menge, je stärker die Blutkörperchen sensibilisiert waren. So vermochte 0,25 ccm einfach sensibilisiertes Hammelblut die agglutinationsfördernde Wirkung von 0,005 ccm, die gleiche Menge zehnfach sensibilisierten Blutes dagegen die von 0,02 ccm Patientenserum aufzuheben. Zweimalige Behandlung mit 0,25 ccm zehnfach sensibilisiertem Hammelblut brachte die agglutinationsfördernde Wirkung von 0,2 ccm Serum ganz zum Verschwinden. Absorption mit sensibilisierten Blutkörperchen einer Tierart hob auch die Wirkung gegenüber Blutkörperchen einer anderen Tierart auf.

Bei Fraktionierung des Serums mittels CO₂-Einleiten nach Liefmann erwiesen sich das in einer dem ursprünglichen Flüssigkeitsvolumen entsprechenden Menge NaCl-Lösung gelöste Sediment und der Abguß als gleich wirksam. Beide übten ihre Wirkung bis zu einer Menge von 0,005 ccm aus. Auch das Gemisch beider Flüssigkeiten war nicht stärker wirksam. Es war also bei der Fraktionierung ein Wirksamkeitsrückgang auf etwa die Hälfte eingetreten. Bei mehrtägiger Aufbewahrung im Eisschrank zeigte keine der beiden Fraktionen eine weitere Abnahme der Wirksamkeit.

Gegenüber Erhitzen erwies sich die agglutinationsfördernde Wirkung als relativ resistent. Halbstündiges Erwärmen auf 56° bewirkte keine Abschwächung; erst durch halbstündiges Erhitzen auf 70° wurde sie aufgehoben. Derart inaktiviertes Serum übte keine hemmende Wirkung auf die Agglutinationsförderung durch frisches Serum auf.

Beim Schütteln trat ebenfalls allmähliche Zerstörung ein; nach 2 Stunden war der Grenzwert auf 0,002 ccm, nach 12 Stunden auf 0,01 ccm gestiegen.

Nach zweistündiger Einwirkung von 0,1 ccm 0,2-proz. Cobragiftlösung auf 0,5 ccm Patientenserum war die agglutinationsfördernde Wirkung verschwunden. Sie ließ sich auch durch Zusatz von anderen frischen Menschenserum nicht reaktivieren.

Soweit das Tatsachenmaterial, das bisher gesammelt werden konnte. Trotz seiner Unvollständigkeit scheint mir die Veröffentlichung angezeigt, um die Aufmerksamkeit auf die interessante Erscheinung zu lenken, da ich bei der Selten-

heit ihres Vorkommens nicht damit rechnen kann, die Versuche selbst bald fortführen zu können.

In der Literatur liegen zwar einzelne Angaben über Agglutinationsförderung und -verstärkung vor, es handelt es sich hierbei um thermolabile, zum Teil von der Gegenwart von Komplement abhängige Serumwirkungen, wie bei der bereits oben erwähnten Konglutininwirkung oder der von Bail¹⁾ beschriebenen, von Bayer²⁾ bestätigten Hemiagglutininwirkung. Auch die von Bordet und Gengou³⁾ beobachtete agglutinationsverstärkende Wirkung spezifischer Präzipitate kommt für die Deutung unseres Phänomens nicht in Betracht.

Dagegen scheint eine Veröffentlichung von Dean⁴⁾ verwandte Vorgänge zu betreffen. Dieser Autor beobachtete, daß die Globulinfraktion des Meerschweinchenserums auf die Agglutination von Blutkörperchen und Bakterien durch Normal- und Immunsere verstärkend wirkte. Diese Funktion wurde durch halbstündiges Erhitzen auf 56° nicht aufgehoben und konnte auch beim Vollserum nachgewiesen werden.

Eine Bestätigung dieser ihm anscheinend entgangenen Befunde bringt soeben Olsen⁵⁾. Auch er findet, daß die Globulinfraktion des Serums die Hämagglutination verstärkt und daß diese Wirkung durch halbstündiges Erwärmen auf 56° sowie bei der Aufbewahrung in verdünntem Zustande nicht aufgehoben wird. Er glaubt daher, daß sie auf keinen der bekannten Serumbestandteile zu beziehen sei.

Die Beobachtungen Deans und Olsens stimmen mit den meinigen im wesentlichen überein. Allerdings fand ich neben der Globulin- auch die Albuminfraktion wirksam, was aber nicht von Bedeutung ist, da ja auch bei der Spaltung des hämolytischen Komplements mitunter Anteile des Mittelstückes in die Albuminfraktion übergehen. Auch konnte ich bei anderen Menschenseren — allerdings untersuchte ich solche nur in ungespaltenem Zustande — eine agglutinationsverstärkende

1) O. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 42, 1902, p. 307.

2) G. Bayer, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 15, 1912, p. 220.

3) J. Bordet und O. Gengou, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 58, 1911, p. 330.

4) H. R. Dean, Proc. Roy. Soc., Vol. 84, 1911, p. 416.

5) O. Olsen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, p. 283.

Wirkung, wenigstens in einer Menge von 0,05 ccm, nicht feststellen. Doch sind diese Unterschiede nicht von prinzipieller Bedeutung.

Was die Beziehung der agglutinationsfördernden Substanz zu anderen Serumbestandteilen betrifft, so scheint auch mir eine solche zum Mittel- und Endstück des hämolytischen Komplements wegen deren ausgesprochenen Thermolabilität ausgeschlossen werden zu können. Dagegen besteht hinsichtlich der Zerstörung durch Kobragift Uebereinstimmung mit der sogenannten dritten Komponente des Komplements, deren geringere thermische Empfindlichkeit ebenfalls mit dem Verhalten der agglutinationsfördernden Substanz eher vereinbar wäre. Jedenfalls scheint mir der Befund der Zerstörung durch Cobragift von besonderer Bedeutung zu sein, da er Vermutungen bezüglich der lipoiden Natur der fraglichen Substanz anregt, die weiteren Untersuchungen den Weg weisen.

Schließlich sei noch betreffs der anfangs beschriebenen direkten Agglutinationswirkung auf unsensibilisiertes Blut mit Rücksicht auf ihren konglutinationsartigen Charakter die bei neuen Fällen experimentell zu prüfende Vermutung geäußert, daß an ihr neben einem erhöhten Agglutiningehalt auch die Anwesenheit der agglutinationsfördernden Substanz beteiligt war.

Zusammenfassung.

In seltenen Fällen wurde bei der Wassermannschen Reaktion eine außerordentlich starke Agglutination der Hammelblutkörperchen beobachtet. Während es sich bei einigen Seren um einfache Hämagglutininwirkung handelte, trat bei anderen die Erscheinung nur bei Verwendung sensibilisierter Blutkörperchen ein. Es war also eine agglutinationsfördernde Wirkung des Serums vorhanden. Diese wurde durch Erwärmen auf 56° nicht abgeschwächt, dagegen allmählich durch Schütteln und schnell durch Einwirkung von Cobragift aufgehoben. Sie war sowohl in der Globulin- wie in der Albuminfraktion des Serums nachweisbar. Für Beziehungen der agglutinationsfördernden Substanz zur sogenannten dritten Komplementkomponente sowie für ihre Lipoidnatur gibt ihre Zerstörbarkeit durch Cobragift Anhaltspunkte.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.]

Ueber das Verhalten der Hammelblutimmunsera gegenüber den Lipoiden aus Organen vom heterogenetischen Typus.

Ueber antigene Eigenschaften von Lipoiden.

XIII. Mitteilung.

Von Dr. Kurt Meyer.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Februar 1922.)

In einer früheren Mitteilung konnte ich ¹⁾ zeigen, daß die aus Meerschweinchen- und Pferdeniere, also heterogenetisches Antigen enthaltenden Organen, isolierten acetonunlöslichen Lipoiden vom Charakter des Kephaling und Lecithins mit heterogenetischen Antiseren unter Komplementbindung reagieren und daß sie die in diesen Seren enthaltenen heterogenetischen Hammelbluthämolyse zu binden vermögen. Es durfte angenommen werden, daß sie sich gegenüber dem heterogenetischen Antikörperanteil der Hammelblutimmunsera in gleicher Weise verhalten würden. In einer kürzlich erschienenen Arbeit macht jedoch v. Gutfeld ²⁾ die Angabe, daß alkoholische Extrakte aus Organen vom heterogenetischen Typus nur die Hämolyse der heterogenetischen Sera, nicht aber die des Hammelblutimmunserums zu binden vermögen. Hiernach würden sich die alkoholischen Extrakte, deren Wirksamkeit ich auf die acetonunlöslichen Lipoiden zurückgeführt habe, anders als die Organe selbst verhalten, da diese ja, wie seit langem bekannt, den heterogenetischen Anteil der Hammelblutimmunsera quantitativ binden.

1) Kurt Meyer, Biochem. Zeitschr., Bd. 122, 1921, p. 225.

2) Fritz v. Gutfeld, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 33, 1922, p. 461.

Um diesen Widerspruch zu lösen, schien es angezeigt, das Verhalten der acetonunlöslichen Lipide gegenüber den heterogenetischen Antikörpern von Hammelblutimmunsereen genauer zu prüfen.

Zur Verwendung kamen zwei in üblicher Weise gewonnene Hammelblutimmunsere No. 71 und 76. Um zunächst das Mengenverhältnis der in ihnen enthaltenen Hammelbluthämolyse festzustellen, wurden die heterogenetischen Antikörper durch Absorption mit Meerschweinchenniere entfernt und nunmehr der Titer der zurückbleibenden isogenetischen Hämolyse bestimmt. Die zehnfach verdünnten Sera wurden mit der gleichen Menge 10-proz. gewaschener Meerschweinchennierenemulsion 1 Stunde bei 37° gehalten; mit den klar zentrifugierten Abgüssen wurde das Verfahren in gleicher Weise wiederholt. Tabelle I zeigt das Ergebnis der Titerbestimmung.

Tabelle I.

| 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut + 0,5 ccm 10-proz. Meerschweinch chenkomplement | Serum 71 | | Serum 76 | |
|--|----------|------------|----------|------------|
| | Nativ | absorbiert | Nativ | absorbiert |
| + 0,002 ccm | c | c | c | c |
| 0,001 " | c | f. c. | c | c |
| 0,0005 " | f. c. | Spur | c | i |
| 0,0002 " | Spur | 0 | f. c. | 0 |
| 0,0001 " | 0 | 0 | Spur | 0 |

Ablesung nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°. c = komplette, f. c. = fast komplette, i = inkomplette Hämolyse.

Bei beiden Seren war also durch die Bindung an Meerschweinchenniere der Titer auf die Hälfte herabgesetzt worden, mit anderen Worten: sie enthielten zu etwa gleichen Teilen isogenetische und heterogenetische Hammelbluthämolyse.

Nunmehr wurden die Sera im Komplementbindungsversuche mit „Kephalin“ aus Pferdeniere als Antigen angesetzt. Zum Vergleich wurden zwei Meerschweinchennierenantisera (No. 17 und 44) und ein Pferdenierenantiserum (No. 25) mit in den Versuch eingestellt. Alles Nähere ergibt sich aus Tabelle II.

Tabelle II.

| 0,5 ccm Pferdenierenkephalin 1:10000 + 0,5 ccm 10-proz. Meerschweinchenkomplement | Serum 71 | Serum 76 | Serum 17 | Serum 44 | Serum 25 |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| + 0,05 ccm | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,02 " | 0 | 0 | f. c. | 0 | 0 |
| 0,01 " | 0 | 0 | c | i | f. c. |
| 0,005 " | Spur | 0 | | c | c |
| 0,002 " | f. c. | 0 | | | |
| 0,001 " | c | i | | | |

1 Stunde Bindungszeit, darauf Zusatz von 0,5 ccm doppelt sensibilisiertem Rinderblut. Ablesung nach Lösung der Kontrollen.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß auch die Hammelblutimmunsera Komplementbindung mit dem Pferdenierenlipoid geben. Diese übertrifft noch die von den Organantiseren bewirkte. Es erklärt sich dies aus ihrem stärkeren Gehalt an heterogenetischen Antikörpern, der aus der folgenden Tabelle III hervorgeht, in der der hämolytische Titer der mit Meerschweinchenniere absorbierten Hammelblutimmunsera und der Organantiseren nebeneinander wiedergegeben ist.

Tabelle III.

| 0,5 ccm 5% Hammelblut + 0,5 ccm 10% Meerschweinchenkomplement | Serum 71 (absorb.) | Serum 76 (absorb.) | Serum 17 | Serum 44 | Serum 25 |
|---|--------------------|--------------------|----------|----------|----------|
| + 0,005 ccm | c | c | f. c. | c | c |
| 0,002 " | c | c | Spur | i | f. c. |
| 0,001 " | f. c. | c | 0 | 0 | Spur |
| 0,0005 " | Spur | f. c. | 0 | 0 | 0 |
| 0,0002 " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Wir sehen also auch bei den Hammelblutimmunseren, wie sich dies früher für die Organantiseren ergeben hat und auch aus dieser Tabelle ersichtlich ist, eine völlige Proportionalität in der Menge der heterogenetischen Hämolytine und komplementbindenden Antikörper, wobei wir die Frage der Identität beider Antikörperarten offen lassen möchten.

Um die Bindung der Hämolysine durch das Lipoid nachzuweisen, wurde das gleiche Verfahren wie früher gewählt. Wie ich damals hervorhob, ist es nicht zulässig, einfach Lipoid mit Serum zu mischen und Hammelblutkörperchen mit Komplement zuzufügen, da bei diesem Vorgehen Störungen durch Komplementbindungsprozesse zu erwarten sind. Vielmehr wurde das Lipoid mit abfallenden Serummengen zunächst 2 Stunden bei 37° gehalten, dann mit 0,5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung versetzt und wieder für eine Stunde in den Brutschrank gebracht. Hierauf wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert, gewaschen und nunmehr durch Zusatz von 0,5 ccm Meerschweinchenserum 1:10 auf Sensibilisierung geprüft. Um die Spezifität der Bindung darzutun, wurde der Versuch außer mit Hammelblutkörperchen auch mit Rinderblutkörperchen angesetzt. Die im Hammelblutimmunserum enthaltenen Rinderbluthämolysine mußten als isogenetische Antikörper durch das Lipoid unbeeinflusst bleiben. Endlich wurde in den Versuch neben dem Hammelblutimmunserum (71) auch das Meerschweinchennierenantiserum No. 44 eingestellt. Das Ergebnis findet sich in Tabelle IV.

Tabelle IV.

| | Serum 71 + 0,5 ccm Kephalin 1:1000 | ohne Kephalin | Serum 44 + 0,5 ccm Kephalin 1:1000 | ohne Kephalin | Serum 71 + 0,5 ccm Kephalin 1:1000 | ohne Kephalin |
|----------|---|------------------|---|------------------|--|------------------|
| | + 0,5 ccm Hammelblut + 0,5 ccm 10-proz. Meerschweinch- komplement | | | | + 0,5 ccm 5-proz. Rinderblut + 0,5 ccm 10-proz. Meerschw.- Komplement | |
| 0,05 ccm | c | c | 0 | c | c | c |
| 0,02 " | c | c | 0 | c | c | c |
| 0,01 " | c | c | 0 | c | c | c |
| 0,005 " | c | c | 0 | c | f. c. | f. c. |
| 0,003 " | c | c | 0 | i | Spur | Spur |
| 0,001 " | f. c. | c | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,0005 " | 0 | f. c. | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,0002 " | 0 | Spur | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,0001 " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Es war somit auch bei dem Hammelblutimmunserum die Bindung der heterogenetischen Hämolysine an das Lipoid nachweisbar. Während aber

bei dem Organantiserum das Lipoid und die Hämolyse durch eine 10 hämolytische Einheiten enthaltende Serummenge völlig gehemmt hatte, vermochte von dem Hammelblutimmunserum die gleiche Lipoidmenge nur die einfache hämolytische Dosis unwirksam zu machen; bei Zusatz von zwei hämolytischen Einheiten trat bereits Lösung ein. Die Erklärung für dieses Verhalten liegt auf der Hand. Da, wie oben durch den Organabsorptionsversuch festgestellt wurde, die Hämolyse des Hammelblutimmunserums nur zur Hälfte isogenetischer Natur sind, so wird von zwei Hämolyse-einheiten die eine durch das Lipoid nicht gebunden werden und somit Hämolyse hervorrufen müssen.

Daß auf die isogenetischen Hämolyse tatsächlich das Lipoid keine Wirkung ausübt, zeigt der Versuch mit Rinderblut, in dem sich die hämolytische Grenzdosis mit und ohne Lipoidzusatz als gleich ergibt.

Aus der Gesamtheit unserer Versuche folgt demnach, daß auch die Hammelblutimmunsera entsprechend ihrem Gehalt an heterogenetischen Antikörpern mit den acetonunlöslichen Lipoiden aus Organen von heterogenetischem Charakter in Reaktion treten. Die abweichende Angabe v. Gutfelds erklärt sich wohl daraus, daß er mit zu großen Hämolyse-mengen arbeitete, so daß die Bindung der nur einen Teil von ihnen bildenden heterogenetischen Hämolyse in seinen Versuchen nicht zum Ausdruck kam.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß, wie die Organantiseren, so auch die Hammelblutimmunseren entsprechend ihrem Gehalt an heterogenetischen Antikörpern mit den acetonunlöslichen Lipoiden aus Organen vom heterogenetischen Typus unter Komplexbindung reagieren und daß die in ihnen enthaltenen heterogenetischen Hämolyse wie die der Organantiseren von jenen Lipoiden gebunden werden.

Nachdruck verboten.

[Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Universität Würzburg.]

Ueber das Wesen der Tuberkulinreaktion.

(Bemerkungen zu der unter gleicher Ueberschrift
in Bd. 32 dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit
von H. Selter.)

Von Prof. **Karl Zieler.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Februar 1922.)

Die Untersuchungen Selters sind mir leider erst jetzt bekannt geworden. Sie haben neue, wertvolle Befunde dafür beigebracht, daß die Tuberkulinreaktion als eine spezifische anzusehen ist. Hierfür haben ja auch schon früher sehr ausgedehnte, einwandfreie, experimentelle Feststellungen vorgelegen. Augenscheinlich sind Selter aber meine experimentellen Arbeiten zu dieser Frage^{1) 2)} völlig entgangen, so daß ich hierauf etwas eingehen muß, zumal sie grundlegende Feststellungen enthalten und Selter anscheinend aus diesem Grunde zu teilweise unrichtigen Schlußfolgerungen gekommen ist.

Selter erwähnt die Annahme Sorgos³⁾, daß die Tuberkulinreaktion bei Tuberkulösen auch durch andere Stoffe als Tuberkulin hervorgerufen werden könne, und bemerkt, daß er Sorgos auffallende Ergebnisse mit Diphtherie- und Dysenterietoxin (Herdreaktion bzw. Wiederaufflammen nach subkutaner Tuberkulinzuführung) nicht habe nachprüfen können. Er erwähnt ferner, daß Lüdke und Sturm⁴⁾ über Ergebnisse berichten, die von denen Sorgos abweichen, und daß Bessau⁵⁾ durch subkutane Tuberkulinprüfung nachgewiesen habe, daß nur Tuberkulinhautimpfungen, nicht aber Serumhautimpfungen danach wieder aufgeflammt seien.

Diese Fragen waren bereits von mir experimentell gelöst worden (s. o. a. a. O.), und zwar längere Zeit vor dem Erscheinen der Arbeit von Sorgo. Auf diese Unter-

1) K. Zieler, Arch. f. Dermat. u. Syph., Bd. 102, 1910.

2) K. Zieler, Dtsch. med. Wochenschr., 1911, No. 45.

3) J. Sorgo, Dtsch. med. Wochenschr., 1911, No. 22.

4) H. Lüdke und J. Sturm, Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 37.

5) G. Bessau, Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 81, 1915.

suchungen haben Lüdke und Sturm sowie Bessau, die Selter anführt, ausdrücklich hingewiesen. Meine zweite auf Sorgos Veröffentlichung sich beziehende Mitteilung ist unter der gleichen Ueberschrift wie die Sorgos und in dem gleichen Jahrgang der gleichen Zeitschrift erschienen (Dtsch. med. Wochenschr., 1911, No. 45).

Die für diese Frage wichtigen Ergebnisse meiner ersten Arbeit lauten:

„Unsere Untersuchungen haben erwiesen, daß Tuberkulose auf ‚Tuberkuline‘¹⁾ selbst nach Ausschluß aller (auch ultramikroskopischer) Bazillenbestandteile (Dialysate) bei Hautimpfungen nach v. Pirquet mit anatomischen Veränderungen am Orte der Impfungen antworten, die als ‚tuberkulose‘ aufgefaßt werden müssen.“ . . . „Die durch die Dialysate hervorgerufenen Veränderungen zeigen zwar eine schwächere Ausbildung und sind vielleicht weniger charakteristisch als die mit den verschiedenen“ (unverdünnten!) „Tuberkulinen (AT, Kulturfiltrate, BE.) erzeugten Bildungen, aber von ihnen nur graduell verschieden und können histologisch ebenfalls nur als spezifisch tuberkulöse Prozesse bezeichnet werden.“

„Ihre Spezifität beweisen alle diese Veränderungen auch dadurch, daß an ihnen bei subkutaner Zuführung von AT eine typische Herdreaktion auftreten kann.“

„Daß es sich um rein toxisch entstandene Bildungen handelt, nicht um traumatische Tuberkulosen, hervorgerufen durch auf dem Blutwege zugeführte TB, geht einmal daraus hervor, daß sie spontan stets restlos abheilen und daß demgemäß auch nach Verlauf mehrerer Monate an ihnen eine positive örtliche Tuberkulinreaktion nicht mehr zu erzielen ist“ . . .

„Diese Dauerreaktionen können ebenso wie die schnell ablaufenden Kutanreaktionen nur als

1) Alttuberkulin (AT), Perlsucht tuberkulin (PT), Kulturfiltrate (T.O.A. und P.T.O.), Vakuumtuberkulin, Kochsche Bazillenemulsion (BE.), ferner Dialysate aus AT, BE. und einer Aufschwemmung lebender TB.

spezifische Ueberempfindlichkeitsreaktionen, als Zeichen einer erworbenen Gewebssimmunität, angesehen werden, da sie nur bei Tuberkulösen entstehen.“ . . . „Demgemäß ist es auch selbstverständlich, daß der tuberkulöse Organismus in gleichsinniger Weise auf neu zugeführte Tuberkulosestoffe reagiert, mag dies nun in Form noch erhaltener TB oder in Gestalt des ‚Endotoxins‘ oder in echten Lösungen (Dialysate) geschehen. So ist es auch verständlich, daß selbst die Dialysate am Ort der stärksten Einwirkung eine Koagulationsnekrose erzeugen, also eine Wirkung ausüben, die man allein den gelösten Bazillenkörpern hat zuschreiben wollen.“

„Während nun Hautimpfungen mit anderen Stoffen (Lösungen von Eiweißstoffen [Albumosen, Nährbouillon¹⁾, Leberextrakte] und bakterielle ‚Toxine‘, wie Staphylolysin, Mallein, Trichophytin) wohl klinisch zu ähnlichen Reaktionen führen können wie die verschiedenen Tuberkuline, und zwar sowohl bei klinischer Tuberkulose wie bei anderen Erkrankungen sind diese Reaktionen“ (d. h. bei Tuberkulösen!) „zum Teil schon bei histologischer Untersuchung ohne weiteres von Tuberkulinhautimpfungen zu unterscheiden. Ihre völlige Verschiedenheit davon und gleichzeitig die Spezifität der Tuberkulinhautimpfung beweisen sie aber dadurch, daß sie niemals wie diese (einschließlich der Dialysatimpfungen) auf (subkutane Zufuhr von) Tuberkulin örtlich reagieren. Diese Spezifität konnte auch dadurch erwiesen werden, daß z. B. beim selben Kranken auf AT nur die Tuberkulinimpfung, auf Mallein nur die Malleinimpfung eine Herdreaktion zeigte, und zwar mehrfach“ (bei einem Kranken mit chronischem Rotz und gleichzeitiger chronischer Lungentuberkulose).

„Wir haben also erweisen können, daß die verschiedenen von uns geprüften toxischen Stoffe auch

1) Hier findet sich auch schon der Nachweis, daß z. B. die Wirkung des Tuberkulins keineswegs auf seinem Gehalt an Albumosen (Deuteroalbumose, Pepton) beruhen kann.

bei Tuberkulösen nicht zu Veränderungen führen, die man trotz klinischer und mancher histologischer Aehnlichkeiten (Leberextraktimpfungen) als echte tuberkulöse auffassen, also im Sinne einer traumatischen Tuberkulose deuten könnte. Denn dann müßten sie stets auf AT örtlich reagieren.“

„Das Bild der histologischen Tuberkulose kommt . . . auf tuberkulotoxischem Wege, also durch gelöste TB-Stoffe, nur zustande bei vorhandener Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulose, d. h. bei mit TB infizierten Menschen oder Tieren.“

In der zweiten, durch Sorgos auffallende Befunde (sie waren ja eigentlich schon durch die erwähnten Ergebnisse hinreichend widerlegt) veranlaßten Untersuchung habe ich erneut festgestellt, daß die Tuberkulinhautreaktionen streng spezifisch sind, daß man bei Tuberkulösen aber ähnliche Ergebnisse (d. h. spätere Herdreaktionen bei subkutaner AT-Prüfung) auch mit anderen „Giftstoffen“ (Diphtherie-, Dysenterie-, Typhustoxin und Deuteroalbumose), ja selbst mit physiologischer Kochsalzlösung erzielen kann, wenn man Spritzen und Kanülen benutzt, die schon für Tuberkulin verwendet worden sind! Denn selbst durch sehr gründliche Reinigung, langes Kochen usw. läßt sich das Tuberkulin auch aus Glas- und Metallspritzen nicht völlig beseitigen! Und Sorgos Arbeit stammt aus einer Tuberkuloseheilstätte! Selter selbst hat ja auch nachgewiesen, daß sogar ein Erhitzen auf 150° die Wirksamkeit des Tuberkulins nicht wesentlich beeinflußt. Verwendet man neue Spritzen, bzw. für jeden Impfstoff eine besondere Spritze, dann bleibt an „positiven“ Kutan- bzw. Intrakutanimpfungen mit irgendwelchen Giftstoffen — die fallen auch bei Tuberkulösen keineswegs stets den Hautimpfungen mit Tuberkulin gleichsinnig aus — nach subkutaner Tuberkulinzuführung jede Herdreaktion aus, während sie ganz regelmäßig an den positiven Tuberkulinhautimpfungen der gleichen Kranken auftritt.

Diese Verhältnisse habe ich in der wohl allgemein zugänglichen Veröffentlichung in der Dtsch. med. Wochenschr.

(a. a. O.) eingehend behandelt, so daß sich ein weiteres Eingehen auf diese Frage m. E. erübrigt.

Ferner habe ich vor Much und Leschke¹⁾ bzw. Bessau²⁾ darauf hingewiesen³⁾, „daß von abgetöteten und irgendwo im Körper abgekapselten Bazillen Stoffe in den Kreislauf übertreten und die Zellen des Körpers derart beeinflussen, daß es an Stelle einer Tuberkulinhautimpfung zu einer typischen allergischen Reaktion⁴⁾ kommt, wie bei tuberkulösen Menschen oder mit TB infizierten Tieren.“ Diese Ergebnisse sind an Kaninchen mit in die Bauchhöhle versenkten Kollodiumsäckchen angestellt worden, die mit Kochscher Bazillenemulsion gefüllt waren. Versuche mit lebenden TB (Typus humanus) in Kollodiumsäckchen sind weniger deutlich, aber ebenfalls positiv ausgefallen, solche mit Tuberkulin wie bei anderen Untersuchern negativ. Die intravenöse Zuführung von Tuberkulin, auch vielfach wiederholt, hat nie ähnliche Befunde ergeben. Bessaus ähnliche, aber größere Versuchsreihen (Einspritzungen abgetöteter TB in verschiedene Organe) sind wohl ähnlich zu deuten wie meine Ergebnisse. Bessau betont, „daß es gelingt, durch eine einmalige Injektion von kleinen Mengen von toten TB eine lokale Tuberkulinempfindlichkeit beim Meerschweinchen hervorzurufen, und zwar nicht nur eine schwache, sondern gelegentlich eine so starke, wie sie auch bei tuberkulös infizierten Tieren kaum stärker angetroffen wird.“

Für meine Versuche gilt folgendes: „Wenn es auch gelingt, biologische Tuberkulinreaktionen . . . bei gesunden Tieren auszulösen, die nur gelöste Tuberkulosestoffe (Dialysate usw.) in ihrem Körper beherbergen, so sind diese Stoffe doch augenscheinlich noch nicht stark genug oder werden zu bald ausgeschieden, um alle Zellen des Kör-

1) S. bei Selter, a. a. O. und Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 20, 1911.

2) G. Bessau, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 29.

3) K. Zieler, Arch. f. Dermat., a. a. O.

4) Für die Erzeugung einer allgemeinen Tuberkulinreaktion bei gesunden Tieren war eine ähnliche Versuchsanordnung schon früher verwendet worden (s. a. a. O.).

pers derart zu beeinflussen, daß es zur Bildung tuberkulöser Strukturen kommt.“ Die biologische Reaktion ist augenscheinlich die feinere und früher auftretende (s. besonders auch P. H. Römer). Deshalb gebe ich Selter zu, daß diese Frage noch weiterer experimenteller Prüfung bedarf.

Es ist ferner ein zweifelloses Verdienst Selters, durch neue Experimente die Auffassung gestützt zu haben, daß die Tuberkulinreaktion bzw. die Tuberkulinüberempfindlichkeit auf zellulären Eigenschaften beruht. Diese Auffassung habe ich bereits 1910 (s. a. a. O.) nach eigenen Untersuchungen und der damals vorliegenden Literatur eingehend begründet (s. o.). Ausführlicher habe ich¹⁾ 1914 darauf hingewiesen, daß die Tuberkulinreaktion keine Antikörperreaktion im engeren Sinne sein kann. Auch Lewandowsky²⁾, der erst dieser Auffassung gewesen war (für die Tuberkuloseimmunität), hat ja auf Grund schöner experimenteller Untersuchungen festgestellt, daß sich „Lysine“ im Serum tuberkulöser, relativ immuner Tiere nicht mit Sicherheit nachweisen lassen und daß das Wesentliche in der Tuberkuloseimmunität — das gilt auch für das Zustandekommen der Tuberkulinreaktion bzw. der Tuberkulinüberempfindlichkeit — die Gewebs-(zelluläre)Immunität sei.

Ausdrücklich betonen möchte ich, worauf ja auch Selter hinweist, daß Tuberkuloseimmunität und Tuberkulinimmunität nicht miteinander verwechselt werden dürfen.

Erwiderung zu den Bemerkungen Zielers „Ueber das Wesen der Tuberkulinreaktion“.

Von Prof. H. Selter, Königsberg i. Pr.

Zieler hat in der Dtsch. med. Wochenschr. und der Zeitschrift f. Tuberk. ähnliche Bemerkungen wie die vorstehenden auf meine dort veröffentlichten Tuberkulosearbeiten erscheinen lassen. Da diese Arbeiten zusammenhängen, habe ich der Einfachheit halber nur in der Dtsch. med. Wochenschr., 1922, geantwortet, worauf ich hier verweise.

1) K. Zieler, Hauttuberkulose und Tuberkulide. Praktische Ergebn. der Haut- u. Geschlechtskr., Bd. 3, 1914.

2) F. Lewandowsky, Tuberkuloseimmunität und Tuberkulide. Arch. f. Dermat., Bd. 123, 1916.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel
(Vorstand: Prof. R. Doerr).]

Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion unter Berücksichtigung der Konkurrenz der Antigene.

Von **Martha Luginbühl.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Februar 1922.)

Vermengt man die Lösung eines spezifischen Eiweißantigens mit dem korrespondierenden präzipitierenden Immunsérum, so bildet sich bei Einhaltung bestimmter Bedingungen (absolute und relative Konzentration der Reaktionskomponenten, Elektrolytgehalt und Wasserstoffionenkonzentration des Reaktionsgemisches) ein flockiger, mit ausgesprochener Sedimentierungstendenz behafteter Niederschlag. Wir dürfen diesen Niederschlag (das Präzipitat) als das Reaktionsprodukt oder doch wenigstens als eines der Reaktionsprodukte betrachten, welche infolge der wechselseitigen Einwirkung von Präzipitinogen und Präzipitin *in vitro* entstehen, und können uns leicht überzeugen, daß er eine ganze Reihe von Eigenschaften besitzt, welche als wichtige versuchstechnische Vorzüge zu verwerten sind, wenn man beabsichtigt, auf experimentellem Wege in das Wesen des Reaktionsgeschehens einzudringen. Das Präzipitat läßt sich leicht und vollständig aus dem Reaktionsvolumen abscheiden, und nach erfolgter Trocknung wägen, man kann es dank seiner Irreversibilität in physiologischer Kochsalzlösung waschen und weitgehend von anhaftenden Spuren des Reaktionsgemisches befreien, es läßt sich sowohl in Emulsionsform bringen als auch relativ schonend durch schwache Konzentrationen von NaOH oder durch stärkere Lösungen der Salze seltener Erden (Doerr, Doerr und Berger) lösen; die klaren Lösungen vermag man dann wieder optisch (refraktometrisch oder interferometrisch) auszumessen und kann die gefundenen Werte zum optischen Defizit des Reaktionsgemisches (der überstehenden Flüssigkeiten) in Beziehung setzen (P. Hirsch, Langenstraß, Doerr, Doerr und Berger). Von diesen Möglichkeiten, die sich dem Experimentator zum Teile auto-

matisch anboten, hat man schon frühzeitig und unter Erzielung bedeutsamer Ergebnisse Gebrauch gemacht; es mag genügen, an dieser Stelle auf die Arbeiten von P. Th. Müller, von Dungern, E. P. Pick, Linossier und Lemoine, Leblanc, Camus, Moll, Wels und Chapman, Calmette und Massol, Lampl und Landsteiner, P. Hirsch, Doerr und anderen hinzuweisen.

Nur bei der Prüfung ihres immunologischen Verhaltens bereiteten die Präzipitate zunächst Schwierigkeiten. Ihr Gelzustand macht die Vornahme von Präzipitinreaktionen a limine unmöglich, und die mit ihnen aus Natronlauge oder Thorsulfat dargestellten Sole eignen sich hierzu ebensowenig, da die Anwesenheit des Dispersionsmittels die Niederschlagsbildung verhindert, und da die Elimination derselben (z. B. durch Dialyse oder Neutralisation) zum Status quo führt, d. h. das ursprüngliche Präzipitatgel mit allen seinen Eigenschaften unverändert ausflockt (Coca und Kosakai). Angesichts dieser Sachlage beschränkte man sich auf die immunologische Analyse des vom Präzipitat durch Zentrifugieren befreiten, flüssig gebliebenen Anteils der Reaktionsgemische oder — wie man sich gewöhnlich ausdrückt — der „überstehenden Flüssigkeiten“. Linossier und Lemoine stellten hierbei bekanntlich fest, daß sich zuweilen in den überstehenden Flüssigkeiten Spuren beider Reaktionskomponenten frei erhalten, indem sich neue Niederschläge bilden, wenn man von neuem Antigen oder auch präzipitierendes Immunserum hinzufügt. Dieses Phänomen wurde in sehr verschiedener Weise gedeutet. Manche Autoren vertraten die Ansicht, daß die Reaktion zwischen Präzipitinogen und Präzipitin unvollständig verlaufe, so daß eben Reste beider Komponenten unverbunden nebeneinander bestehen bleiben, wie das nach dem Massenwirkungsgesetz bei chemischen Reaktionen zwischen Substanzen mit schwachen gegenseitigen Affinitäten stets der Fall ist; andere suchten dagegen die Ursache in der komplexen Struktur der verwendeten antigenen Substrate und der mit solchen Substraten gewonnenen Immunsere. Dieser letzteren Gruppe schloß sich auch in neuerer Zeit R. Weil an; er wollte sich überzeugt haben, daß das Phänomen von Linossier und Lemoine nur unter der Voraussetzung zu beobachten sei, daß man als „Antigen“

artfremdes Serum benützt, welches de facto ein Gemenge mehrerer durch ihre Sonderspezifitäten unterscheidbarer Eiweißkörper (Euglobulin, Pseudoglobulin, Albumin) darstellt, denen ebenso viele differente Präzipitine entsprechen. Es ist klar und bedarf wohl keiner besonderen Erörterung, daß und wie unter solchen Verhältnissen die von Linossier und Lemoine beschriebene Erscheinung zustande kommen kann. Die Entscheidung über die Richtigkeit dieser Erklärung oder — präziser formuliert — darüber, ob sie auf alle derartigen Fälle paßt, kann jedoch offenbar erst gefällt werden, wenn die koexistierenden, unverbunden bleibenden, d. h. noch reaktionsfähigen Reste von Präzipitinogen und Präzipitin nicht mehr nachweisbar sind, sobald man das Experiment mit reinen, einheitlichen Eiweißantigenen ausführt. R. Weil glaubte in den letzten vor seinem Tode erschienenen Mitteilungen diesen Beweis einwandfrei erbracht zu haben; aber eine 1917 veröffentlichte Arbeit von Bayne-Jones lehrt, daß das Phänomen von Linossier und Lemoine doch auch zu konstatieren ist, wenn man zur Immunpräzipitation reines Edestin oder kristallisiertes Ovalbumin verwendet, eine Angabe, die Doerr und Berger auf Grund eigener, nicht publizierter Untersuchungen mit reinem Edestin bestätigen konnten. Immerhin scheint die Angelegenheit weiterer experimenteller Studien bedürftig, um die mit Rücksicht auf die sehr bestimmt lautenden gegenteiligen Aussagen von R. Weil erforderliche Sicherheit des Urteils zu erreichen.

Wie immer sich aber die definitiven Resultate gestalten werden, sie dürften kaum imstande sein, uns über den Punkt, der den Kern aller an die Immunpräzipitation anknüpfenden Fragen bildet, aufzuklären, über das Verhältnis, in dem Präzipitinogen und Präzipitin im Niederschlag zueinander stehen, nicht nur in quantitativer Hinsicht, sondern mit Rücksicht auf die reziproke qualitative Beeinflussung. Der Quantität nach kann ja seit Moll kein Zweifel existieren, daß die Hauptmasse des Präzipitates dem Immunserum entstammt; aber ob und inwieweit sich das Antigen beteiligt, bleibt ungewiß und wird auch durch die Versuche v. Dungerns mit dem Cuhaltigen Hämocyanin des Oktopusplasmas keineswegs eindeutig beantwortet, und ebensowenig ergeben sich Anhalts-

punkte über das Bestehen und die Natur qualitativer Modifikationen, welche Antigen- und Antikörperweiß durch ihr Eingehen in den Niederschlag erleiden. Daß die Veränderungen nicht sehr tiefgreifend sein dürften, konnte man allerdings aus den Beobachtungen schließen, welche P. Th. Müller bei der Präzipitation von Milch durch Laktoserum angestellt hatte; aus dem Laktopräzipitat ließen sich durch bestimmte Prozeduren (Behandlung mit verdünnten Säuren oder Alkalien, Kochen in physiologischer Kochsalzlösung) sowohl das Antigen (Kasein) als der Antikörper (das Laktopräzipitin) in anscheinend unverändertem, aktionsfähigem Zustande abdissoziieren. Aber die Laktopräzipitation darf nicht als Typus der Immunpräzipitationen gelten, da der Niederschlag fast ganz aus dem Antigen, aus Kasein, aufgebaut ist, so daß sich hier die quantitativen Verhältnisse, wie sie Moll ermitteln konnte, in das Gegenteil verkehren.

Daß Antikörper in wirksamer Form aus dem unwirksamen Antigen-Antikörperkomplex freigemacht werden können, lehrt mit Sicherheit z. B. die Abdissoziation von Normalbakteriolysinen durch Landsteiner und Jagic und die Abdissoziation von Immunbakteriolysinen durch Munter, sowie die mit neuer und anscheinend besonders vorteilhafter Methodik ausgeführte Dissoziation von Hämagglutinin durch Furuhata. Doch enthält die Tatsache der Dissoziation natürlich keine bestimmtere Direktive über die Art der Verbindung der Komponenten im nicht dissoziierten Reaktionsprodukt.

Es war daher ein methodologischer Fortschritt, als es Doerr und Moldovan 1910 unternahmen, die anaphylaktischen Funktionen der Eiweißantigene zur Analyse der Immunpräzipitation heranzuziehen; dadurch wurde der Nachweis der spezifischen Antigene von den Bedingungen der Immunpräzipitation unabhängig, und bei der Feinheit anaphylaktischer Reaktionen selbst dann noch ermöglicht, wenn die absoluten Mengen resp. die Konzentration auf ein relativ niedriges Niveau absanken. Außerdem gestattet der anaphylaktische Reihenversuch mit abgestuften Dosen exaktere quantitative Bestimmungen als die Präzipitation im Reagenzglas, bei welcher die Festsetzung der Grenze des positiven Reaktionsausfalles stets bis zu einem gewissen Grade willkürlich bleibt.

Doerr und Moldovan gingen in folgender Weise vor. Sie versetzten fallende Konzentrationen von Rinderserum mit Antirinderserum vom Kaninchen, ließen die Präzipitation ablaufen (6 Stunden bei 37° C) und brachten dann die Reaktionsgemische auf die Zentrifuge; die überstehenden Flüssigkeiten wurden abpipettiert, die Präzipitate in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in der gleichen Flüssigkeit suspendiert, die ersten und zweiten Waschwässer aufgehoben und mit jedem der beiden Anteile des Reaktionsgemisches sowie mit den beiden Waschwässern Meerschweinchen subkutan vorbehandelt. Nach 18 resp. 19 Tagen wurden die sensibilisierten Tiere durch intravenöse Reinjektion auf ihre Ueberempfindlichkeit geprüft und zwar 1) gegen Rinderserum; 2) gegen Kaninchenserum. Es zeigte sich, daß alle Meerschweinchen gegen Kanincheneiweiß anaphylaktisch waren, mit alleiniger Ausnahme der Exemplare, welche die zweiten Waschwässer erhalten hatten; das spezifische Eiweiß des Immunserums, an welches das Präzipitin gekettet ist, wurde also anscheinend durch die Präzipitation nicht alteriert. Da auch die Präzipitate sensibilisierendes Kanincheneiweiß in bedeutenden Mengen enthielten, folgerten Doerr und Moldovan erstens, daß hauptsächlich das Immunserum mit seinen Proteinbeständen in die Niederschlagbildung eingeht (was schon anderweitig gesichert war), zweitens aber, daß die präzipitierende Fähigkeit der Immunsere und die artspezifische Antigenfunktion zwar Eigenschaften derselben Eiweißkörper zu sein scheinen, daß sie aber doch voneinander unabhängig sind. Dieser Schluß ist insofern anfechtbar, als das Experiment nur über das Intaktbleiben des artspezifischen Kanincheneiweißes belehrt, über das Verschwinden des daran haftenden Präzipitins dagegen keine Auskunft erteilt; Doerr und Moldovan waren offenbar der Ansicht, daß dieser Präzipitinverbrauch durch keine besondere Versuchsanordnung gestützt werden muß, da er als selbstverständliche Konsequenz aus ihren sonstigen, weiter unten zu diskutierenden Ergebnissen erfließt. Wenn bei der Flockungsreaktion zwischen Rindereiweiß und Antirinderserum das erstere verschwindet, d. h. wenn seine Antigenfunktion nicht mehr nachzuweisen ist, so muß diesem Vorgang nach den Fundamenten der Immunitätslehre ein Schwund des zu-

gehörigen Antikörpers als notwendiges Korrelat entsprechen. Indes konnte es nur nützlich sein, die hier vorhandene Lücke der experimentellen Tatbestände auszufüllen; das ist in neuerer Zeit auch durch R. Weil sowie durch Coca und Kosakai geschehen, indem sie untersuchten, ob man mit gewaschenen Präzipitaten passiv präparieren kann, um auf diese Art das in den Niederschlägen enthaltene aktionsfähige Präzipitin als sogenannten „anaphylaktischen Antikörper“ in Erscheinung treten zu lassen. Weil erzielte neben vereinzelt negativen vorwiegend positive Resultate, aber Coca und Kosakai, die mit spezifischen Niederschlägen aus kristallisiertem Eierweiß und zugehörigem Präzipitin vom Kaninchen arbeiteten, hatten trotz mannigfacher Variation der verwendeten Antigenquantitäten fast ausschließlich negative Ergebnisse zu registrieren. Coca und Kosakai bezeichnen daher das Fehlen von freiem anaphylaktischen Antikörper (gleich Präzipitin) im Niederschlag als die Regel und messen diesen negativen Befunden ausschlaggebende Bedeutung zu, speziell mit Rücksicht auf den Umstand, daß eben der Niederschlag vorwiegend aus dem Immunserum herrührt, und daß sie das letztere bei ihren Versuchen in großen Mengen (10–15 sensibilisierende Minimaldosen) anwendeten. Diesen Ausführungen darf man wohl beipflichten; Doerr und Berger konnten die Angaben von Coca und Kosakai insofern bestätigen, als gewaschene, aus großen Mengen kräftig präparierender Antisera erhaltene Immunpräzipitate in einer Anzahl von Fällen keine passive Ueberempfindlichkeit erzeugten, obwohl sie große Massen repräsentierten und in Anbetracht der gewählten quantitativen Verhältnisse vorwiegend aus dem Immunserumeiweiß entstanden sein mußten. So scheint also der erste Teil der Behauptung von Doerr und Moldovan richtig, daß nämlich die spezifischen Präzipitate zwar das Eiweiß des Immunserums in solchem Zustande enthalten, daß es seine ursprüngliche Antigenfunktion zu entfalten vermag, daß aber der an diesem Eiweiß haftende Antikörper (das Präzipitin oder der anaphylaktische Antikörper) schwindet oder doch seine Nachweisbarkeit einbüßt. Doerr und Moldovan gelangten jedoch mit Hilfe der oben genannten Versuchsanordnung noch zu einer anderen Erkenntnis. Keines der mit überstehenden Flüssigkeiten, mit

gewaschenen Präzipitaten oder auch mit den Waschwässern subkutan vorbehandelten Meerschweinchen war nach 18 Tagen gegen Rinderserum aktiv anaphylaktisch, vorausgesetzt, daß man letzteres in einer der verwendeten Immunsorumquantität entsprechenden Menge zum Reaktionsgemisch zugesetzt hatte. Es gelang auf diese Weise, 0,001 bis 0,1 ccm antigenes Rinderserum (Präzipitinogen oder anaphylaktisches Antigen) zum Verschwinden zu bringen oder richtiger seiner Nachweisbarkeit mit Hilfe der Antigenfunktion zu berauben. In dieser Fassung bedeutet die Aussage lediglich eine Umschreibung des Versuchsergebnisses und gibt zu besonderen Bedenken keinen Anlaß. Doerr und Moldovan kommentierten aber die Beobachtung dahin, daß die spezifische Antigenfunktion des Rindereiweißes durch die Verbindung desselben mit dem Antikörper (dem Präzipitin gleich anaphylaktischen Antikörper) ausgelöscht worden sei. Für das Zutreffen dieser Erklärung fehlen einzelne Garantien:

Revidiert man nämlich die Protokolle von Doerr und Moldovan, so stellt sich heraus, daß sie den Meerschweinchen in Form von Präzipitaten oder überstehenden Flüssigkeiten Gemenge injizierten, welche im eingespritzten Volumen 0,1 bis 0,001 ccm Rinderserum neben 0,1 ccm Kaninchenserum enthalten konnten. Die Konzentration resp. die absolute Menge des Kaninchensersums konnte also entweder jener des Rinderserums gleichen oder letztere um das 40- bis 100-fache übertreffen. Im letztgenannten Falle war die „Konkurrenz der Antigene“ zu erwarten, die zuerst Benjamin und Witzinger als Gesetz erkannt hatten und die in der Folge von verschiedenen Autoren (R. Weil, Julian Lewis, Coca und Kosaka i) bestätigt wurde¹⁾. Man versteht darunter die Tatsache, daß die sensibilisierende Wirkung kleiner Dosen eines spezifischen Eiweißantigens ausbleibt oder erheblich abgeschwächt wird, wenn man vorher, gleichzeitig oder kurze Zeit später große Quantitäten eines anderen Eiweißantigens einverleibt. Hinsichtlich der möglichen Erklärungsversuche kann auf das kürzlich erschienene Sammelreferat über Anaphylaxie

1) Schon vor Benjamin und Witzinger haben verschiedene Autoren (u. a. auch Friedberger) eine ähnliche gegenseitige Beeinflussung der Antigene bei der Agglutininbildung und bei der Produktion bakteriolytischer Antikörper beschrieben.

(Doerr, Weichardts Ergebnisse, Bd. 5) hingewiesen werden; sie sind für die vorliegenden Betrachtungen irrelevant, und nur die Tatsache an sich verlangt bei der Ausführung von „Analysendes Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion“ spezielle Berücksichtigung, wenn man über die Ursachen des Verschwindens von Antigen aus dem Reaktionsvolumen ins klare kommen, wenn man eruieren will, ob dieses Verschwinden nicht nur scheinbar und durch die Konkurrenz der Antigene vorgetäuscht ist.

Um dieser Forderung Genüge zu leisten, wurden zwei Wege gewählt:

1) Neben dem Hauptversuch wurde ein Kontrollversuch angesetzt, in vollständig gleicher Anordnung, nur mit der Ausnahme, daß das Antigen nicht mit Immunserum vom Kaninchen, sondern mit Normalserum vom gleichen Tiere vermischt wurde. Wie die Durchsicht des wiedergegebenen Protokolles von Versuch I ergibt, wurden also zwei Gemenge angesetzt:

- A. 10 ccm Menschenserum (1:200) und 8 ccm NaCl und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen;
- B. 10 ccm Menschenserum (1:200) und 8 ccm NaCl und 2 ccm Normalkaninchen Serum.

Der Eintritt der Präzipitation bei A wurde abgewartet, und nun wurden zwei Serien von Meerschweinchen mit fallenden Dosen der Gemenge subkutan vorbehandelt. Auf eine Trennung des Gemenges A in Niederschlag, überstehende Flüssigkeit und Waschwasser mußte selbstverständlich verzichtet werden, da sonst der quantitative Vergleich mit B unmöglich geworden wäre; darin lag zweifellos ein Nachteil, da man zugestehen muß, daß es zu einer Absättigung von freiem Antigen des Präzipitates durch unverbunden gebliebenen Antikörper der überstehenden Flüssigkeit im injizierten Meerschweinchen kommen konnte, ein Prozeß, der geeignet gewesen wäre, die Existenz von freiem Niederschlagantigen zu maskieren. Diesen Nachteil suchten wir durch die zweite Methode zu kompensieren.

2) Es wurden nämlich Reaktionsgemische von Präzipitinogen und Präzipitin angesetzt, die Präzipitate abzentrifugiert und gewaschen und der Gehalt an freiem Antigen in den Präzipitaten wie in den überstehenden Flüssigkeiten durch Austitrieren der shockauslösenden Wirkung bei spezifisch

vorbehandelten (passiv präparierten) Meerschweinchen bestimmt. Da sich diese Tiere in einem so hochgradigen anaphylaktischen Zustande befanden, daß sie schon durch intravenöse Reinjektion von 0,002 ccm des antigenen Serums (0,001 pro 100 g Körpergewicht) getötet wurden, so war die Messung hinsichtlich der Empfindlichkeit der Auswertung der Titration der sensibilisierenden Funktion weitgehend angenähert. Die Konkurrenz der Antigene spielte bei der Feststellung von shockauslösendem Antigen keine Rolle; das war nicht nur von vornherein anzunehmen, sondern wurde auch nachträglich durch das Versuchsergebnis sichergestellt¹⁾. Wir lassen nun zunächst die Protokolle dieser beiden Experimente folgen.

Versuch I.

Verbrauch von Antigen (Menschenserum) bei der Immunpräzipitation. Es werden Meerschweinchen mit folgenden Gemengen präpariert:

- A. Mit einem Gemenge von Menschenserum und Antimenschenserum vom Kaninchen.
- B. Mit einem Gemenge von Menschenserum und Normalserum vom Kaninchen (Kontrollversuch zu A).

Nach 21 Tagen wurde die durch obige Präparierung erzielte Ueberempfindlichkeit gegen Menschenserum und am Tage darauf die Ueberempfindlichkeit gegen Kaninchenserum geprüft.

A.

Es wurden 7 Meerschweinchen mit folgendem Gemenge präpariert: 10 ccm Menschenserum 1:200 und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen (Serum G 43) und 8 ccm NaCl 0,85-proz.

| Präparierung | | | Reinjektionen | | | |
|---------------------|--------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--|--------------------------------------|---------------|
| Ge- menge ccm | Darin enthalten | | Mensch.- Serum am 21.Tag ccm | Symptome | Kanin.- Serum am 22.Tag ccm | Symptome |
| | Mensch.- Serum ccm | Kan.- Immun.- Serum ccm | | | | |
| 2 | 0,005 | 0,2 | 0,2 | m. s. S. Dyspnoë Juckreiz Somnolenz | 0,4 | tot in 3 Min. |
| 2 | 0,005 | 0,2 | 0,2 | l. S. Dyspnoë | — | — |
| 0,2 | 0,0005 | 0,02 | 0,4 | 0 | 0,4 | tot in 3 Min. |
| 0,2 | 0,0005 | 0,02 | 0,4 | f. 0 | — | — |
| 0,008 | 0,00002 | 0,0008 | — | — | 0,1 | tot in 3 Min. |
| 0,0016 | 0,000004 | 0,00016 | — | — | 0,4 | dgl. |
| 0,0016 | 0,000004 | 0,00016 | — | — | 0,4 | „ |

1) Uebrigens haben auch spezielle Nachprüfungen dieser Frage durch J. Lewis ein eindeutig negatives Resultat geliefert.

B.

Es wurden 9 Meerschweinchen mit folgendem Gemenge präpariert:
10 ccm Menschenserum 1:200 und 2 ccm Normalserum vom Kaninchen
und 8 ccm NaCl 0,85-proz.

| Ge- menge ccm | Präparierung | | Reinjektionen | | | |
|---------------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------|
| | Darin enthalten | | Mensch.- Serum am 21.Tag ccm | Symptome | Kanin.- Serum am 22.Tag ccm | Symptome |
| | Mensch.- Serum ccm | Kanin.- Normal- Serum ccm | | | | |
| 2 | 0,005 | 0,2 | 0,2 | tot in 3 Min. | — | — |
| 2 | 0,005 | 0,2 | 0,1 | m. s. S., taumelt, über- lebt | 0,4 | tot in 3 Min. |
| 0,2 | 0,0005 | 0,02 | 0,4 | tot in 8 Min. | — | — |
| 0,2 | 0,0005 | 0,02 | 0,1 | l. S., überlebt | 0,4 | tot in 3 Min. |
| 0,04 | 0,0001 | 0,004 | 0,4 | fast 0 | — | — |
| 0,04 | 0,0001 | 0,004 | 0,4 | l. S., überlebt | 0,4 | tot in 3 Min. |
| 0,008 | 0,00002 | 0,0008 | — | — | 0,4 | dgl. |
| 0,008 | 0,00002 | 0,0008 | — | — | 0,4 | tot in 4 Min. |
| 0,0016 | 0,000004 | 0,00016 | — | — | 0,4 | 0 |

Versuch II.

„Verbrauch“ von Antigen (Menschenserum) bei der Immunpräzipitation.
Bestimmung des Antigens als shockauslösende Substanz und zwar so-
wohl in der überstehenden Flüssigkeit als auch im Präzipitat.

Es wurden Meerschweinchen mit 0,4 ccm Antimenschenserum vom
Kaninchen (Serum G 31) passiv präpariert. Nach 24 Stunden wurde an
den passiv präparierten Tieren die Dosis letalis minima für Menschenserum
titriert, und damit das Shockauslösungsvermögen der überstehenden
Flüssigkeit und des Präzipitates einer Immunpräzipitation verglichen. Die
Immunpräzipitation wurde sowohl bei einer Antigenkonzentration von 1:10
wie auch bei einer Antigenkonzentration von 1:100 angesetzt.

A. Reinjektion von Menschenserum.

| Gewicht des Tieres | Menschenserum | Serum pro 100 g | Symptome |
|-----------------------|---------------|--------------------|---------------------------------------|
| 185 g | 0,05 ccm | 0,027 ccm | tot in 3 Min. |
| 285 g | 0,02 | 0,007 | " " 3 " |
| 170 g | 0,01 | 0,0058 | " " 4 " |
| 198 g | 0,004 | 0,002 | " " 4 " |
| 190 g | 0,002 | 0,001 | " " 4 " |
| 198 g | 0,001 | 0,0005 | m. s. S., fällt nicht um, überlebt |

B. Reinjektion der überstehenden Flüssigkeit und des Präzipitates einer Immunpräzipitation bei Antigenkonzentration 1:20.

Es werden vermengt: 10 ccm Menschenserum 1:10 und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen (Serum G 45) und 8 ccm NaCl 0,85-proz. Nach erfolgter Präzipitation wird der Niederschlag abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abgehebert. Das Präzipitat wird im ursprünglichen Reaktionsvolum, also in 20 ccm NaCl 0,85-proz. aufgeschwemmt.

Reinjektion der überstehenden Flüssigkeit.

| Gewicht des Tieres | Injektionsvolum, entsprechend einem Menschenserumvolum von | Menschenserum pro 100 g | Symptome |
|--------------------|--|-------------------------|---|
| 160 g | 0,002 ccm | 0,0012 ccm | sehr schwere S., agonal m. s. S. Krämpfe, fällt aber nicht um |
| 230 „ | 0,002 „ | 0,00087 „ | |

Reinjektion der Präzipitataufschwemmung.

| | Injektionsvolum | | |
|-------|-----------------|---|---|
| 245 g | 3 ccm | . | 0 |
| 245 „ | 1 „ | . | 0 |

C. Reinjektion a) der überstehenden Flüssigkeit und b) des Präzipitates einer Immunpräzipitation bei Antigenkonzentration 1:200.

Es werden vermengt: 10 ccm Menschenserum 1:100 und 2 ccm Antimenschenserum vom Kaninchen (Serum G 45) und 8 ccm NaCl 0,85-proz. Im übrigen wird wie bei B verfahren.

a) Reinjektion der überstehenden Flüssigkeit.

| Gewicht des Tieres | Injektionsvolum, entsprechend einem Menschenserumvolum von | Menschenserum pro 100 g | Symptome |
|--------------------|--|-------------------------|-----------------------------|
| 210 g | 0,01 ccm | 0,0017 ccm | tot in 3 Minuten |
| 218 „ | 0,008 „ | 0,0037 „ | m. schw. S., fällt nicht um |
| 250 „ | 0,006 „ | 0,0024 „ | leichte Symptome |
| 205 „ | 0,004 „ | 0,002 „ | „ 0 „ |
| 200 „ | 0,002 „ | 0,001 „ | „ 0 „ |

b) Reinjektion der Präzipitataufschwemmung.

| | Injektionsvolum | | |
|-------|-----------------|---|--------|
| 220 g | 3 ccm | . | fast 0 |

Aus dem ersten Versuch geht hervor: 1) daß in einem Gemenge von 10 ccm zweihundertfach verdünnten Menschen-serums mit 10 ccm fünffach verdünntem Kaninchenantiserum ungefähr $\frac{4}{5}$ der erstgenannten Reaktionskomponente, also des Menschenserums verschwinden. Die Präzipitation ging in der Tat mit einem Unwirksamwerden bedeutender Mengen von Antigen (bestimmt als Sensibilisinogen) einher. Das Kontrollexperiment schaltet die Annahme einer Konkurrenz der Antigene als Ursache des Antigenverbrauches aus. 2) daß die sensibilisierende Kraft des Kaninchenimmunerums stärker war als die des Kaninchennormalserums, nämlich 0,00016 ccm gegen 0,0008 ccm. Diese auffallende Erscheinung haben Doerr und Berger an anderer Stelle ausführlich erörtert und in befriedigender Weise gedeutet; sie hat mit dem hier behandelten Gegenstand nichts zu tun.

Der zweite Versuch illustriert den Verbrauch von Antigen (gemessen als shockauslösende Substanz) in der überstehenden Flüssigkeit nach Ablauf einer Immunpräzipitation. Die Größe der Verminderung hängt anscheinend von dem verwendeten Antigenquantum, d. h. von der Antigenkonzentration ab. Rechnet man die im Reaktionsvolum vorhanden gewesene Menge für das Gemisch B aus, so beträgt dieselbe 1000 letale Dosen pro 100 g Meerschweinchen, und für das Gemisch C beträgt sie 100 letale Dosen. Obwohl nun die Präzipitinmenge dieselbe war, blieben nach eingetretener Flockung bei Gemisch B (Konzentration 1:20) 833 bis 769 letale Dosen in der überstehenden Flüssigkeit nachweisbar, bei Gemisch C jedoch nur 21 letale Dosen. Der Verlust betrug sonach im ersten Falle 167 bis 231 letale Dosen, im zweiten Falle 79 letale Dosen. Es gehen also sehr verschiedene Antigenmengen in die Präzipitatbildung ein, je nach der Antigenkonzentration, mit welcher die Präzipitation angesetzt wurde. In den Präzipitaten waren diese Mengen, obwohl sie an sich als beträchtlich bezeichnet werden müssen, nicht nachweisbar. Die eingespritzten Präzipitatanteile hätten 60 bzw. 10 tödliche Antigen-dosen enthalten sollen, hatten aber auf das präparierte Meerschweinchen keine Wirkung.

Zusammenfassung.

Damit erscheinen die Resultate, welche Doerr und Moldovan seinerzeit bei der Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion erzielten, gestützt. Im Präzipitat sind Präzipitinogen und Präzipitin derart miteinander verbunden, daß sie keine antigene (anaphylaktogene) Wirkung entfalten können. Der Eiweißkörper des Immunserums, der als Träger des Präzipitins fungiert, bleibt dabei völlig intakt.

Literatur.

- Bayne-Jones, Journ. of exp. Med., Vol. 25, 1917, p. 837.
Benjamin und Witzinger, Zeitschr. f. Kinderheilk., Bd. 2 u. 3, 1911.
Bordet, Traité de l'Immunité, Paris 1920.
Brack, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, p. 407.
Coca and Kosakai, Studies in anaphylaxis. Journ. of Immunol., Vol. 5, 1920, p. 297.
Doerr, Kolloid-Zeitschr., Bd. 27, 1920, Heft 6.
— und Berger, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 93, Heft 1.
— und Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, Heft 2 u. 3.
v. Dungern, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903.
Fleischmann und Michaelis, Zeitschr. f. exp. Pathol., Bd. 1, 1905.
— — Fortschritte der Medizin, Bd. 22, p. 1257.
Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., 1904, No. 10.
Furuhata, Tanemoto, Japon medical World, Vol. 1, 1921, p. 1.
Hirsch, Immunochem. Studien. Fermentforsch., Bd. 2, 1918, p. 269 u. 290.
Lampl und Landsteiner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 26, 1917.
Langenstraß, Zeitschr. f. Fermentforsch., Bd. 3, 1920, Heft 1.
Leblanc, La Cellule, T. 18, 1901, p. 337.
Lewis, Journ. of infect. Diseases, Vol. 17, 1915, p. 421.
Linossier et Lemoine, Compt. rend. Soc. biol., 1902, Livr. 85.
Michaelis, Handb. der Biochemie, Bd. 2, p. 552.
Moll, Hofm. Beiträge, Bd. 4, 1905.
Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr., Bd. 49, 1902, p. 1330.
Munter, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 94, 1921, p. 152.
Pick, E. P., Hofm. Beiträge, Bd. 1.
Weil, R., Journ. of Immunol., Vol. 1, 1916, p. 19.
— und Coca, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., 1913.
Welsh und Chapman, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, Heft 4.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

Ueber den Rezeptorenapparat der X- und Z-Bazillen.

Von Prof. Dr. E. Friedberger, Dr. Werner Zorn
und Dr. Gertrud Meißner¹⁾.

Mit 41 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Dezember 1921.)

Disposition: A. Einleitung S. 259. — B. Wiederholung der Ab-
sättigungsversuche von Friedberger, Kreuzer, Neukirch unter Berück-
sichtigung von O- und H-Form des X 19-Bazillus S. 266. — C. Der
Rezeptorenapparat des Z₁-Bazillus nach Versuchen mit agglutinierendem
Kaninchenserum S. 275. — D. Das Verhalten der agglutinierenden Sera
anderer Tierspezies, insbesondere des Huhnes gegenüber X 19- und Z₁-
Bazillen S. 283. a) Bildungsversuche S. 283. 1. Versuche am Meer-
schweinchen S. 285. 2. Versuche an Hühnern S. 286. b) Bindungs-
versuche S. 290. α) Bindungsversuche mit dem HX 19-Immunsrum vom
Huhn S. 291. β) Bindungsversuche mit OX 19-Immunsrum vom Huhn
S. 293. γ) Bindungsversuche mit Z₁-Immunsrum vom Huhn S. 296.
δ) Bindungsversuche mit HX 2-Immunsrum vom Huhn S. 299. —
E. Zusammenfassung S. 302.

A. Einleitung.

In einer früheren Arbeit²⁾ sind im Zusammenhange bereits
alle die Argumente widerlegt worden, die bis zur Mitte des
vorigen Jahres (1920) gegen die Identität des X 19-Bazillus
mit dem Fleckfiebererreger ins Feld geführt wurden. Hier
wurde auf die Tatsache hingewiesen, daß Unterschiede zwischen
einem OX 19-Kaninchenimmunsrum und einem Fleckfieber-
Patientensrum bezüglich der Hitzeresistenz und des sonstigen
Verhaltens der Agglutinine nicht bestehen. Durch die in-
zwischen aus unserem Institut veröffentlichten Untersuchungen
von Büchner und Zorn³⁾ ist in Fortführung dieser Befunde
dargetan worden, daß Fleckfieber-Patientensrum noch in

1) Die Ergebnisse sind kurz vorgetragen in der Sitzung der Berliner
Mikrobiol. Gesellschaft am 14. Nov. 1921.

2) Friedberger und Schröder, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*,
Bd. 31, 1921, Heft 4/5.

3) Büchner und Zorn, ebenda, Bd. 33, 1921, Heft 2.

weiterer Beziehung nicht nur dem OX 19-Kaninchenimmuns-
serum, sondern auch in allen Punkten dem Fleckfieber-
virus-Kaninchenimmuns-
serum entspricht. Diese drei nach
unseren bisherigen Kenntnissen völlig identischen Antisera
unterscheiden sich grundsätzlich von dem HX 19-Kanin-
chenimmuns-
serum¹⁾, sind aber unter sich, soweit wir das mit
den heutigen Methoden feststellen können, absolut identisch.
Die völlige Übereinstimmung des Fleckfieberkranken-, Ka-
ninchenvirus- und OX 19-Kaninchenimmuns-
serum läßt sich nur
so erklären, daß im Fleckfieberkranken ebenso wie im Passage-
virus OX 19-Antigen vorhanden ist, was, wie Büchner und
Zorn mit Recht hervorheben, als eine weitere Stütze der
Ansicht von Friedberger zu betrachten ist, der dem Ba-
zillus OX 19 von Weil-Felix ätiologische Bedeutung für das
Fleckfieber zuspricht.

Gegenüber diesem völlig einheitlichen Verhalten zwischen
OX 19, Fleckfiebervirus und Passagevirus in serologischer
Beziehung steht das gänzlich abweichende Verhalten der
„*Rickettia Provazeki*“. Nach Rocha-Lima²⁾, Otto und
Dietrich³⁾ erzeugt sie beim Kaninchen kein Agglutinin
gegen X 19⁴⁾. Dagegen erzeugt die *Rickettia* nach Otto ein

1) Wir bezeichnen hier und im weiteren das gewöhnliche X 19-Immuns-
serum im Gegensatz zu dem reinen O-Serum und zur klareren Unter-
scheidung von diesem als „H“-Serum, wobei wir uns natürlich dessen be-
wußt bleiben, daß es sowohl O- wie H-Agglutinine enthält. Sinngemäß
sprechen wir ja auch von einer H-Form des X 19-Bazillus, die bekanntlich
H- und O-Gruppen enthält.

2) Rocha-Lima, Erg. d. allg. Pathol. u. pathat. Anatomie, 19. Jahrg.,
1. Abt. 1919.

3) Otto und Dietrich, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 19.

4) Dietrich hat in der Diskussion zu dem Vortrag Fried-
berger und Schiff (Berl. Mikrobiol. Gesellsch., Sitzung vom 11. April
1921, s. Berl. klin. Wochenschr., No. 13, 49) darauf hingewiesen, daß in
einem Fall ein von Otto und ihm mit *Rickettien* immunisiertes Kaninchen
eine Agglutination für Weil-Felix 1:50 gezeigt habe, und daß die damalige
Angabe der Autoren, die Reaktion verlaufe nach Einspritzung von
Rickettien negativ, dadurch zu erklären sei, daß stärkere Serumkonzen-
trationen nicht angesetzt worden sind. Wir wollen ganz davon absehen,
daß auch mit Läusen, die OX 19-Bazillen aufgenommen haben, eine echte
positive Reaktion für X 19 eintreten könnte; tatsächlich aber befindet sich
Dietrich auch bezüglich der Angaben aus seiner eigenen Arbeit mit
Otto in einem Irrtum, denn es wurde von 3 Kaninchen nur bei einem

Agglutinin gegen sich selbst. Da beim Fleckfieber stets ein Agglutinin gegen X 19 erzielt wird, so gehört zum Fleckfiebererreger ein Etwas, was dieses wohlcharakterisierte OX 19-Agglutinin erzeugt, und zunächst nichts, was dieses nicht tut (*Rickettia*), genau so etwa wie zum Tuberkuloseerreger nach der Definition von Cohnheim gegenüber Virchow „alles gehört, was die Krankheit erzeugt und nichts, was sie nicht erzeugt“.

Das OX 19-Agglutinin aber wird, wie wir auf Grund unserer Untersuchungen wissen, lediglich hervorgerufen durch die Fleckfieberinfektion, den OX 19-Bazillus und das Passagevirus. Zwischen ihnen muß also eine ätiologische Beziehung bestehen. Welche Entwicklungsform des Bazillus im übrigen das Virus der menschlichen Infektion und der Tierpassage im Organismus darstellt, entzieht sich bisher unserer Kenntnis. Die schwere Züchtbarkeit des OX 19 aus dem menschlichen Körper und die bisherige Unmöglichkeit, aus mit Virus infizierten Tieren den Bazillus zu erhalten, sprechen für erhebliche Abweichungen dieser „tierischen Form“, trotz der, soweit wir bis heute wissen, vollkommenen Identität der antigenen Gruppen.

Die Uebereinstimmung zwischen OX 19-Immunserum, Patienten- und Virusserum ist nicht die einzige Tatsache geblieben, durch die die Einwände gegen die ätiologische Bedeutung des OX 19 erschüttert worden sind. In den schon erwähnten Untersuchungen von Friedberger und Schröder ist weiterhin dargetan worden, daß auch die durch das Fleckfiebervirus hervorgerufenen charakteristischen Veränderungen im Gehirn der Passagetierte durch den X 19-Bazillus in analoger Weise erzielt werden können.

„Für die rein histologische Betrachtung liegt die weitgehende Uebereinstimmung, wenn nicht die Identität der geweblichen Veränderungen, sowohl was die Herdchen als was das histologische Gesamtbild der Rinde und des tieferen Graues anbelangt, auf der Hand. Soweit die Histopathologie für derartige Urteile überhaupt zuständig ist, wird deshalb

in der Verdünnung nur von 1:50 eine „fragliche“ Reaktion für Weil-Felix festgestellt, bei den zwei anderen überhaupt keine. Deswegen dürfte also bis auf weiteres entgegen den Diskussionsbemerkungen von Dietrich die Angabe von Otto und Dietrich zu Recht bestehen, daß die Behandlung von Kaninchen mit rickettienhaltigem Material kein Agglutinin für X 19 ergibt.

auf Grund der bisherigen Feststellungen die Annahme berechtigt erscheinen müssen, daß es sich bei den Hirnveränderungen nach Impfung mit Weil-Felix-Bazillen, wie sie Friedberger ausgeführt hat, und bei denen nach experimentellen und menschlichen Fleckfiebererkrankungen um ganz nahverwandte Prozesse, oder um denselben Prozeß unter irgendwelchen abgeänderten Bedingungen handelt“ (Schröder)¹⁾.

Gewisse graduelle Unterschiede bestanden noch insofern, als die Herdchen mit Proteus an Zahl geringer, etwas größer waren und teilweise Bazillen bzw. kugelige Gebilde enthielten, die mit Bakterien nur eine sehr entfernte Ähnlichkeit haben, und, diese Annahme erscheint ja naheliegend, vielleicht der besonderen „tierischen Virusform“ des Bazillus im Körper angehören. Untersucht man aber die Gehirne von Meerschweinchen, die gleichzeitig mit X 19-Bazillen Immenserum erhalten haben, so fallen auch diese graduellen Unterschiede mehr und mehr weg, vor allem sind dann die Herdchen bazillenfremd und differieren auch in Häufigkeit und Größe nicht mehr so sehr von den Ottoschen Virusknötchen.

Kuczynski²⁾ hat allerdings betont, „daß die von Friedberger-Schröder beschriebenen Infiltrate im Hirn Proteus-geimpfter Tiere mit echten encephalitischen Fleckfieberherden nichts zu tun haben, wie übrigens bereits auf der letzteren mikrobiologischen Tagung 1920 von Wolff hervorgehoben wurde.“

Doch muß demgegenüber darauf hingewiesen werden, daß weder er noch sein von ihm zitierter Mitarbeiter Wolf bis dahin unsere Originalpräparate jemals gesehen hatten. Jedenfalls hat Kuczynski gelegentlich einer Demonstration (Sitzung vom 12. XII. 1921) in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft Virus- und X 19-Knötchen nicht voneinander zu unterscheiden vermocht. Er hat das dann mit einer Abblässung der betreffenden Präparate begründet, ein Argument, das nicht zutrifft, denn es handelt sich nach den nachherigen übereinstimmenden Aussagen namhafter Pathologen (W. Groß, Pick) um vollkommen einwandfrei gefärbte Nisslpräparate³⁾. (S. Sitzung der Berl. Mikrobiol. Ges. vom 9. I. 1922.)

Ein weiteres Argument gegen die ätiologische Bedeutung des X 19 als Fleckfiebererreger liegt in der Behauptung zahl-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, 1921.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 51, p. 1492.

3) Vielleicht liegt die irrige Annahme einer ungenügenden Färbung daran, daß Kuczynski mit Nisslpräparaten weniger vertraut ist.

reicher Autoren, daß eine kreuzweise Immunität zwischen X 19- und Fleckfieberinfektion nicht besteht. Auch dieses Argument konnte durch die Untersuchungen von Friedberger und Schiff¹⁾ widerlegt werden. Durch die Vorbehandlung von Meerschweinchen mit Fleckfieberserum oder Fleckfieberimmenserum wird eine beträchtliche (aktive oder passive) Immunität gegenüber dem X 19 erzielt.

Ein Beweis gegen die Identität des Fleckfieberserum mit der O-Form des X 19 besteht zurzeit also nicht mehr. Sie ist experimentell als abgeschlossen zu betrachten, sobald es gelingt, mit dem Gehirn des fleckfieberkranken Meerschweinchens nicht nur einen Schutz gegen X 19 zu erzielen, sondern auch diesen Bazillus regelmäßig aus dem Körper der Passagetierte zu züchten. Diese Forderung dürfte allerdings nicht ganz leicht zu erfüllen sein, da offenbar, wie schon erwähnt, die im infizierten Organismus vorkommende „tierische Form“ des Erregers in ihrem Verhalten von der Form, die wir als Kulturbazillus kennen, abweicht. Bail²⁾, der in einer seiner jüngsten interessanten Arbeiten unserer Ansicht über die Erregerart des X 19 beipflichtet³⁾, nimmt auf Grund seiner Studien über das d'Herellesche Phänomen an, daß der Bazillus im infizierten Organismus als eine „Splitterform“ vorhanden ist.

Es besteht nun in der Literatur über die Fleckfieberätiologie noch eine weitere Unklarheit. Das ist das merkwürdige Verhalten eines von Neukirch⁴⁾ aus dem Stuhl

1) Friedberger und Schiff, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 13.

2) Bail, Wiener klin. Wochenschr., 1921, No. 20.

3) Mit staunenswerter Selbstsicherheit schreibt demgegenüber in den offiziellen „Veröffentlichungen aus dem Gebiet der Medizinalverwaltung“ (Berlin, Richard Schoetz), Bd. 14, 1921, Heft 1, p. 32 ein Regierungs- und Medizinalrat Dr. Willführ, Liegnitz, der „Das Fleckfieber im Regierungsbezirk Potsdam 1918/19“ nach amtlichem Material bearbeitet hat: „Als sicher kann gelten, daß X 19 nicht der gesuchte Fleckfiebererreger sein kann, wenn auch ein abseits stehender Forscher wie Friedberger dieser Ansicht huldigt.“ Danach scheint trotz der Fülle von Tatsachen, die inzwischen zugunsten der Friedbergerschen Ansicht bekannt geworden sind, in der Medizinalabteilung des Ministeriums für Volkswohlfahrt noch immer jener Erlaß des Kgl. preußischen Ministeriums des Innern vom 14. Febr. 1917 uneingeschränkt Geltung zu besitzen, der apodiktisch anordnete: „Der Proteusbazillus ist nicht der Erreger des Fleckfiebers.“

4) Neukirch, Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 16.

eines Fleckfieberkranken gezüchteten und von Neukirch und Kreuscher¹⁾ näher untersuchten *Pyocyaneus*bazillus „Z₁“. Es ergab sich, daß dieser Stamm durch zahlreiche Fleckfiebersera zum Teil hoch agglutiniert wurde, weniger aber durch andere menschliche Sera.

Die Agglutinationskurve dieses Bazillus zeigt nach Neukirch und Kreuscher vielfach den Charakter einer Immunitätskurve, d. h. enge zeitliche Zusammenhänge mit der Fleckfieberkurve (Kulminieren der Titerkurve um den Entfieberungstermin herum). Gewöhnliche *Pyocyaneus*stämme ergeben ein derartiges Verhalten nicht. Obwohl dieser Bazillus, wie schon Neukirch und Kreuscher festgestellt haben, eine gewisse Verwandtschaft der bindenden Gruppe mit X 19 zu haben schien, so folgerten sie doch aus der Tatsache, daß X 19-Kaninchenimmunserum den Z₁ nicht agglutiniert, Z₁-Kaninchenimmunserum nicht den X 19, daß „beide Bakterien völlig verschiedene Rezeptoren der Leibessubstanz besitzen“ und „daß durch Immunisierungsversuche keine gemeinsamen Rezeptoren für X 19 und Z₁ nachweisbar sind“.

Die Autoren schreiben: „Friedbergers serologisches Beweisgebäude muß zusammenstürzen, wenn es gelingt, neben den spezifischen *Proteus*stämmen bei anderen Bakterien gleiche Eigenschaften gegenüber Fleckfieberseren nachzuweisen.“ Tatsächlich verhielt sich dieser Bazillus nun in kreuzweisen Ab sättigungsversuchen von Neukirch-Kreuscher mit Kaninchenimmunserum und Fleckfieberpatientenserum genau in der gleichen Weise, wie das Friedberger für den X 19-Bazillus festgestellt hatte, d. h. ein Z₁-Bazillus mit Patientenserum beladen entzog dem Z₁-Kaninchenimmunserum kein Agglutinin mehr, und umgekehrt entzog ein mit Z₁-Immunserum völlig beladener Z₁-Bazillus dem Patientenserum kein Z₁-Agglutinin mehr. Da die Autoren es natürlich ablehnen, den Z₁-Bazillus auch mit dem Fleckfiebererreger zu identifizieren, so glauben sie also tatsächlich, daß der Beweis von Friedberger für die Identität zwischen Weil-Felix-Bazillus und Fleckfiebererreger erschüttert sei und daß „ein Trugschluß Friedbergers vorliegt“.

Diese Schlußfolgerung ist sehr verwunderlich angesichts

1) Neukirch und Kreuscher, Beitr. z. Klin. d. Infektionskr. u. Immunitätsf., Bd. 8, Heft 2.

der von den Autoren selbst im Bindungsversuch festgestellten teilweisen „Verwandtschaft der bindenden Gruppen“.

Doch wird auch andererseits die Annahme einer völligen Verschiedenheit dieser beiden Bakterien im Sinne der Autoren wieder verständlich, wenn wir das kulturelle Verhalten (das Farbstoffbildungsvermögen des *Pyocyaneus*stammes) in Betracht ziehen, und ferner die Tatsache, daß beide Bazillen bei Immunisierung des Kaninchens ganz verschiedene, nicht aufeinander übergreifende Sera bilden.

Die Autoren kommen dann zu der sehr gekünstelten Hypothese, daß der durch das eigentliche „stahlharte“ Fleckfiebertivirus hervorgerufene spezifische Fleckfieberimmunkörper als „Stempel“ auf gewisse anpassungsfähige nachgiebige saprophytische Bakterien wirkt, deren „tonartige“ Rezeptoren je nach der chemischen Konstruktion ihrer Umgebung sich dieser anpassen, also im vorliegenden Fall dem spezifischen Fleckfieberimmunkörper, und entsprechende Veränderungen ihrer Konstitution erfahren. „Sie werden alle die Marke des gleichen Stempels tragen.“ Es handelt sich also bei dem *Proteus*- und bei dem *Pyocyaneus*stamm „um modifizierte Stämme gewisser zur Dauermodifikation geeigneter Saprophytenklassen“. Das Vorkommen spezifischer *Proteus*stämme bei Fleckfieberkranken (sc. auch der *Pyocyaneus*stämme) hänge davon ab, ob bei dem jeweiligen Ort der Epidemie derartige modifizierbare *Proteus*- usw. Stämme vorkommen oder nicht.

Hier zeigt sich einmal wieder, zu welchen gewundenen Hypothesen man kommt, wenn man sich der Wucht der einfachsten Tatsachen hartnäckig verschließt.

Wir haben es uns nunmehr zur Aufgabe gestellt, voraussetzungslos die Beziehungen des X 19 und X 2 zum Bazillus Z₁ im Bindungsversuch und in Immunisierungsversuchen („Bildungsversuch“) zu eruieren, ohne zunächst zur Frage der Identität des X-Bazillus mit dem Z₁ oder zu ihren wechselseitigen Beziehungen irgendwie Stellung zu nehmen. Allerdings müssen wir von vornherein betonen, daß das Farbstoffbildungsvermögen der Bazillen der *Pyocyaneus*gruppe, wie gerade Gessard¹⁾ in jüngster Zeit gezeigt hat, kein charakteristisches Artmerkmal ist, sondern verloren gehen kann. Im übrigen aber ähnelt der *Pyocyaneus* kulturell durch sein Schwärmvermögen den Bakterien der *Proteus*gruppe.

Die Untersuchungen über die Rezeptorenbeziehungen zwischen beiden Bakterien bilden den Hauptgegenstand un-

1) Gessard, Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 34, 1920, p. 88; ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 71, p. 288.

serer später folgenden Untersuchungen. Daneben aber haben wir es zunächst für wichtig gehalten, auch die älteren Bindungsversuche von Friedberger unter Berücksichtigung der damals noch unbekanntem Beziehungen zwischen O und H und zwischen groben und feinen Agglutininen zu wiederholen. Ueber diese Versuche, die mit den späteren, wie noch gezeigt werden wird, in engem Zusammenhang stehen, soll zunächst berichtet werden.

B. Wiederholung der Absättigungsversuche von Friedberger, Kreuzscher, Neukirch unter Berücksichtigung von O- und H-Form des X 19-Bazillus.

Der Bindungsversuch Friedbergers¹⁾ (1917) ergab, daß „mit Kaninchenimmenserum völlig beladene X 19-Bazillen dem Fleckfieberpatientenserum kein Agglutinin mehr entziehen“. Der Kreuzversuch ergab: „Mit Fleckfieberpatientenserum völlig beladene X 19-Bazillen entziehen dem Kaninchenimmenserum kein Agglutinin mehr.“ Diese Versuche wurden 1920 von Neukirch und Kreuzscher nachgeprüft und in den tatsächlichen Befunden vollkommen bestätigt.

Diese Versuche waren jetzt zunächst unter Berücksichtigung der über die O- und H-Form des Bazillus X 19 ermittelten Tatsachen mit diesen getrennt noch einmal zu wiederholen. Wenn wir dabei die fundamentalen Weilschen Feststellungen zugrunde legen, so bestand hier von vornherein eine Diskrepanz. Ein mit Fleckfieberpatientenserum vollkommen beladener gewöhnlicher X 19-Bazillus hatte ja nach Friedberger, Kreuzscher und Neukirch bekanntlich dem Kaninchenimmenserum kein Agglutinin mehr entzogen. Theoretisch war das zunächst nicht zu verstehen, denn der X 19 konnte aus dem Fleckfieberpatientenserum nur O-Agglutinine entziehen und mußte, nachher abzentrifugiert, eigentlich aus einem Kaninchenimmenserum noch für seine ungesättigte H-Gruppe H-Agglutinine binden. Das war aber in Friedbergers Versuchen sowie bei der Nachprüfung von Neukirch und Kreuzscher nicht der Fall, und Friedberger hatte deshalb angenommen, daß sein Bazillus X 19 im wesentlichen nur O-Gruppen enthalten haben müsse.

1) Friedberger, Dtsch. med. Wochenschr., 1917, p. 1353.

Dieser Versuch wurde daher zuerst unter Verwendung einer einwandfreien gewöhnlichen, d. h. reichlich H und O enthaltenden, stark schwärmenden H-Form des X 19-Bazillus wiederholt. Die Fleckfieberpatientensera waren dem Institut in dankenswerter Weise von Herrn Dr. Feige, Lagerarzt in Swinemünde, zur Verfügung gestellt.

Das HX 19-Kaninchenimmunserum war, wie folgt, gewonnen: Kaninchen No. G 2, 1500 g, erhält in 8-tägigen Intervallen $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{2}$, 1, 1 Oese HX 19, 1 Stunde bei 60° abgetötet, intravenös. Blutentnahme 8 Tage nach der letzten Vorbehandlung. Titer für HX 19 1:5000, für OX 19 1:10 000.

In allen Bindungsversuchen wurde zunächst nach dem Vorgehen von Neukirch und Kreuzscher durchgehend 1 Oese der betreffenden 24-stündigen Bazillenkultur in 1 ccm 12,5-facher Verdünnung des zu prüfenden Serums verrieben und unter häufigerem Aufschütteln $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° im Brutschrank gehalten. Nachdem gut zentrifugiert war, wurde der Bodensatz wiederholt so oft mit Serum beladen (6—8mal), bis das Serum bei erneutem Kontakt mit Bazillen seinen ursprünglichen Titer bewahrte, also nichts mehr entzog. Nach 4maligem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung wurden die Bazillen in 1 ccm 50-facher Verdünnung des Kaninchenimmunserums gebracht und 2 Stunden unter mehrmaligem Aufschütteln im Brutschrank gehalten. Die nach Zentrifugieren überstehende Flüssigkeit wurde mit unbehandelten Bazillen des jeweils zu prüfenden Stammes ausgewertet.

Um über die verwickelten Rezeptoren und Bindungsverhältnisse eine bessere Uebersicht zu gewinnen, haben wir die Versuchsergebnisse in ähnlicher Weise graphisch dargestellt, wie es Friedberger und Moreschi in ihrer Arbeit „Ueber Rassedifferenzen von Typhusstämmen“¹⁾ für den Rezeptorenapparat dieser Bakterien getan haben. Die Bazillen sind in Form von Rechtecken, ihre haptophoren Gruppen durch Striche und entsprechende Bezeichnungen wiedergegeben. Die Sera sind durch Kreise, und zwar die, mit denen die Bazillen völlig beladen wurden, durch unterbrochene Kreise, die zur Prüfung der beladenen Bazillen im Absorptionsversuch benutzten durch Vollkreise angedeutet. Die Agglutinine der Sera wurden entsprechend den haptophoren Gruppen der Ba-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 45.

zillen bezeichnet, die relative Menge der haptophoren Gruppen der Bazillen und der Agglutinine ist grob annähernd durch Größe der betreffenden Buchstaben veranschaulicht. Eintretende Bindung ist durch \rightleftharpoons , zu erwartende, aber nicht eingetretene Bindung durch \rightleftarrows , schwache Bindung durch \longleftrightarrow symbolisiert.

Für die Ablesung ist folgendes zu bemerken:

- + bedeutet makroskopisch sichtbare Agglutination,
- (+) mit Agglutinoskop sichtbare Agglutination,
- (±) mit Agglutinoskop zweifelhafte Agglutination,
- keine Agglutination mit Agglutinoskop.

Bindungsversuch I.

HX 19-Bazillen werden mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV¹⁾ völlig beladen. Dann werden sie mit HX 19-Kaninchenimmunserum G²⁾ 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen (Fig. 1). Der Abguß wird mit HX 19-Bazillen ausgewertet (Tabelle I).

Tabelle I.

| HX 19-Kaninchenimmunserum G | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|---|-------------|----------------------|------|------|-------|-------|------|
| | | 100— 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | 20000 | |
| Abguß von HX 19, beladen mit Patientenserum | HX 19 | + | + | (+) | (+) | — | — |
| | HX 19 | + | + | (+) | (+) | — | — |
| Serum nativ | | | | | | | |

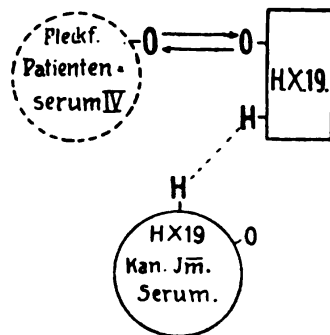


Fig. 1.

Ergebnis: Es entziehen mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV völlig beladene HX 19-Bazillen dem HX 19-Kaninchenimmunserum G kein Agglutinin mehr.

Worauf die schon oben erwähnte Tatsache beruht, daß die H-Gruppe des X 19 nach Beladung mit lediglich O-Agglutinine enthaltendem Fleckfieber-Patientenserum dem Kaninchenimmunserum nicht seinerseits H entzieht, wissen wir nicht. Zur Erklärung haben wir zunächst zwei Möglichkeiten (siehe Schema Fig. 1 a u. a.).

1) Titer für OX 19 1:5000.
2) Titer für HX 19 1:5000, OX 19 1:10000.

1) Das Fleckfieber-Patientenserum enthält zwar bekanntlich kein voll wirksames H-Agglutinin. Es wäre aber denkbar, daß es ein H-Agglutinoid enthielte, wie das in dem Schema (Fig. 1 α) durch das *h* am Fleckfieber-Patientenserum angedeutet ist. Dann würde die H-Gruppe des HX 19-Bazillus durch dieses *h*-Agglutinoid abgesättigt, und es wäre verständlich, daß nachher durch derartige in allen Gruppen gesättigte Bazillen dem Kaninchenimmenserum nichts mehr entzogen wird.

2) Man könnte daran denken, daß durch die völlige Absättigung der O-Gruppe des HX 19-Bazillus eine Blockierung oder Affinitätsverminderung seiner H-Gruppe eintreten würde (Fig. 1), so daß diese dann gegenüber einem Kaninchenimmenserum nicht mehr in Aktion tritt.

Analoge Verhältnisse hat bereits Bornstein¹⁾ in einer aus der Ottoschen Abteilung des Instituts Robert Koch hervorgegangenen Arbeit angenommen. Eine weitere Möglichkeit schien uns zunächst nicht vorzuliegen. Eine Entscheidung bezüglich der ersten Frage konnte in folgender Weise getroffen werden. Wenn tatsächlich das Fleckfieber-Patientenserum ein Agglutinoid *h* enthielte, so müßte ein von O befreites Patientenserum HX 19-Bazillen immer noch in der H-Gruppe absättigen, so daß solche Bazillen nachher einem gleichfalls vom O-Agglutinin befreiten HX 19-Kaninchenimmenserum keine Agglutinine mehr entziehen. Die Befreiung des Fleckfieber-Patientensersums und des Kaninchenimmenserums vom O, d. h. die Gewinnung eines reinen H-Serums, läßt sich nach Weil durch Vorbehandlung solcher Sera mit im Dampf erhitzten X 19-Bazillen erzielen, bei denen durch die Erhitzung die thermolabile H-Gruppe zerstört wird.

Bindungsversuch 1a.

HX 19-Bazillen werden mit Fleckfieber-Patientenserum „Berlin B“, dem das O-Agglutinin durch erhitzte X 19-Bazillen entzogen wurde (Fig. 1a), 8mal in Kontakt gebracht. Die danach 4mal gewaschenen Bakterien werden mit analog dem obigen gewonnenen HX 19-Kaninchenimmenserum ohne O 2 Stunden bei 37° digeriert und abzentrifugiert (Fig. 1 α). Der Abguß wird mit HX 2- und HX 19-Bazillen ausgewertet (Tabelle 1a).

1) Bornstein, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 90, 1920

Tabelle Ia.

| HX 19-Kaninchenimmunserum ohne O | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|---|-------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | |
| Abguß von HX 19-Bazillen nach Kontakt mit Fleckf.-Pat.-Ser. Serum nativ | HX 2 | (±) | — | — | — | — | — |
| | HX 2 | + | + | (+) | (±) | — | — |
| Abguß von HX 19-Bazillen in Kontakt mit Fleckf.-Pat.-Ser. Serum nativ | HX 19 | — | — | — | — | — | — |
| | HX 19 | + | + | (+) | (±) | — | — |

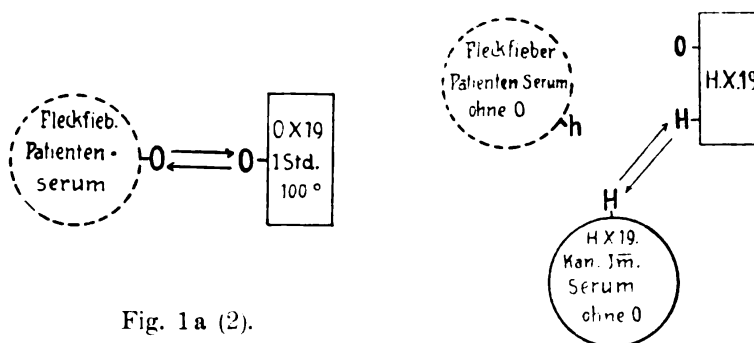


Fig. 1 a (2).

Fig. 1 a (3).

Ergebnis: Mit O-freiem Patientenserum wiederholt in Kontakt gelassene HX 19-Bazillen sättigen ihre H-Gruppen nicht ab, denn bei nachherigem Zusatz von HX 19-Kaninchenimmunserum ohne O wird dessen H-Agglutinin gebunden.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß für die hypothetische Annahme eines *h*-Agglutinoids im Fleckfieber-Patientenserum kein Anhalt vorliegt. Damit entfällt die Berechtigung der zuerst diskutierten Hypothese.

Es war nun die oben diskutierte zweite Möglichkeit weiterhin zu untersuchen, d. h. es war festzustellen, wie mit Patientenserum beladene gewöhnliche HX 19-Bazillen, deren O-Gruppe also abgesättigt ist, sich gegenüber dem H-Agglutinin eines HX 2-Kaninchenimmunserum verhielten. Folgt auch hier wie bei HX 19-Serum eine Aufhebung der Reagierfähigkeit der H-Gruppe des X 19 gegenüber dem H-Agglutinin?

Als HX 2-Kaninchenimmunserum stand uns ein Serum zur Verfügung, das, wie folgt, gewonnen war: Kaninchen G 7, 1440 g, erhält in 4-tägigen Intervallen $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{3}$, 1 Oese HX 2 (1 Stunde bei 60° abgetötet). Blutentnahme 8 Tage nach der letzten Injektion. Titer für HX 2 1:20000, OX 19 Null.

Versuchsordnung wie oben. Mit Fleckfieber-Patientenserum Berlin A¹⁾ völlig beladene X 19-Bazillen werden mit HX 2-Kaninchenimmunserum in der üblichen Weise zusammengebracht. Der Abguß wird mit HX 19 und mit HX 2 ausgewertet.

Bindungsversuch Ib.

HX 19-Bazillen werden 3mal mit Fleckfieber-Patientenserum beladen. Dann wird der Bodensatz mit HX 2-Kaninchenimmunserum G 7 2 Stunden bei 37° digeriert, es wird abzentrifugiert und der Abguß (Fig. 1 b) wird mit HX 2- und HX 19-Bazillen ausgewertet (Tabelle Ib).

Tabelle Ib.

| HX 2-Kaninchen- immunserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | | | | NaCl |
|--|----------------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|--------|--------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | 20 000 | 50 000 | |
| Abguß von HX 19-Baz., beladen mit Patienten- serum | HX 2 | + | + | (±) | (±) | (±) | - | - | - | - | - |
| | HX 2 | + | + | + | + | + | + | (±) | (±) | (±) | - |
| Abguß von HX 19-Baz., beladen mit Patienten- serum | HX 19 | + | + | (+) | (±) | - | - | - | - | - | - |
| | HX 19 | + | + | + | + | (+) | (±) | (±) | (±) | - | - |

Ergebnis: Der mit Patientenserum beladene X 19-Bazillus entzieht dem HX 2-Kaninchenimmunserum noch H-Agglutinine.

Das Ergebnis dieses Versuches steht in striktem Gegensatz zu dem des Versuches I. Während der mit O-Agglutinin des Patientenserums völlig beladene X 19 einem HX 19-Kaninchenimmunserum kein H-Agglutinin mehr entzieht, entzieht er es wohl dem HX 2-Kaninchenimmunserum. Diese Tatsache läßt sich zunächst nur so erklären, daß nach der Besetzung der O-Gruppe des Bazillus durch das O-Agglutinin die Affinität der H-Gruppe des X 19- zum HX 19-Agglutinin des Kaninchenimmunserums tatsächlich im Sinne von Börn-

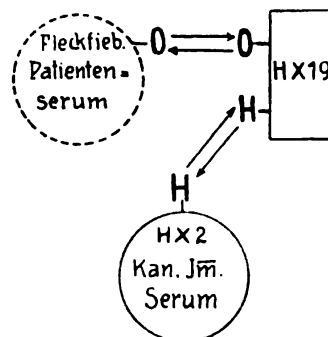


Fig. 1 b (4).

1) Titer: OX 19 1:2000, HX 2 = 0.

stein blockiert wird, nicht aber gegenüber dem H des HX 2-Kaninchenimmunserums. Hier ist die Bindungsfähigkeit mindestens zum größeren Teile erhalten. Das spricht entweder für eine höhere Affinität der H-Gruppe des X 19 zum HX 2-Immunserum oder überhaupt für eine Verschiedenheit des HX 2- und HX 19-Agglutinins und der entsprechenden Bakterienrezeptoren. Abgesehen davon sprechen, wie hier noch einmal zusammenfassend betont werden soll, die Versuche in ihrer Gesamtheit gegen die von uns hypothetisch gemachte Annahme eines *h*-Agglutinoids im Fleckfieber-Patientenserum, denn dann hätte auch in Versuch Ia eine Verstopfung des H-Rezeptors erfolgen müssen. Tatsächlich aber ist die Affinität der H-Gruppe des X 19 für H-Kaninchenimmunagglutinin nur dann aufgehoben, wenn auch die O-Gruppe besetzt ist (Versuch I).

Es wurde nunmehr auch das Fleckfieber-Patientenserum gegenüber der reinen OX 19-Form geprüft. Hierüber lagen bisher noch keine Versuche vor. Das Ergebnis entspricht vollkommen den Voraussetzungen und den über den Rezeptorenapparat bekannten Tatsachen. Die reinen O-Bazillen, die ja nur O-Rezeptoren enthalten, konnten dem Fleckfieber-Patientenserum von vornherein nur das ihm einzig zukommende O-Agglutinin entziehen und die beladenen Bazillen mußten auf ein HX 19-Kaninchenimmunserum ohne Einfluß sein.

Bindungsversuch I c.

OX 19-Bazillen werden mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV völlig beladen. Dann werden sie mit HX 19-Kaninchenimmunserum G 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen (Fig. 1 c). Der Abguß wird mit OX 19-Bazillen ausgewertet (Tabelle I c).

Tabelle I c.

| HX 19-Kaninchen- immunserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1 : | | | | | NaCl |
|---|----------------|-----------------------|------|--------|--------|--------|------|
| | | 100— 2000 | 5000 | 10 000 | 20 000 | 50 000 | |
| Abguß von OX 19-Baz., beladen mit Fleckfieber- Patientenserum | OX 19 | + | + | + | (±) | — | — |
| Serum nativ | OX 19 | + | + | + | (±) | — | — |

Ergebnis: Es entziehen mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV völlig beladene OX 19-Bazillen dem HX 19-Kaninchenimmunserum G kein Agglutinin.

Es wurden nun auch die kreuzweisen Bindungsversuche mit Kaninchenimmunserum an Stelle von Patientenserum wiederholt, und zwar diesmal wieder mit der gewöhnlichen H-Form und der reinen O-Form.

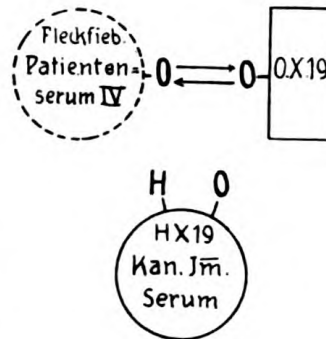


Fig. 1c (5).

Bindungsversuch II (mit H-Form).

HX 19-Bazillen werden mit HX 19-Kaninchenimmunserum G völlig beladen. Dann werden sie mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen (Fig. 2). Der Abguß wird mit HX 19-Bazillen ausgewertet (Tabelle II).

Tabelle II.

| Fleckfieber-Patientenserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | NaCl |
|---|-------------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| Abguß von HX 19-Baz., beladen mit HX 19-Kaninchenimmunserum Serum nativ | HX 19 | + | (+) | (+) | (+) | (±) | — | — |
| | HX 19 | + | (+) | (+) | (+) | (±) | — | — |

Ergebnis: Mit HX 19-Kaninchenimmunserum völlig beladene HX 19-Bazillen entziehen dem Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV kein Agglutinin.

Da das Kaninchenimmunserum H- und O-Agglutinine enthält, der X 19-Bazillus beide Rezeptoren, so mußte hier eine doppelte Absättigung stattfinden und ein zu dem beladenen Bazillus zugesetztes Fleckfieber-Patientenserum unbeeinflusst bleiben.

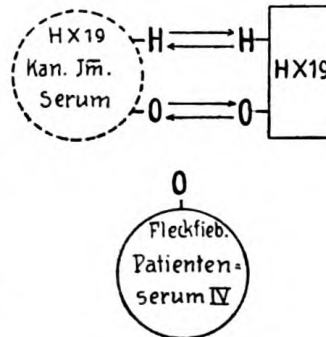


Fig. 2 (6).

Bindungsversuch IIa (mit O-Form).

Hier mußte der OX 19-Bazillus dem Kaninchenimmunserum nur das O-Agglutinin entziehen, aber das nachträglich

zugesetzte Fleckfieber-Patientenserum, das ja nur O enthält, mußte gleichfalls unbeeinflusst bleiben.

OX 19-Bazillen werden mit HX 19-Kaninchenimmunserum G völlig beladen. Dann werden sie mit Fleckfieber-Patientenserum IV 2 Stunden in Kontakt gelassen (Fig. 2 a). Der Abguß wird mit OX 19-Bazillen ausgewertet (Tabelle II a).

Tabelle II a.

| Fleckfieber-Patientenserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|---|-------------|----------------------|------|------|--------|--------|------|
| | | 100— 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | 20 000 | |
| Abguß von OX 19 Baz., beladen mit HX 19-Kaninchenimmunserum | OX 19 | + | + | + | (+) | — | — |
| Serum nativ | OX 19 | + | + | + | (+) | — | — |

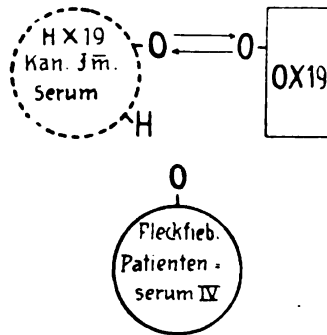


Fig. 2 a (7).

Ergebnis: Mit HX 19-Kaninchenimmunserum G völlig beladene OX 19-Bazillen entziehen dem Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV kein Agglutinin.

Als Kontrolle wurden reine OX 19-Bazillen nativ und OX 19-Bazillen, die 1 Stunde bei 100° im Dampf gehalten wurden (Abschwemmung je eines Schrägagarröhrchens) mit je 1 ccm HX 19-Kaninchenimmunserum G 16 2 Stunden bei 37° digeriert (Fig. 2 b). Die Abgüsse werden mit OX 19- und HX 2-Bazillen ausgewertet (Tabelle II b).

Tabelle II b.

| HX 19-Kaninchenimmunserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|-----------------------------|-------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | |
| Abguß von reinen OX 19-Baz. | OX 19 | — | — | — | — | — | — |
| Abguß von reinen OX 19-Baz. | HX 2 | + | + | (+) | (±) | — | — |
| Abguß von OX 19 100° Baz. | OX 19 | — | — | — | — | — | — |
| Abguß von OX 19 100° Baz. | HX 2 | + | (+) | (±) | — | — | — |
| Serum nativ | OX 19 | + | + | + | (±) | — | — |
| Serum nativ | HX 2 | + | + | + | (±) | — | — |

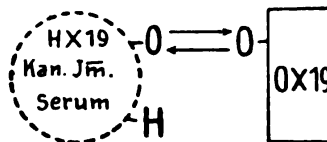


Fig. 2 b (8).

Ergebnis: OX 19-Bazillen 100° und reine native OX 19-Bazillen entziehen einem HX 19-Kaninchenimmunserum nur die O-Agglutinine.

Aus den bisherigen Bindungsversuchen ergibt sich, daß die früheren Befunde von Friedberger, Kreuzscher und Neukirch auch unter Verwendung der reinen O-Form neben der gewöhnlichen H-Form des X 19-Bazillus Geltung behalten. X 19-Bazillen, einerlei ob es sich um die gewöhnliche Form oder um die O-Form handelt, beladen mit Fleckfieber-Patientenseris, entziehen dem Kaninchenimmunserum kein Agglutinin mehr und die entsprechenden Bazillen mit Kaninchenimmunserum beladen, lassen das Fleckfieber-Patientenserum unbeeinflusst.

C. Der Rezeptorenapparat des Z₁-Bazillus nach Versuchen mit agglutinierendem Kaninchenimmunserum.

Neukirch und Kreuzscher haben, wie schon erwähnt, gezeigt, daß viele Fleckfieberpatientensera den Z₁-Bazillus agglutinieren, und daß andererseits der Z₁-Bazillus ein streng spezifisches Kaninchenimmunserum erzeugt, daß auf Weil-Felix-Bazillen nicht übergreift, ebensowenig wie das X 19-Kaninchenimmunserum auf Z₁. In Bindungsversuchen haben sie analoge Resultate mit dem Z₁-Bazillus erhalten, wie Friedberger mit dem X 19, und daraus von ihrem Standpunkt zunächst mit Recht gefolgert, daß die Schlüsse Friedbergers bezüglich der Erregernatur des X 19 irrig sein müßten, da sich sonst ergebe, daß auch Z₁ ein Fleckfiebererreger sei. Dieser Bazillus aber ist ja auch anscheinend nach dem Ergebnis des Bildungsversuchs beim Kaninchen, abgesehen von den kulturellen Differenzen, vom X 19 verschieden.

Wir haben zunächst die Bindungsversuche von Neukirch und Kreuzscher in Analogie mit den vorerwähnten wiederholt und können ihre Richtigkeit vollinhaltlich bestätigen.

Bindungsversuch III.

Z₁-Bazillen werden mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV völlig beladen. Dann werden sie mit Z₁-Kaninchenimmunserum K 5¹⁾ 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen (Fig. 3). Der Abguß wird mit Z₁-Bazillen ausgewertet (Tabelle III).

1) Titer für Z₁, 1:5000.

Tabelle III.

| Z ₁ -Kaninchenimmunserum K 5 | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|---|----------------|----------------------|------|------|--------|--------|------|
| | | 100—1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | 20 000 | |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, beladen m. Fleckfieber-Patientenserum | Z ₁ | + | + | + | (±) | — | — |
| Serum nativ | Z ₁ | + | + | + | (±) | — | — |

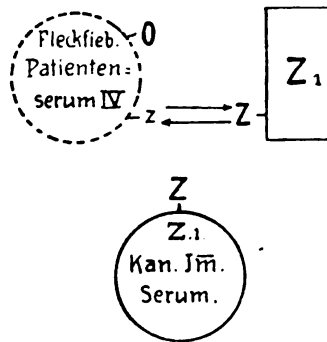


Fig. 3 (9).

Ergebnis: Mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV völlig beladene Z₁-Bazillen entziehen dem Z₁-Kaninchenimmunserum K 5 kein Agglutinin.

Gewissermaßen ein Spiegelbild und eine Bestätigung dieses Versuchs liefert der folgende Bindungsversuch:

Bindungsversuch IIIa.

Z₁-Bazillen werden mit Z₁-Kaninchenimmunserum K 5 völlig beladen. Dann werden sie mit Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen (Fig. 3a). Der Abguß wird mit Z₁-Bazillen ausgewertet (Tabelle IIIa).

Tabelle IIIa.

| Fleckfieber-Patientenserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | NaCl |
|---|----------------|----------------------|-----|-----|------|
| | | 100 | 200 | 500 | |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, belad. m. Z ₁ -Kaninchenimmunserum | Z ₁ | + | (+) | — | — |
| Serum nativ | Z ₁ | + | (+) | — | — |

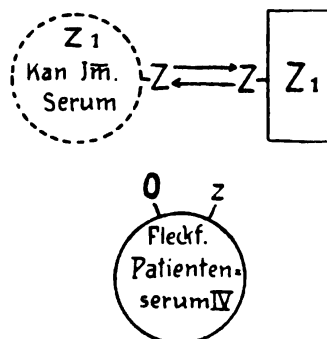


Fig. 3a (10).

Ergebnis: Mit Z₁-Kaninchenimmunserum K 5 völlig beladene Z₁-Bazillen entziehen dem Fleckfieber-Patientenserum Swinemünde IV kein Agglutinin für Z₁-Bazillen.

Die Resultate dieser 6 Gruppen von Bindungsversuchen stimmen also vollkommen mit denen von Neukirch und Kreuzscher angestellten überein.

Ein weiteres Ergebnis der beiden Autoren war die strenge Spezifität des X 19- und Z₁-Kaninchenimmunserums. Auch unser HX 19-Kaninchenimmunserum (Titer für OX 19 1:5000) agglutinierte nicht den Z₁, ebenso wie das Z₁-Kaninchenimmunserum keine Agglutinine für HX 19- und OX 19-Bazillen enthielt.

Diese Bildungsversuche sprechen für die Verschiedenheit des Z₁- und X 19-Bazillus, während die Bindungsversuche andererseits ja auch schon gewisse von Neukirch und Kreuzer festgestellte Beziehungen erkennen lassen. Die Tatsache, daß mit Fleckfieber-Patientenserum beladene Z₁-Bazillen nicht mehr durch das nur Z₁-haltige Kaninchenserum agglutiniert werden, ist auf Grund unserer heutigen Kenntnis nur in dem Sinne zu deuten, daß auch das Fleckfieber-Patientenserum ein Z₁-Agglutinin enthält, daß die Z₁-Gruppe des Z₁-Bazillus abgesättigt hat, sofern man nicht annehmen will, daß eine O-Gruppe des Z₁-Bazillus das O-Agglutinin des Fleckfieber-Patientenserums verankert hat und dadurch eine Blockierung des Z₁-Rezeptors gegenüber dem Z₁-Agglutinin des Kaninchenserums eingetreten ist, ähnlich wie wir das im Bindungsversuch I mit X 19 angenommen hatten. Die Entscheidung darüber bringt die Untersuchung des mit Z₁ in Kontakt gewesenen Patientenserums auf seinen O-Gehalt.

Diese Versuche entsprechen in ihrem Wesen den voraufgegangenen und stellen insofern eine Bestätigung allerdings mit etwas abweichender Technik (Ausfällung mit größeren Bakterienmengen) dar. Es wurde aber außer auf das Z₁-Agglutinin auch auf den Verbleib des O-Agglutinins gefahndet.

Bindungsversuch IIIb.

1 ccm Fleckfieber-Patientenserum Berlin B 1:12,5 wird mit dem Bodensatz eines Schrägagarröhrchens Z₁-Kultur 24 Stunden alt 2 Stunden bei 37° digeriert (Fig. 3b). Der Abguß wird ausgewertet mit Z₁- und OX 19-Bazillen (Tabelle IIIb).

Tabelle IIIb.

| Fleckfieber-Patientenserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | NaCl |
|---|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | |
| Nach Kontakt mit Z ₁ -Bazillen | Z ₁ | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Nativ | Z ₁ | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — |
| Nach Kontakt mit Z ₁ -Bazillen | OX 19 | + | + | + | + | (+) | — | — | — |
| Nativ | OX 19 | + | + | + | + | (+) | (±) | — | — |

19*

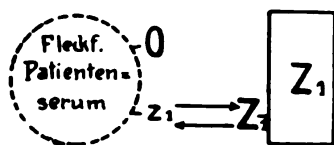


Fig. 3b (11).

Ergebnis: Z_1 -Bazillen entziehen dem Fleckfieber-Patientenserum Berlin B alle Agglutinine für Z_1 , so gut wie keine für OX 19.

Weiterhin müßte nach Beladung von Kaninchenimmenserum mit Z_1 -Bazillen das Fleckfieber-Patientenserum noch seinen Gehalt sowohl an O wie Z_1 bewahrt haben. Das ist der Fall, wie der nachstehende Versuch zeigt:

Bindungsversuch IIIc.

Z_1 -Bazillen werden mit Z_1 -Kaninchenimmenserum völlig beladen, dann werden sie mit Fleckfieber-Patientenserum „Berlin B“ 2 Stunden bei 37° in Kontakt gelassen (Fig. 3c). Der Abguß wird ausgewertet mit Z_1 - und OX 19-Bazillen (Tabelle IIIc).

Tabelle IIIc.

| Fleckfieber-Patientenserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | NaCl |
|---|-------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| Abguß von Z_1 -Bazill., belad. m. Z_1 -Immenserum | Z_1 | + | + | (±) | — | — | — | — |
| Serum nativ | Z_1 | + | (+) | (±) | — | — | — | — |
| Abguß von Z_1 -Bazill., belad. m. Z_1 -Immenserum | OX 19 | + | + | + | + | (+) | (±) | — |
| Serum nativ | OX 19 | + | + | + | + | (+) | (±) | — |

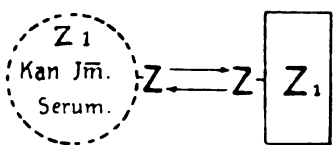


Fig. 3c (12).

Ergebnis: Mit Z_1 -Kaninchenimmenserum völlig beladene Z_1 -Bazillen entziehen dem Fleckfieber-Patientenserum „Berlin B“ keine Agglutinine für Z_1 und OX 19.

Ergeben die seitherigen Versuche mannigfache Beziehungen zwischen Z_1 und OX 19, so lagen bisher noch keinerlei Untersuchungen über die Beziehungen des HX 19- und X 2-Immenserums zum Z_1 vor.

Was das HX 19-Immenserum anlangt, so ist schon aus den Untersuchungen von Neukirch und Kreuzscher bekannt und durch uns bestätigt, daß es Z_1 -Bazillen nicht agglutiniert, und umgekehrt. Immerhin wären auch beim Aus-

bleiben einer sichtbaren Verklumpung Beziehungen im Bindungsversuch möglich. Wir haben deshalb also die Versuche sowohl mit HX 19- wie mit HX 2-Serum angestellt.

Bindungsversuch IV (HX 19-Immuns Serum).

Z₁-Bazillen werden mit HX 19-Kaninchenimmuns Serum G 2 8mal in Kontakt gebracht. Dann werden die beladenen Bazillen mit Z₁-Kaninchenimmuns Serum K 5 2 Stunden bei 37° digeriert (Fig. 4). Der Abguß wird ausgewertet mit Z₁- und HX 2-Bazillen (Tabelle IV).

Tabelle IV.

| Z ₁ -Kaninchenimmuns Serum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | NaCl |
|---|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| Abguß v. Z ₁ -Bazill., nach Kontakt m. HX 19-Kaninchenimmuns Serum | Z ₁ | + | + | + | (+) | (±) | — | — |
| | HX 2 | + | — | — | — | — | — | — |
| Serum nativ | Z ₁ | + | + | + | (+) | (±) | — | — |
| | HX 2 | — | — | — | — | — | — | — |

Ergebnis: Mit HX 19-Kaninchenimmuns Serum wiederholt in Kontakt gehaltene Z₁-Bazillen entziehen einem Z₁-Kaninchenimmuns Serum K 5 kein Agglutinin für Z₁-Bazillen.

Daß das HX 19-Kaninchenimmuns Serum nach Kontakt mit Z₁-Bazillen noch H- und O-Agglutinin enthält, zeigt der nachfolgende Versuch IV₁.

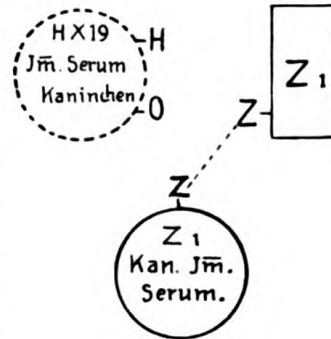


Fig. 4 (13).

1 Schrägagarröhrchen Z₁ wird mit 1 ccm NaCl abgeschwemmt, der Bodensatz wird mit 1 ccm HX 19-Kaninchenimmuns Serum G 16 2 Stunden bei 37° digeriert (Fig. 4₁). Der Abguß wird ausgewertet mit HX 2- und OX 19-Bazillen (Tabelle IV₁).

Tabelle IV₁.

| HX 19-Kaninchenimmuns Serum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | NaCl |
|------------------------------------|-------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen | OX 19 | + | + | (+) | (±) | — | — | — |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen | HX 2 | + | + | (±) | — | — | — | — |
| Serum nativ | OX 19 | + | + | + | (±) | — | — | — |
| Serum nativ | HX 2 | + | + | + | (±) | — | — | — |

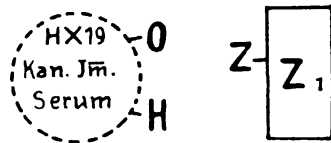


Fig. 4₁ (14).

Ergebnis: Z₁-Bazillen entziehen dem HX 19-Kaninchenimmunserum so gut wie keine Agglutinine für OX 19- und HX 2-Bakterien.

Dieses Resultat war keineswegs von vornherein zu erwarten.

Da das HX 19-Immunsrum Z₁ nicht agglutiniert, so ist a priori nicht anzunehmen, daß der Z₁-Bazillus irgendwie in seinem Rezeptorenapparat durch den Kontakt mit dem HX 19-Kaninchenimmunserum beeinflußt worden wäre. Es besteht also kein Grund, weshalb derartige Bazillen nachher nicht einem Z₁-Kaninchenimmunserum Z₁-Agglutinine entziehen sollten. Tatsächlich aber ist es nicht der Fall. Die Z₁-Gruppe der mit HX 19-Kaninchenimmunserum in Kontakt gewesenen Z₁-Bazillen besitzt kein Bindungsvermögen mehr für das Agglutinin eines Z₁-Kaninchenimmunserums. Worauf das beruht, ist bisher mit Sicherheit nicht zu sagen. Naheliegend ist ja wieder die Annahme, daß das HX 19-Immunsrum doch ein Z₁-Agglutinoid enthält, oder daß die O-Gruppe der Z₁-Bazillen, die diesen, wie später noch gezeigt werden wird, gegenüber den Immunseris anderer Tierspezies zukommt, doch auch im Kaninchenimmunserum vorhanden ist, und durch ihre Besetzung die Affinität der Z₁-Gruppe blockiert.

In einem Kreuzversuch zu dem vorhergehenden wurden Z₁-Bazillen mit Z₁-Immunsrum beladen und dann mit einem HX 19-Kaninchenimmunserum in Kontakt gebracht.

Bindungsversuch IV a (HX 19-Immunsrum).

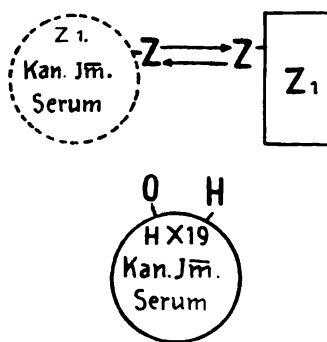


Fig. 4 a (15).

Z₁-Bazillen werden mit Z₁-Kaninchenimmunserum K 5 völlig beladen. Dann werden sie mit HX 19-Kaninchenimmunserum G 2 2 Stunden bei 37° digeriert (Fig. 4 a). Der Abguß wird ausgewertet mit OX 19-HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle IV a).

Ergebnis: Mit Z₁-Kaninchenimmunserum völlig beladene Z₁-Bazillen entziehen dem HX 19-Kaninchenimmunserum kein Agglutinin mehr.

Tabelle IV a.

| HX 19-Kaninchenimmuns- serum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | NaCl |
|--|----------------|----------------------|-------------------|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, be- laden mit Z ₁ -Immuns- ser. | OX 19 | + | + | + | (+) | — | — | — |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, be- laden mit Z ₁ -Immuns- ser. | HX 19 | + | + | (+) | (±) | — | — | — |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, be- laden mit Z ₁ -Immuns- ser. | HX 2 | + | + | + | + | (+) | — | — |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, be- laden mit Z ₁ -Immuns- ser. | Z ₁ | (+) | (± ¹) | — | — | — | — | — |
| HX 19-Kan.-Imm.-Ser. nativ | OX 19 | + | + | + | (+) | — | — | — |
| HX 19-Kan.-Imm.-Ser. „ | HX 19 | + | + | + | (±) | — | — | — |
| HX 19-Kan.-Imm.-Ser. „ | HX 2 | + | + | + | + | (+) | — | — |
| HX 19-Kan.-Imm.-Ser. „ | Z ₁ | — | — | — | — | — | — | — |

Im Gegensatz zu dem HX 19-Kaninchenimmuns-
serum ist das HX 2-Kaninchenimmuns-
serum imstande, den Z₁-Bazillus zu
verklumpen. Und zwar ist diese Agglutination eine feinflockige. Auch die Agglutination durch das Z₁-Kaninchen-
immuns-
serum ist eine feinflockige, und es wäre also die An-
nahme zunächst die einfachste, daß das HX 2-Kaninchen-
immuns-
serum ein Z₁-Agglutinin enthält. Es müßte natürlich
auch das H-Agglutinin den Z₁-Bazillus agglutinieren unter der
Voraussetzung, daß er eine entsprechende H-Gruppe hat.
Dann aber wäre doch jedenfalls dieses auf Z₁ eingestellte
H-Agglutinin verschieden von dem H-Agglutinin des X 2-
Serums für X 19, denn dieses ist ein grobflockendes. Wir
müssen tatsächlich zunächst annehmen, daß das HX 2-Ka-
ninchenimmuns-
serum ein Z₁-Agglutinin enthält. Dafür spricht
das Ergebnis des nachstehenden Bindungsversuchs, der zeigt,
daß mit HX 2-Immuns-
serum beladene Z₁-Bazillen einem Z₁-
Kaninchenimmuns-
serum kein Z₁-Agglutinin mehr entziehen. Es
tritt nur eine Verzögerung in der Agglutination der beladenen
Z₁-Bazillen ein.

**Bindungsversuch V (HX 2-Kaninchenimmuns-
serum).**

Z₁-Bazillen werden mit HX 2-Kaninchenimmuns-
serum G 7 völlig be-
laden. Dann werden sie mit Z₁-Kaninchenimmuns-
serum K 5 2 Stunden

1) Diese schwache Verklumpung durch den Abguß im Gegensatz zur
vollkommenen Wirkungslosigkeit des nativen HX 19-Kaninchenimmuns-
serums dürfte wohl auf Abspaltung von Z₁-Agglutinin von den mit
Z₁-Immuns-
serum beladenen Bazillen zurückzuführen sein.

bei 37° digeriert (Fig. 5). Der Abguß wird ausgewertet mit Z₁- und HX 2-Bazillen (Tabelle V).

Tabelle V.

| Z ₁ -Kaninchenimmuns- serum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl | |
|---|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | | 5000 |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen nach Kontakt mit XH 2- Immuns-erum | Z ₁ | (+) | (±) | (±) | — | — | — | — |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen nach Kontakt mit HX 2- Immuns-erum | HX 2 | — | — | — | — | — | — | — |
| Serum nativ | Z ₁ | + | + | + | + | (+) | — | — |
| Serum nativ | HX 2 | — | — | — | — | — | — | — |

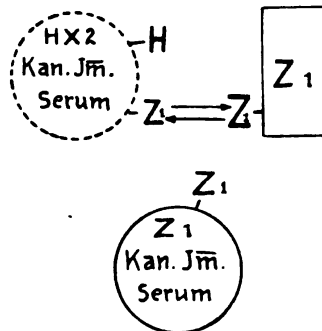


Fig. 5 (16).

Ergebnis: Mit HX 2-Kaninchenimmuns-erum völlig beladene Z₁-Bazillen entziehen dem Z₁-Kaninchenimmuns-erum scheinbar (bei früher Ablesung) einen Teil der Agglutinine für Z₁-Bazillen.

Die Ablesung nach 24 Stunden ergibt jedoch folgendes Bild:

| Z ₁ -Kaninchenimmun- serum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl | |
|---|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | | 5000 |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen nach Kontakt mit HX 2-Kan- Immuns-erum | Z ₁ | + | + | + | + | (±) | — | — |
| Serum nativ | Z ₁ | + | + | + | + | (±) | — | — |

Die Ablesung nach 24 Stunden zeigt, daß es sich nur um eine verzögerte Agglutination handelt, es wird dem Z₁-Serum kein Agglutinin entzogen.

Bindungsversuch Va (Kreuzversuch).

Z₁-Bazillen werden mit Z₁-Kaninchenimmuns-erum K 5 völlig beladen. Dann werden sie mit HX 2-Kaninchenimmuns-erum G 7 2 Stunden bei 37° digeriert (Fig. 5a). Der Abguß wird ausgewertet mit HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle Va).

Tabelle V a.

| HX 2-Kaninchenimmunserum | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | NaCl |
|---|----------------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, beladen mit Z ₁ -Immuns. | HX 19 | + | + | + | (+) | - | - | - |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, beladen mit Z ₁ -Immuns. | HX 2 | + | + | + | (+) | (±) | - | - |
| Abguß von Z ₁ -Bazillen, beladen mit Z ₁ -Immuns. | Z ₁ | + | + | (+) | (±) | - | - | - |
| Serum nativ | HX 19 | + | + | + | + | (+) | - | - |
| Serum nativ | HX 2 | + | + | + | + | (+) | - | - |
| Serum nativ | Z ₁ | + | + | (±) | (±) | - | - | - |

Ergebnis: Mit Z₁-Kaninchenimmunserum völlig beladene Z₁-Bazillen entziehen dem HX 2-Kaninchenimmunserum kein Agglutinin.

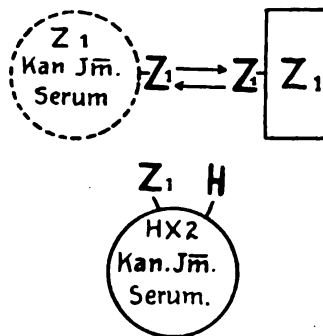


Fig. 5 a (17).

D. Das Verhalten der agglutinierenden Sera anderer Tierspezies, insbesondere des Huhnes gegenüber X 19- und Z₁-Bazillen.

a) Bildungsversuche.

Obwohl die bisherigen Bindungsversuche gewisse Beziehungen zwischen Fleckfieber-Patientenserum und Z₁-Bazillus ergeben haben, so zeigen doch die Bildungsversuche beim Kaninchen mit der absoluten Spezifität der entsprechenden Sera scheinbar eine prinzipielle Verschiedenheit, die ja auch Neukirch und Kreuzscher zu ihrer ablehnenden Stellung gegenüber den Schlußfolgerungen Friedbergers aus den X 19-Bindungsversuchen veranlaßt haben. Dazu kommt noch der biologische Unterschied des Farbstoffbildungsvermögens bei Z₁, dessen Bedeutung jedoch, wie wir schon oben (p. 265) auseinandergesetzt haben, wohl nur eine rein sekundäre ist.

Sind nun aber die Agglutininbildungsversuche beim Kaninchen wirklich zwingend und allgemeingültig?

Bei den Folgerungen, die wir ganz allgemein aus unseren serologischen Untersuchungen ziehen, besteht der Mißstand, daß wir sie auf die Ergebnisse stützen, die wir im wesentlichen im Laboratorium ja nur mit zwei Tierspezies gewinnen, mit dem Kaninchen und dem Meerschweinchen. Namentlich zur aktiven Immunisierung wird im Laboratorium so gut wie ausschließlich nur das Kaninchen benutzt, in der Praxis allenfalls noch das Pferd. Auf diese Weise muß uns der Bildungsversuch nur sehr einseitige Ergebnisse bezüglich des Rezeptorenapparates des verwendeten Bazillus geben, denn es können natürlich unbeschadet der Mannigfaltigkeit von dessen Rezeptoren im Sinne unserer Vorstellungen nur diejenigen Agglutinine entstehen, die bei der betreffenden Tierspezies passende haptophore Gruppen finden. So wird uns der Bildungsversuch, beim Kaninchen allein, nur immer ein höchst unvollkommenes Bild der Rezeptorenverhältnisse gewähren.

Die Bedeutung, die die verschiedenen Tierspezies, unter Umständen sogar die verschiedenen Individuen, für die Beschaffenheit des jeweiligen Agglutinins haben, ist den Serologen bekannt. Nicht nur die Höhe des Titers, sondern auch seine Breite (Friedberger und Moreschi)¹⁾ schwanken individuell, vor allen Dingen aber bei verschiedenen Tierspezies.

Die ältesten hierher gehörigen Versuche sind wohl die von Wassermann²⁾, der bei Vergleich von Coliimmunseris, die mit ein und demselben Stamm bei Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben gewonnen waren, ein ganz differentes Verhalten gegenüber 15 verschiedenen geprüften Colistämmen feststellte. Aehnliche Ergebnisse erhielt R. Pfeiffer³⁾ bei Immunisierung von Huhn, Hund und Kaninchen, mit ein und demselben Cholerastamm.

Auch auf die Versuche Friedbergers⁴⁾ über Agglutininrezeptoren eines frisch aus dem Stuhl gezüchteten Typhusstammes mit verschiedenen Antiseris, bei denen übrigens, soweit wir aus der Literatur sehen, zuerst der Unterschied

1) Friedberger und Moreschi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 1905.

2) Wassermann, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 42, 1903, S. 262.

3) R. Pfeiffer, Festschrift zu Ehren Robert Kochs, 1904.

4) Friedberger, Salkowski-Festschrift, 1905.

zwischen groben und feinen Agglutininen beobachtet wurde, sei hier verwiesen.

Wir sagten uns nun, daß, wenn schon beim Kaninchen Z_1 -Agglutinin absolut spezifisch ist, so daß auf Grund des Bildungsversuchs dem Z_1 -Bazillus nur diese eine Art von Rezeptoren zukommt, dann doch bei anderen Tierspezies die Verhältnisse wesentlich anders liegen könnten und möglicherweise noch weitgehender die Beziehungen von Z_1 zu den X-Stämmen sich offenbaren könnten, als es sich durch die schon vorliegenden Bindungsversuche bei vorurteilsloser Betrachtung ergab.

Wir beschlossen deshalb, außer beim Kaninchen bei einer Reihe von verschiedenen anderen Tierarten Immunisierungsversuche mit Z_1 -Bazillen anzustellen.

1. Versuch mit Meerschweinchen.

Das Meerschweinchen ist an sich ein schlechter Agglutininbildner, wie auch namentlich die Versuche mit den X-Stämmen dargetan haben. In unseren Versuchen aber kam es nicht so sehr auf die Höhe als auf die Breite des Titers an. Wir haben deshalb eine Reihe von Meerschweinchen in 8-tägigen Intervallen mit $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$, 1 Oese Z_1 bzw. X 19, OX 19 (bei 60° abgetötet) ip. immunisiert. Blutentnahme 8 Tage nach der letzten Vorbehandlung. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle VI auf p. 286.

Es ergibt sich, daß die mit Z_1 immunisierten Meerschweinchen sich etwa in gleicher Weise verhielten, wie die Kaninchen, daß heißt, im wesentlichen nur Agglutinine für Z_1 bildeten. Nur ein Z_1 -Serum (Meerschw. 13) zeigte einmal gegen das Ende der Immunisierung bei 24-stündiger Ablesung eine ganz schwache Agglutination für OX 19 1:100. Auch das mit HX 19 immunisierte Tier (No. 15) zeigte einmal und erst nach 24 Stunden eine geringe Agglutination für Z_1 , das OX-Tier (No. 16) überhaupt nicht. Hier haben wir also keinen prinzipiellen Unterschied gegenüber dem Kaninchen, sondern auch beim Meerschweinchen tritt die Sonderstellung des Z_1 -Bazillus im Bildungsversuch deutlich in Erscheinung.

Tabelle VI.
Aktive Immunisierung von Meerschweinchen mit HX 19-, OX 19-, Z₁-Bazillen.

| Datum | No. und Gewicht | Behandlung | Titer für | | | |
|------------|-----------------|---|-----------|--------|----------------|--------|
| | | | OX 19 | HX 19 | Z ₁ | HX 2 |
| 28. VII. | Me. 15, 330 g | $\frac{1}{10}$ Oe. HX 19 1 Std. 60° iv. | — | — | — | *) |
| 7. VIII. | dgl. | $\frac{1}{5}$ " " " ip. | 1:100 | 1:100 | — | . |
| 16. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | 1:100 | 1:100 | — | . |
| 24. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | 1:100 | 1:100 | — | . |
| 31. VIII. | " | 1 " " " " | 1:200 | 1:100 | — | . |
| 7. IX. | " | 1 " " " " | 1:200 | 1:100 | — | . |
| 15. IX. | " | 1 " " " " | 1:100 | 1:100 | 1:100 (±) | . |
| 22. IX. | " | " " " " " | 1:500 | 1:500 | — | . |
| 21. I. 22. | nachträgliche | Prüfung auf HX 2 | 1:500 | 1:1000 | — | 1:1000 |
| 28. VII. | Me. 16, 300 g | $\frac{1}{10}$ Oe. OX 19 1 Std. 60° iv. | — | — | — | . |
| 7. VIII. | dgl. | $\frac{1}{5}$ " " " ip. | — | 1:200 | — | . |
| 16. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | — | 1:100 | — | . |
| 24. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | — | 1:100 | — | . |
| 31. VIII. | " | 1 " " " " | 1:100 | 1:100 | — | . |
| 7. IX. | " | 1 " " " " | 1:200 | 1:200 | — | . |
| 15. IX. | " | 1 " " " " | 1:100 | 1:100 | — | . |
| 22. IX. | " | " " " " " | 1:200 | 1:200 | — | . |
| 23. VII. | Me. 13, 330 g | $\frac{1}{10}$ Oe. Kreuzscher Z ₁ , 1 Std. 60° iv. | — | — | — | . |
| 30. VII. | dgl. | $\frac{1}{10}$ " " " ip. | — | — | — | . |
| 8. VIII. | " | $\frac{1}{5}$ " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 16. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | — | — | 1:100 | . |
| 24. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 31. VIII. | " | 1 " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 7. IX. | " | 1 " " " " | (1:100) | — | 1:200 | . |
| 14. IX. | " | 1 " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 22. IX. | " | " " " " " | — | — | 1:10 000 | . |
| 21. I. 22. | nachträgliche | Prüfung auf HX 2 | — | — | 1:2 000 | — |
| 23. VII. | Me. 14, 330 g | $\frac{1}{10}$ Oe. Kreuzscher Z ₁ , 1 Std. 60° iv. | — | — | — | . |
| 30. VII. | dgl. | $\frac{1}{10}$ " " " ip. | — | — | — | . |
| 8. VIII. | " | $\frac{1}{5}$ " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 16. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 24. VIII. | " | $\frac{1}{2}$ " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 31. VIII. | " | 1 " " " " | — | — | 1:500 | . |
| 7. IX. | " | 1 " " " " | — | — | 1:200 | . |
| 15. IX. | " | 1 " " " " | — | — | 1:500 | . |
| 22. IX. | " | " " " " " | — | — | 1:2000 | . |
| 21. I. 22. | nachträgliche | Prüfung auf HX 2 | — | — | 1:1000 | — |

*) . = nicht untersucht.

2. Versuche an Hühnern.

Wesentlich anders aber lagen die Verhältnisse bei Immunisierung einer Reihe von Hühnern mit Z₁, OX 19, HX 19 und HX 2. Normalagglutinine fehlten bei den Hühnern für X- und Z₁-Bazillen.

Ausgewachsene junge Hühner (1800–2000 g) wurden mit HX 19, OX 19 bzw. Z₁- und HX 2-Bazillen behandelt. Das Ergebnis zeigen die nachstehenden Protokolle.

Tabelle VII.

Aktive Immunisierung von Hühnern mit HX 19-, OX 19-, Z₁- und HX 2-Bazillen.

| Datum | Art u. No. d. Tieres | Gewicht | Behandlung | Titer für | | | |
|--------------|----------------------|---------|--|-----------|----------|----------------|----------|
| | | | | OX 19 | HX 19 | Z ₁ | HX 2 |
| 29. VII. | Huhn 1 | 1800 | $\frac{1}{10}$ Oese HX 19 1 Std. 60° i.v. | | | | |
| 8. VIII. | dgl. | | $\frac{1}{10}$ " " " " " | | | | |
| 16. VIII. | " | | $\frac{1}{5}$ " " " " " | | | | |
| 24. VIII. | " | | $\frac{1}{2}$ " " " " " | 1:200 | 1:100 | 1:100 | |
| 2. IX. | " | | 1 " " " " " | 1:500 | 1:200 | 1:200 | |
| 10. IX. | " | | 1 " " " " " | 1:500 | 1:100 | 1:100 | |
| 16. IX. | " | | | 1:20 000 | 1:5000 | 1:500 | |
| 1. XII. | " | | | 1:5000 | 1:2000 | 1:500 | 1:500 |
| 30. VII. | Huhn 2 | 2000 | $\frac{1}{10}$ Oese OX 19 1 Std. 60° i.v. | | | | |
| 8. VIII. | dgl. | | $\frac{1}{10}$ " " " " " | | | | |
| 16. VIII. | " | | $\frac{1}{5}$ " " " " " | | | | |
| 25. VIII. | " | | $\frac{1}{2}$ " " " " " | 1:500 | 1:200 | 1:200 | |
| 2. IX. | " | | 1 " " " " " | 1:1000 | 1:500 | 1:500 | |
| 10. IX. | " | | 1 " " " " " | 1:500 | 1:200 | 1:100 | |
| 16. IX. | " | | | 1:1000 | 1:10 000 | 1:200 | |
| 11. XII. | " | | | 1:5000 | 1:2000 | 1:500 | 1:500 |
| 13. VIII. 21 | Huhn 3 | 1900 | $\frac{1}{10}$ Oese Z ₁ 1 Std. 60° i.v. | | | | |
| 21. VIII. | dgl. | | $\frac{1}{5}$ " " " " " | | | | |
| 29. VIII. | " | | $\frac{1}{2}$ " " " " " | | | | |
| 5. IX. | " | | 1 " " " " " | 1:100 | — | 1:200 | |
| 12. IX. | " | | | 1:500 | 1:200 | 1:5000 | |
| 11. XII. | " | | | 1:1000 | 1:1000 | 1:500 | 1:500 |
| 23. XII. | Huhn 4 | 1000 | $\frac{1}{10}$ Oese HX 2 1 Std. 60° i.v. | | | | |
| 30. XII. | dgl. | | $\frac{1}{5}$ " " " " " | | | | |
| 6. I. 22 | " | | $\frac{1}{2}$ " " " " " | 1:1000 | — | (1:100) | 1:500 |
| 13. I. | " | | 1 " " " " " | 1:5000 | — | 1:200 | 1:10 000 |
| 20. I. | " | | | 1:10 000 | — | 1:100 | 1:5000 |

Es ergibt sich, daß, im strikten Gegensatz zum Kaninchen, das mit HX 19 immunisierte Huhn nicht nur für HX 19-, OX 19- und HX 2-Agglutinine bildet, sondern zunächst auch für Z₁ annähernd soviel wie für X 19. Allerdings ist dann im Verlauf der Immunisierung der Titer für HX 19 und OX 19 stärker angestiegen und der für Z₁ etwas zurückgegangen.

Bei dem mit OX 19 immunisierten Huhn ist gleichfalls anfangs der Titer für X 19 und Z₁ der gleiche, der für Z₁ folgt nun aber später nicht mehr der Steigerung des Titers für HX 19 und OX 19. Auch hier haben wir Titer für HX 2.

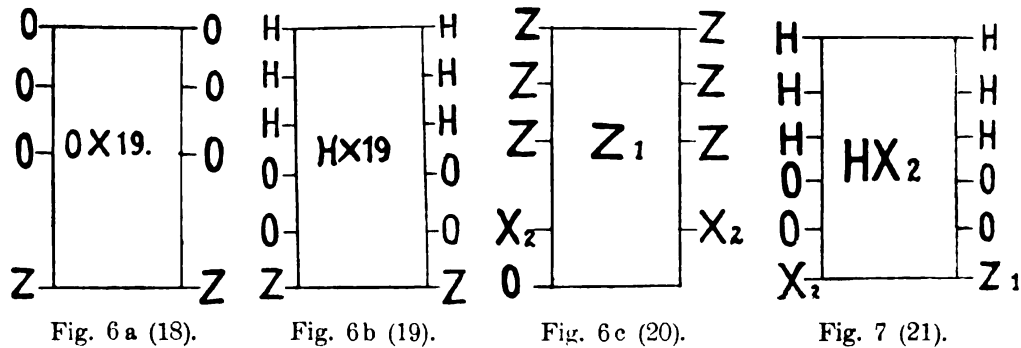
Bei dem mit Z₁ behandelten Tier tritt gleichfalls Titer für HX 19 und OX 19 auf, für X 2 annähernd in gleicher Stärke; doch handelt es sich hier, wie das auch schon für das Z₁-Agglutinin des X 2-Kaninchenimmenserums erwähnt ist, im Gegensatz

zu dem X 2-Agglutinin gegen OX 19 und HX 19 um ein feinflockendes Agglutinin, das wir deswegen weiterhin nicht mehr als HX 2, sondern im Gegensatz zu dem grobflockenden HX 2-Agglutinin als „X 2“-Agglutinin schlechthin bezeichnen wollen.

Das mit HX 2 behandelte Huhn gibt gleichfalls einen Titer für HX 2 und OX 19 in annähernd gleicher Stärke, jedoch ist die Agglutination mit OX 19 nicht rein feinflockend, so daß also der OX 19 auch H enthält. Ebenso tritt ein geringer Titer für Z₁ auf, wiederum nur feine Agglutination.

Ein HX 19-Stamm dagegen wird gar nicht agglutiniert.

Wir können uns auf Grund dieser Bildungsversuche und des Titers der Sera ein Schema vom Rezeptorenapparat der Bakterien einerseits und den Agglutininen der Sera andererseits entwerfen. Hierbei sind auch die quantitativen Beziehungen zwischen O, H, Z₁ und X 2-Antigenen wie Antikörpern durch entsprechende Zahl, bzw. Größendarstellung der Gruppen andeutbar. Kursiv-H am Schema des Serums bedeutet grobes Agglutinin; die Antiquabuchstaben feines Agglutinin. Es ergibt sich dann das nachstehende Schema für die Bakterien (s. Fig. 6 a–7) bzw. für die Sera (s. Fig. 8–10 a).



Nach der Serumentnahme ging der Titer, wie das bei Antiseris, besonders beim Huhn, vorkommt, bis zu einem gewissen Grade wieder zurück, blieb aber dann konstant¹⁾. Die

1) Auch die präzipitierenden Sera gegen Kanincheneiweiß, wie wir sie beim Huhn für forensische Zwecke herstellen, zeigen in der Regel sehr bald eine Abnahme ihres Titers.

Titererhöhe bei den einzelnen Seris, wie sie in den jetzt zu besprechenden Bindungsversuchen in Frage kommt, zeigen die nachstehenden Tabellen (Tabelle VIII—X a).

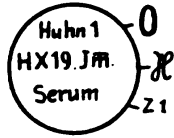


Fig. 8 (22).

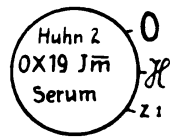


Fig. 9 (23).

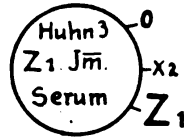


Fig. 10 (24).

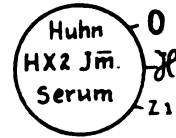


Fig. 10a (25).

Tabelle VIII.

Huhn 1, immunisiert mit HX 19, ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen. (Fig. 8.)

| Bakterien | Typus | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | | | NaCl |
|----------------|-------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|---|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | | |
| OX 19 | f | + | + | + | + | + | (±) | — | — | |
| HX 19 | g+f | + | + | + | + | (+) | — | — | — | |
| HX 2 | g | + | + | (±) | (±) | — | — | — | — | |
| Z ₁ | f | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — | |

Tabelle IX.

Huhn 2, immunisiert mit OX 19, ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen. (Fig. 9.)

| Bakterien | Typus | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | | | NaCl |
|----------------|-------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|---|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | | |
| OX 19 | f | + | + | + | + | (±) | (±) | — | — | |
| HX 19 | g+f | + | + | + | (+) | (±) | — | — | — | |
| HX 2 | g | + | + | (±) | — | — | — | — | — | |
| Z ₁ | f | + | (±) | (±) | — | — | — | — | — | |

Tabelle X.

Huhn 3, immunisiert mit Z₁, ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen. (Fig. 10.)

| Bakterien | Typus | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | | | NaCl |
|----------------|-------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|---|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | | |
| OX 19 | f | + | + | (+) | (±) | — | — | — | — | |
| HX 19 | f | + | + | (+) | (±) | — | — | — | — | |
| HX 2 | f | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — | |
| Z ₁ | f | + | + | + | (+) | (+) | (±) | — | — | |

Tabelle X a.

Huhn 4, immunisiert mit HX 2, ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen. (Fig. 10 a.)

| Bakterien | Typus | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | NaCl |
|----------------|-------|----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | |
| OX 19 | f+g | + | + | (+) | (+) | (±) | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 2 | g | + | + | + | + | + | (±) | — | — |
| Z ₁ | f | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — |

Was den Typus der Agglutination anbelangt, so ist selbstverständlich das Agglutinin für OX 19 bei allen Seris fein, für HX 19 grob und fein, für HX 2 grob, für Z₁ ist es fein. In dieser Beziehung bildet aber das Serum des mit Z₁ immunisierten Huhnes insofern eine prinzipielle Ausnahme, als es nur feine Agglutinine enthält. Infolgedessen möchten wir annehmen, daß die lediglich feine Agglutination des HX 19 durch seine O-Gruppe bedingt ist. Die lediglich feine Agglutination des HX 2 bei diesem Serum im Gegensatz zu den beiden anderen spricht dafür, daß nicht dieselbe Gruppe des HX 2 hier in Aktion tritt wie dort, weshalb wir, wie bereits erwähnt, das Agglutinin und die entsprechende Bakteriengruppe auch als X 2 schlechthin bezeichnet haben.

b) Bindungsversuche.

Es fragt sich nun, inwieweit die auf Grund der Bindungsversuche gewonnenen Schemata im Bindungsversuch eine Bestätigung erfahren.

Diese Bindungsversuche wurden mit den 4 Typen von Hühnerimmunseris angestellt (HX 19-, OX 19-, HX 2- und Z₁-Immunserum). Die Bindung erfolgte jedesmal mit dem Bazillus OX 19, HX 19, HX 2 und Z₁. Auch die Prüfung der Abgüsse geschah mit allen Stämmen.

Die Technik war übereinstimmend in sämtlichen Versuchen die folgende:

Zur Bindung wurde je eine 24-stündige Agarplatte des betreffenden Bakterienstammes mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Dann wurde zentrifugiert und der Bodensatz der Bakterien mit 5 ccm des jeweiligen Hühnerantiserums in der Verdünnung 1:100 2 Stunden bei 37° unter wiederholtem Aufschütteln digeriert. Dann

wurde wieder zentrifugiert und die Abgüsse wurden gegenüber den einzelnen Bakterien geprüft.

Um bei dem für einzelne Stämme geringen Titer der Sera rein physikalische Adsorptionserscheinungen sicher auszuschließen, wurde im Vorversuch ermittelt, daß Digerierung der Sera mit entsprechenden Mengen Typhusbazillen unter identischen Bedingungen keine nachweisbare Adsorption der zu untersuchenden Agglutinine zur Folge hatte.

a) Bindungsversuche mit dem HX 19-Immenserum vom Huhn.

Bindungsversuch 6.

Reine OX 19- Bazillen nativ und OX 19-Bazillen, die 1 Stunde bei 100° im Dampf gehalten werden, werden mit HX 19-Immenserum vom Huhn digeriert (Fig. 11), die Abgüsse werden ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XI).

Tabelle XI.

| | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | | NaCl |
|---|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|--------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | 20 000 | |
| HX 19-Imm.-Ser., dig. mit OX 19- 100°-Bazillen | OX 19 | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | HX 19 | + | + | (±) | — | — | — | — | — | — |
| | HX 2 | + | + | + | (+) | (±) | — | — | — | — |
| | Z ₁ | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 19-Imm.-Ser., dig. mit reinen OX 19-Bazillen | OX 19 | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | HX 19 | + | + | + | (±) | — | — | — | — | — |
| | HX 2 | + | + | + | (+) | (+) | — | — | — | — |
| | Z ₁ | (+) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 19-Imm.-Ser. nativ | OX 19 | + | + | + | + | + | + | (±) | — | — |
| | HX 19 | + | + | + | + | + | + | (±) | — | — |
| | HX 2 | + | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — |
| | Z ₁ | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — | — |

Da die nachstehenden Bindungsversuche 7, 8 und 9 zu anderer Zeit ausgeführt wurden, ist ihnen als Kontrolle die gleichzeitig gewonnene Tabelle XIV a beigefügt worden, nach der das Immenserum einen etwas geringeren Titer aufweist.

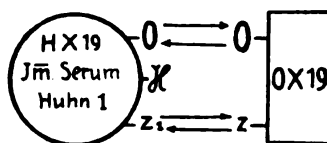


Fig. 11 (26).

Bindungsversuch 7.

HX 19-Immuns Serum Huhn 1 digeriert mit HX 19 (Fig. 12), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XII).

Tabelle XII.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | 20000 | 50000 | |
| OX 19 | (+) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 19 | (+) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | (+) | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |

Bindungsversuch 8.

HX 19-Immuns Serum Huhn 1 digeriert mit HX 2 (Fig. 13), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XIII).

Tabelle XIII.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | 20000 | 50000 | |
| OX 19 | + | + | + | + | + | (±) | — | — | — | — |
| HX 19 | + | + | + | + | (±) | — | — | — | — | — |
| HX 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | + | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — | — |

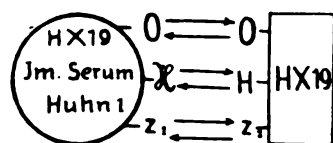


Fig. 12 (27).

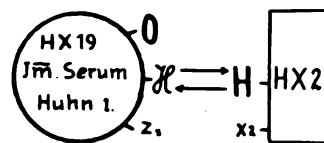


Fig. 13 (28).

Bindungsversuch 9.

HX 19-Immuns Serum Huhn 1 digeriert mit Z₁ (Fig. 14), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XIV).

Tabelle XIV.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | 20000 | 50000 | |
| OX 19 | + | + | + | + | (+) | — | — | — | — | — |
| HX 19 | + | + | + | + | (+) | — | — | — | — | — |
| HX 2 | + | (+) | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Natives HX 19-Immunsrum Huhn 1.

Tabelle XIV a.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10000 | 20000 | 50000 | |
| OX 19 | + | + | + | + | + | (±) | — | — | — | — |
| HX 19 | + | + | + | + | (+) | — | — | — | — | — |
| HX 2 | + | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — | — | — |

Ergebnis: Dem HX 19-Immunsrum Huhn 1 entziehen OX 19-Bazillen fast alle Agglutinine für OX 19- und Z₁-Bazillen, keine für HX 2 und für HX 19-Bazillen einen großen Teil (Fig. 11).

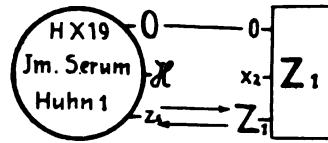


Fig. 14 (29).

HX 19-Bazillen entziehen fast alle Agglutinine für OX 19 und HX 19, alle für HX 2 und für Z₁-Bazillen einen großen Teil (Fig. 12).

HX 2-Bazillen entziehen alle Agglutinine für HX 2, keine für OX 19, HX 19 und Z₁ (Fig. 13).

Z₁-Bazillen entziehen alle Agglutinine für Z₁, keine Agglutinine für HX 19 und HX 2, fast keine für OX 19.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß auch im Bindungsversuch das auf Grund des Bildungsversuchs aufgestellte Schema der Bakterien sich bestätigt. Namentlich zeigt sich, daß dem OX 19-Bazillus und dem HX 19-Bazillus Z₁-Rezeptoren eigen sind, während der Z₁-Bazillus, der ja, wie wir gesehen haben, ein Agglutinin für X 19 bildet, doch offenbar nur sehr wenig O-Rezeptoren hat, so daß er dem X 19-Immunsrum nur verschwindende Mengen davon entzieht.

β) Bindungsversuche mit OX 19-Immunsrum vom Huhn.

Analoge Versuche, wie die oben besprochenen, wurden mit dem OX 19-Immunsrum vom Huhn wiederholt.

Bindungsversuch 10.

OX 19-Bazillen, die eine Stunde bei 100° im Dampf gehalten wurden und reine OX 19-Bazillen nativ werden mit OX 19-Immunsrum Huhn 2 bei 37° digeriert (Fig. 15). Die Abgüsse werden ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XV).

Tabelle XV.

| | Geprüft mit | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | | | NaCl |
|--|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|--------|--------|------|
| | | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | 20 000 | 50 000 | |
| OX 19-Immuns. dig. mit OX 19 100 ^o -Bazillen dgl. | OX 19 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | HX 19 | + | (+) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | HX 2 | + | (+) | (±) | — | — | — | — | — | — | — |
| | Z ₁ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| OX 19-Immuns. dig. mit nativen OX 19-Bazillen dgl. | OX 19 | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | HX 19 | (+) | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | HX 2 | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | Z ₁ | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| OX 19-Immuns. nativ dgl. | OX 19 | + | + | + | + | + | + | (+) | — | — | — |
| | HX 19 | + | + | + | + | + | (±) | — | — | — | — |
| | HX 2 | + | + | + | + | + | (+) | (+) | (±) | — | — |
| | Z ₁ | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |

= Ablesung nach 24 Stunden

| | | | | | | | | | | | |
|---|----------------|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|
| OX 19-Immuns. dig. mit nativen OX 19-Bazillen | Z ₁ | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| OX 19-Immuns. nativ | Z ₁ | + | (±) | (±) | — | — | — | — | — | — | — |

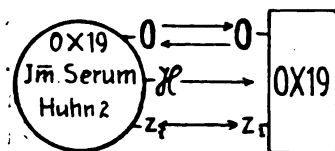


Fig. 15 (30).

Da die Bindungsversuche 11, 12, 13 nicht gleichzeitig mit den anderen ausgeführt wurden, ist ihnen als Kontrolle Tabelle XVIIIa beigefügt worden, nach der das OX 19-Immuns. einen etwas geringeren Titer aufweist, als oben.

Bindungsversuch 11.

OX 19-Immuns. Huhn 2 digeriert mit HX 19 (Fig. 6), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: 100—5000 | NaCl |
|----------------|-------------------------------|------|
| OX 19 | — | — |
| HX 19 | — | — |
| HX 2 | — | — |
| Z ₁ | — | — |

Bindungsversuch 12.

OX 19-Immunsrum Huhn 2 digeriert mit HX 2 (Fig. 17), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XVII).

Tabelle XVII.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| OX 19 | + | + | + | + | (+) | — | — |
| HX 19 | + | + | + | (+) | — | — | — |
| HX 2 | — | — | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | + | (±) | — | — | — | — | — |

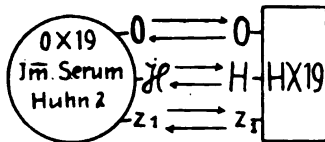


Fig. 16 (31).

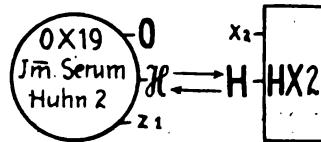


Fig. 17 (32).

Bindungsversuch 13.

OX 19-Immuserum Huhn 2 digeriert mit Z₁ (Fig. 18) angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XVIII).

Tabelle XVIII.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | |
| OX 19 | + | + | + | (+) | — | — |
| HX 19 | + | + | + | (+) | — | — |
| HX 2 | + | + | (+) | — | — | — |
| Z ₁ | — | — | — | — | — | — |

Natives OX 19-Immunsrum Huhn 2.

Tabelle XVIII a.

| Bakterieu | Serumverdünnungen 1: | | | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | |
| OX 19 | + | + | + | + | (±) | (±) | — | |
| HX 19 | + | + | + | (+) | (±) | — | — | |
| HX 2 | + | + | (±) | — | — | — | — | |
| Z ₁ | + | (±) | (±) | — | — | — | — | |

Ergebnis: Dem OX 19-Immunsrum vom Huhn entzieht der OX 19-Bazillus nativ und gekocht alles O- und Z₁-Agglutinin (Fig. 15). Für das H-Agglutinin des OX 19-

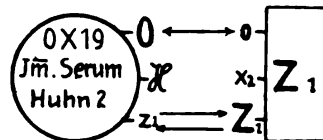


Fig. 18 (33).

Immunserums dürfte der „reine“ OX 19-Bazillus und namentlich der bei 100° gekochte eigentlich keine Affinität besitzen. Wir haben das auch tatsächlich beim Bindungsversuch mit HX 19-Immunserum vom Huhn gesehen (Fig. 11). Dagegen wird hier (beim OX 19-Immunserum vom Huhn) gleichwohl unerwarteterweise das H-Agglutinin, das ja das OX 19-Immunserum beim Kaninchen bekanntlich auch besitzt, vom OX 19-Bazillus, sogar vom gekochten OX 19-Bazillus verankert. Offenbar besitzt also der OX 19-Bazillus doch noch, entsprechend diesem Verhalten im Bindungsversuch, H-Gruppen, die nun ihrerseits eine stärkere Affinität zum H-Agglutinin des OX 19-Immunserums als zu dem des HX 19-Immunserums besitzen. Der HX 19-Bazillus entzieht alles Agglutinin für O, H und Z₁ (Fig. 16), der HX 2-Bazillus nur das H-Agglutinin, nicht aber O und Z₁ (Fig. 17), der Z₁-Bazillus nur ganz wenig O-Agglutinine und alle Z₁-Agglutinine, nicht aber H (Fig. 18).

Auch die Bindungsversuche mit dem OX 19-Immunserum des Huhnes stimmen also mit dem auf Grund der Bindungsversuche aufgestellten Rezeptorenschema überein.

γ) Bindungsversuche mit Z₁-Immunserum vom Huhn.

Da nach den Ergebnissen der Bindungsversuche das Z₁-Immunserum vom Huhn im Gegensatz zu den übrigen auch ein besonders feines Agglutinin für X 2 enthält, so ist hier nicht die grobflockende H-Gruppe zu berücksichtigen, die ja fehlt, sondern die feinflockende X 2-Gruppe, von der angenommen werden muß, daß (s. oben p. 289) sie auch nicht mit der H-Gruppe des X 2-Bazillus, sondern mit einer besonderen hier als X 2 bezeichneten reagiert.

Bindungsversuch 14.

Z₁-Immunserum Huhn 3, digeriert mit OX 19- (Fig. 19), ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XIX).

Tabelle XIX.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-------|-----|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | |
| OX 19 | — | — | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — |
| HX 2 | (+) f | (+) f | — | — | — |
| Z ₁ | (+) | (±) | (±) | — | — |

Bindungsversuch 15.

Z₁-Immuns Serum Huhn 3, digeriert mit HX 19- (Fig. 20), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XX).

Tabelle XX.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|------|-----|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | |
| OX 19 | — | — | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — |
| HX 2 | (+)f | (+)f | — | — | — |
| Z ₁ | + | (+) | — | — | — |

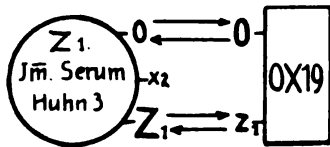


Fig. 19 (34).

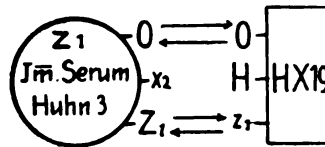


Fig. 20 (35).

Bindungsversuch 16.

Z₁-Immuns Serum Huhn 3, digeriert mit HX 2- (Fig. 21), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XXI).

Tabelle XXI.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | |
| OX 19 | — | — | — | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — | — |
| HX 2 | — | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | + | + | + | (±) | — | — |

Bindungsversuch 17.

Z₁-Immuns Serum Huhn 3, digeriert mit Z₁- (Fig. 22), angesetzt mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XXII).

Tabelle XXII.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|
| | 100 | 200 | 500 | |
| OX 19 | — | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — |
| HX 2 | — | — | — | — |
| Z ₁ | — | — | — | — |

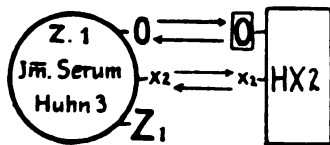


Fig. 21 (36).

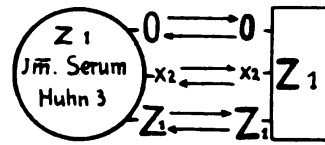


Fig. 22 (37).

Natives Z_1 -Immuneserum Huhn 3.

Tabelle XXIIa.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | | NaCl |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|------|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | |
| OX 19 | + f | (+) f | (±) f | — | — | — | — |
| HX 19 | + f | (+) f | (±) f | — | — | — | — |
| HX 2 | (+) f | (±) f | — | — | — | — | — |
| Z_1 | + f | + f | + f | (±) f | — | — | — |

Ergebnis: Dem Z_1 -Immuneserum Huhn 3 entziehen OX 19-Bazillen alle Agglutinine für OX 19- und HX 19-, keine für HX 2-, einen großen Teil für Z_1 -Bazillen (Fig. 19).

HX 19-Bazillen entziehen alle Agglutinine für OX 19- und HX 19, keine für HX 2, einen großen Teil für Z_1 (Fig. 20).

HX 2-Bazillen entziehen alle Agglutinine für OX 19, HX 19, HX 2, keine für Z_1 (Fig. 21).

Z_1 -Bazillen entziehen alle Agglutinine für OX 19, HX 19, HX 2 und Z_1 (Fig. 22).

Das Z_1 -Immuneserum enthält naturgemäß nur wenig O-Agglutinine, die von dem OX 19-Bazillus leicht absorbiert werden (Versuch 14). Neben diesem qualitativen Unterschied bestehen aber auch wesentliche quantitative Differenzen. Eine der wesentlichsten ist, daß das Z_1 -Immuneserum kein grobflockendes H-Agglutinin enthält, und auch die vorhergehenden Bindungsversuche haben bereits ergeben, daß der Z_1 -Bazillus keinen grobflockenden H-Rezeptor aufweist, denn er läßt sowohl das H des HX 19-Immuneserums (Bindungsversuch 9) wie auch das grobflockende H des OX 19-Immuneserums (Bindungsversuch 13) unbeeinflusst. Dagegen besitzt nur das Z_1 -Serum ein feinflockendes Agglutinin für die X 2-Gruppe der HX 2-Bazillen. Dies Agglutinin ist, wie schon erwähnt, da es feinflockend ist, nicht als HX 2, sondern einfach als X 2 bezeichnet. Es wird lediglich abgesättigt durch eine entsprechende Gruppe des HX 2-Bazillus.

Ferner aber muß das Z_1 -Immuneserum offenbar noch eine besondere Form eines O-Agglutinins enthalten, das auf eine bisher unbekannt O-Gruppe des HX 2 anspricht, denn aus dem HX 19- (Bindungsversuch 8 [Fig. 13]) wie aus dem OX 19-Immuneserum (Bindungsversuch 12 [Fig. 17]) hat HX 2 kein

O entzogen; aus dem Z₁-Immunserum aber wird vom HX 2 ein besonderes O entzogen, das in der graphischen Darstellung durch eine Umrandung gekennzeichnet ist (Fig. 21). Nach Kontakt mit HX 2 hat nämlich das Z₁-Immunserum vom Huhn im Gegensatz zu dem O- und HX 19-Immunserum vom Huhn kein O-Agglutinin mehr.

Daß die von uns als X 2 bezeichnete Gruppe nicht nur im X 2-Bazillus, sondern auch im Z₁-Bazillus vorhanden ist, ergibt der Bindungsversuch 17. Denn auch nach Kontakt des Z₁-Immunserums mit Z₁-Bazillen wird HX 2 nicht mehr feinflockig (durch X 2-Agglutinine) verklumpt.

δ) Bindungsversuche des HX 2-Immunserums vom Huhn.

Bindungsversuch 18.

HX 2-Immunserum vom Huhn, digeriert mit OX 19 (Fig. 23), ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Tabelle XXIII).

Tabelle XXIII.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | |
| OX 19 | — | — | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — |
| HX 2 | — | — | — | — | — |
| Z ₁ | — | — | — | — | — |

Bindungsversuch 19.

HX 2-Immunserum vom Huhn, digeriert mit HX 19 (Fig. 24), ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2-, Z₁-Bazillen (Tabelle XXIV).

Tabelle XXIV.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1: | | | | | NaCl |
|----------------|----------------------|-----|-----|------|------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | |
| OX 19 | (±) | (±) | (±) | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — | — |
| HX 2 | (±) | + | + | (+) | — | — |
| Z ₁ | (±) | — | — | — | — | — |

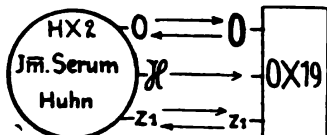


Fig. 23 (38).

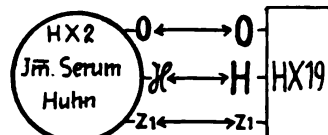


Fig. 24 (39).

Bindungsversuch 20.

HX 2-Immunsrum vom Huhn, digeriert mit HX 2 (Fig. 25), ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2-, Z₁- Bazillen (Tabelle XXV).

Tabelle XXV.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1 : | | | NaCl |
|----------------|-----------------------|-----|-----|------|
| | 100 | 200 | 500 | |
| OX 19 | (±) | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — |
| HX 2 | (±) | — | — | — |
| Z ₁ | — | — | — | — |

Bindungsversuch 21.

HX 2-Immunsrum vom Huhn, digeriert mit Z₁ (Fig. 26), ausgewertet mit OX 19-, HX 19-, HX 2-, Z₁- Bazillen (Tabelle XXVI).

Tabelle XXVI.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | | NaCl |
|----------------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | |
| OX 19 | + | + | + | (+) | (±) | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 2 | + | + | + | (+) | (+) | — | — | — |
| Z ₁ | — | — | — | — | — | — | — | — |

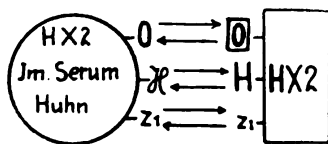


Fig. 25 (40).

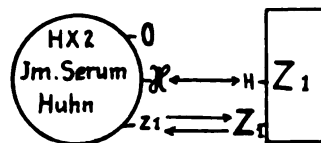


Fig. 26 (41).

Tabelle XXVIa.

Natives HX 2-Serum vom Huhn.

| Bakterien | Serumverdünnungen 1 : | | | | | | | NaCl |
|----------------|-----------------------|-----|-----|------|------|------|--------|------|
| | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 | 10 000 | |
| OX 19 | + f | + | (+) | — | — | — | — | — |
| HX 19 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| HX 2 | +(g+f) | + | + | + | + | (±) | — | — |
| Z ₁ | + f | (±) | — | — | — | — | — | — |

Ergebnis: Dem HX 2-Immunsrum vom Huhn entziehen OX 19-Bazillen alle Agglutinine für OX 19-, HX 2- und Z₁-Bazillen (Fig. 23).

HX 19-Bazillen entziehen nur minimal die Agglutinine für OX 19-, HX 2- und Z_1 -Bazillen (Fig. 24). HX 2-Bazillen entziehen alle Agglutinine für OX 19-, HX 2- und Z_1 -Bazillen (Fig. 25).

Z_1 -Bazillen entziehen alle Agglutinine für Z_1 -, einen Teil für HX 2-Bazillen (Fig. 26).

Die Versuche führten in analoger Weise, wie die bei dem OX 19-Immunsrum vom Huhn, zu einigen unerwarteten und von vornherein auf Grund unserer Vorstellungen nicht ohne weiteres verständlichen Ergebnissen. Daß das HX 2-Immunsrum vom Huhn O- und Z_1 -Gruppen enthält und die entsprechenden Gruppen des OX 19 bindet, war nach dem Voraufgegangenen zu erwarten und ist nicht weiter verwunderlich. Es wiederholt sich aber hier wieder das merkwürdige Verhalten des OX 19-Bazillus, wie wir es schon gegenüber dem OX 19-Immunsrum vom Huhn gesehen haben. Wie dort das H-Agglutinin des Immunsrums von dem OX 19-Bazillus, sogar von dem gekochten OX 19-Bazillus, gebunden wird, der ja nach unserer Vorstellung keine H-Gruppen enthalten sollte (Bindungsversuch 10, Fig. 15), so sehen wir hier eine Bindung der H-Agglutinine des HX 2-Serums in ganz analoger Weise durch den OX 19-Bazillus erfolgen. Eine Erklärung vermögen wir nicht zu geben. Es dürfte vice versa die Hypothese zutreffen, die wir p. 296 bezüglich des OX 19-Immunsrums gegeben haben.

Ein weiterer beachtenswerter Befund ist der folgende: Das HX 2-Immunsrum agglutiniert HX 19 nicht (s. Tabelle XXVIa). Gleichwohl besteht offenbar doch eine Affinität zwischen dem H-Agglutinin des X 2-Serums und dem H-Rezeptor des HX 19-Bazillus, denn dieser entzieht dem HX 2-Immunsrum das H-Agglutinin, allerdings nur zu ganz geringem Teil, wie überhaupt die Affinität aller Gruppen des HX 19, auch der O- und Z_1 -Gruppe, zu den Agglutininen des HX 2-Immunsrums eine sehr schwache ist.

Beim HX 2-Immunsrum finden wir jene besondere Form des O-Agglutinins wieder, der wir schon beim Z_1 -Immunsrum begegnet sind. Dort haben die HX 2-Bazillen (Bindungsversuch 16, Fig. 21), denen der gewöhnliche O-Rezeptor

fehlen muß, gleichwohl das O des Z_1 -Immunserums entzogen, was uns zu der Annahme einer besonderen \boxed{O} -Gruppe im X 2-Bazillus veranlaßt hat. Dementsprechend bildet nun der X 2-Bazillus naturgemäß auch ein O-Agglutinin, dessen Affinität zu dieser \boxed{O} -Gruppe des X 2-Bazillus ohne weiteres verständlich ist.

Wir haben im Vorstehenden eine feinere Analyse der bindenden und bildenden Gruppen der X-Bazillen und der Z_1 -Bazillen auf Grund von Adsorptions- und Immunisierungsversuchen zu geben versucht. Sie zeigen die Kompliziertheit in der Struktur der Bakteriengruppen einerseits und die Mannigfaltigkeit des Geschehens bei der Antikörperbildung im Tierkörper andererseits. Derartige Versuche dürften gewiß eines allgemeinen biologischen Interesses nicht entbehren. Im Sonderfall zeigen sie uns, daß zwischen den Bazillen der X-Gruppe und dem Z_1 -Bazillus von Neukirch und Kreuscher gemeinsame Gruppen in erheblichem Umfange bestehen, die durchaus die Bindungsversuche der genannten Autoren verständlich erscheinen lassen, ohne daß daraus irgendwie, wie es seitens Neukirch und Kreuscher geschehen ist, Schlüsse gezogen werden dürfen, die gegen die Deutung der Friedbergerschen Bindungsversuche und ihre Wertung bezüglich der Aetiologie des Fleckfiebers sprechen.

E. Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über die Beziehungen zwischen den X 19-Bazillen (O-Form und H-Form), den HX 2-Bazillen und dem Z_1 -Bazillus auf Grund von Bindungsversuchen in vitro und Bildungsversuchen bei verschiedenen Tierspezies.

1) In Bestätigung der früheren Versuche von Friedberger wird gezeigt, daß auch unter Berücksichtigung der O- und H-Form des X 19-Bazillus ein mit Fleckfieber-Patientenserum völlig beladener X-Bazillus dem X 19-Kaninchenimmunserum kein Agglutinin mehr entzieht und umgekehrt.

2) Auch mit Fleckfieber-Patientenserum völlig beladene Z_1 -Bazillen entziehen dem Z_1 -Kaninchenimmunserum kein

Agglutinin mehr und umgekehrt (Neukirch und Kreuzer).

3) Mit HX 2-Kaninchenimmunserum völlig beladene Z_1 -Bazillen entziehen dem Z_1 -Kaninchenimmunserum nicht nachweisbare Menge von Agglutinin (nur verzögerte Reaktion), und umgekehrt entziehen mit Z_1 -Kaninchenimmunserum völlig beladene Z_1 -Bazillen dem HX 2-Kaninchenimmunserum kein Agglutinin.

4) Beim Kaninchen und Meerschweinchen sind die durch Immunisierung mit X 19- und Z_1 -Bazillen gebildeten Immunsera streng spezifisch. Dagegen agglutinieren die durch Immunisierung von Hühnern mit HX 19-, OX 19-, HX 2- und Z_1 -Bazillen gewonnenen Immunsera kreuzweise mit den anderen Bakterien. Das HX 19-, OX 19- und HX 2-Hühnerimmunserum enthält O-, H- und Z_1 -Agglutinine, das Z_1 -Hühnerimmunserum O-, X 2- und Z_1 -Agglutinine.

Auf Grund der Bildungs- und Bindungsversuche ergibt sich, daß Z_1 -Rezeptoren nicht nur dem Z_1 -Bazillus eigentümlich sind, sondern sich auch in OX 19-, HX 19- und HX 2-Bazillen nachweisen lassen, ebenso wie der Z_1 -Bazillus X 2- und O-Rezeptoren enthält.

Nachdruck verboten.

[Aus der serodiagnostischen Station (Leiter: Doz. Dr. Rudolf Müller) der syph.-derm. Klinik (Vorstand: Prof. Dr. E. Finger) in Wien.]

Die allgemeine Bedeutung der Kochsalzkonzentration für serologische Reaktionen.

Von Dr. Robert Brandt.

Mit 1 Kurve im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Februar 1922.)

Während bei fast allen früheren serologischen Reaktionen die physiologische Kochsalzkonzentration des Gesamtmilieus angestrebt wurde und man, von Versuchszwecken abgesehen, nur wegen der Elektrolytempfindlichkeit des Reagens (Goldsol) in der Konzentration herunterging, verwendete zum erstenmal die Dritte Modifikation von Meinicke ein höher konzentriertes Kochsalzmilieu. Aber es ist noch unklar, worin die Bedeutung der Konzentrationserhöhung liegt. Meinicke (1, 2, 3) hat gefunden, daß die höhere Kochsalzkonzentration den Ausflockungsprozeß hemmt, und zwar um so mehr, je mehr sie ansteigt, daß die Flockbarkeit der Globuline dabei ab-, die fällende Kraft der Extraktlipide aber zunimmt. Bei positiven Seren kommt es trotz der Hemmung zu einer Fällung, weil sie mit den Extraktlipiden eben stärker reagieren, bei negativen und schwach positiven wird sie durch das Kochsalz verhindert. So schien ihm die D. M. eine Reaktion zur Trennung hochpositiver von schwächer positiven und negativen Seren. Nun hat sich aber erstens gezeigt, daß die D. M. an Empfindlichkeit nicht hinter der Wassermann-Reaktion zurücksteht, daß also bei der Konzentration von 2-proz. NaCl keine Abschwächung der Reaktion erfolgt, und zweitens, daß die theoretischen Voraussetzungen nicht ganz stimmen. Denn nach Epstein und Paul (4, 5), nach Scheer (6) und nach Niederhof (7) gehen nicht die Globuline, sondern die Lipide in den Niederschlag. Allerdings legen Sachs

und Sahlmann (8) den quantitativen Verhältnissen keine so große Beweiskraft bei; sie verweisen auf die Möglichkeit, daß quantitativ geringe, aber hochwirksame Mengen von Globulinen im Niederschlag enthalten seien, die dem chemischen Nachweis entgehen. Sie konnten auch auf biologischem Wege Serumeigenschaften der Flocken nachweisen. Weisbach (9) gibt auf Grund exakter Analysen auch an, daß im Niederschlag Globuline im Verhältnis 1:8 nachweisbar sind. Damit wäre die ursprüngliche Theorie Meinickes von der Lipoidbindung (3), die er in den oben zitierten Arbeiten allmählich verlassen hat, wiederhergestellt. In einer neuen kurzen Arbeit (10) führen Epstein und Paul jedoch gegenüber Weisbach und Klostermann und Weisbach (11) Gründe an, die erkennen lassen, daß für beide Ansichten noch eingehendere Beweise geliefert werden müssen. Auf jeden Fall aber mußte die Anschauung Meinickes über das Wesen der D.M. revidiert werden. Dies taten auch Epstein und Paul, die, auf ihrer Annahme der reinen Extraktlipoidnatur der Flocken fußend, eine umfassende Theorie der D.M. geben. Soweit sie die NaCl-Konzentration in Betracht ziehen, sei auf ihre Ausführungen eingegangen.

Die spontane Extraktflockung durch 2-proz. NaCl setzen sie, im Gegensatz zu Meinicke, der durch positive Sera gleich und nehmen an, „daß Normalseren die Spontanausflockung der Extraktlipide verhindern, während Luesseren sie beschleunigen und deutlich intensiver gestalten“. Sie ziehen den Vergleich mit der Freund-Kaminerschen Karzinomreaktion, die auf dem Fehlen der im Gesundenserum vorhandenen karzinolytischen Eigenschaft im Serum Karzinomatöser beruht. Sie nehmen also an, daß „Normalsera eine Schutzwirkung aufweisen, die dem Luesserum abgeht“. Sie anerkennen auch eine flockende Wirkung der Sera selbst, doch das Wesentliche der Kochsalzkonzentration fassen sie auf die eben erwähnte Art auf. Aber daß die Sache nicht so liegen kann, habe ich schon in der Diskussion zum Vortrag Epstein-Paul (Wiener biolog. Gesellsch., Sitzung vom 12. April 1921) angegeben. Abgesehen davon, daß wahrscheinlich Extraktlipide und Serumglobuline sich gegenseitig ausflocken, daß also die fällende Rolle des luischen Serums im

Vordergrund steht, gibt schon Meinicke an, daß die Schutzwirkung positiver und negativer Sera gegen die NaCl-Fällung (natürlich in Verdünnungen, in denen die luische Reaktion nicht mehr sichtbar ist) keinen Unterschied zeigt, und beweist dies durch Versuche (2a).

Noch andere Tatsachen sprechen in unserem Sinne: So wie Meinicke zwar die Bedeutung der „Schwebefällung“ anerkennt, aber doch Extrakte vorzieht, die weniger gut durch NaCl fällbar sind, so fanden auch wir, daß gar nicht jeder gute Extrakt durch NaCl gefällt wird, daß die Flockung durch NaCl jedenfalls viel längere Zeit erfordert als selbst durch schwachpositive Sera und daß die quantitativen Verhältnisse der Flockenbildung bei positiven Seren die bei NaCl-Einfluß beträchtlich überwiegen. Mit zunehmendem Kochsalzgehalt nimmt die sogenannte „Eigenflockung“ im Großen und Ganzen zu, im Gegensatz zur Meinicke-Reaktion, die ihr Optimum bei 2—3-proz. NaCl-Gehalt hat. Mit konzentrierter NaCl-Lösung erhält man intensive Flockung, die annähernd das Aussehen einer positiven Reaktion hat. Das geben auch R. Bauer und Nyiri (12) an.

Da also die Empfindlichkeit der Reaktion nicht der Flockbarkeit des Extraktes durch NaCl parallel geht, kann eine quantitativ bedeutungsvolle Einwirkung des Kochsalzes auf den Extrakt nicht vorliegen. Höchstens eine additive Wirkung kann man annehmen, etwa wie man bei der Mastrixreaktion Emanuels (13) im Vorversuch nach den Angaben von Kafka und Jakobstal (14) bis an die fällende NaCl-Konzentration herangeht. Aber da zwischen spontan nichtflockenden und spontan flockenden Extrakten schon das ganze Reaktionsgebiet zwischen positiv und negativ enthalten ist, ohne daß sich dies in der Reaktion selbst wesentlich ausdrückt, kann auch die additive Wirkung nicht beträchtlich sein. Da ferner durch Steigerung der NaCl-Konzentration in gewissen Grenzen nicht die unspezifische, sondern die spezifische Ausflockung gefördert wird, während durch Methoden, welche die Extraktflockbarkeit fördern, leicht unspezifische Flockung zustande kommt, liegt es näher, das Objekt dieser fördernden Wirkung der NaCl-Konzentration in den Serumbestandteilen zu suchen.

Daß die verschiedensten serologischen Reaktionen vom Kochsalzgehalt des Mediums abhängen, ist bekannt. Eine gewisse Konzentration des NaCl ist zur Wirksamkeit nötig. Die Ursache liegt in der Wasserunlöslichkeit der Globuline, die nur im kochsalzhaltigen Medium zur Wirkung kommen. Wenn auch Paltauf (15) annimmt, daß zur Lösung von Globulinen eine bestimmte Salzmenge, nicht eine bestimmte Konzentration nötig ist, so hält C. Lange (16) dem entgegen, daß kleine Sodalmen gen, für die diese Anschauung im Gegensatz zum NaCl gilt, die Lösung im salzarmen Medium herbeiführen und so eine Lösung durch geringe Kochsalzkonzentrationen vortäuschen können. Er wies bei der Agglutination des Paratyphus B nach, daß (von einem unbedeutenden wasserlöslichen Bestandteil abgesehen) weder die Bindung noch die Agglutination im kochsalzfreien Medium erfolgt. Nebstbei fand er, daß Paratyphus A-Bakterien, die in NaCl Spontanagglutination zeigen, zur Anstellung der Widalschen Reaktion nicht brauchbar sind. Er kommt also bei einer anderen, aber im Mechanismus der D. M. verwandten Reaktion zu ähnlichen Schlüssen wie wir bezüglich der D. M.

Nach Georgi (17) wird die Sachs-Georgi-Reaktion durch Herabgehen mit der NaCl-Konzentration schwächer, so daß also im allgemeinen bis zur physiologischen NaCl-Konzentration mit zunehmender Konzentration die Wirksamkeit der Globuline steigt.

Aber bei weiterem Steigen der NaCl-Konzentration sind die Verhältnisse noch ungeklärt. Wohl fand Neukirch (18), daß mit Ueberschreiten der Konzentration der physiologischen NaCl-Lösung die Positivität der Wassermann-Reaktion bis zur Unspezifität zunimmt, und führt dies auf eine Hemmung der Hämolyse zurück. Aber gegenüber dem fördernden Einfluß bei der D. M. ist hier nur der Endeffekt gleich, aber nicht der Mechanismus, da hier die Positivität durch eine Hemmung ausgedrückt ist. Andererseits fand er aber auch eine Hemmung der Komplementinaktivierung, so daß es sich jedenfalls um eine Stabilisierung durch NaCl handelt. Nach Hirschfeld und Klinger (19) bleibt die durch Schütteln eintretende Trübung eines verdünnten Serums

aus, wenn die Verdünnung mit 2-proz. NaCl stattfindet, und ebenso, wenn das Serum vorher inaktiviert wird. Also auch hier die Stabilisierung und der Parallelismus zu einer stabilisierenden Einwirkung, dem Inaktivieren.

Wie ist nun gegenüber diesen Einflüssen der doch unbedingt fördernde Effekt der höheren NaCl-Konzentration bei der Meinicke-Reaktion zu erklären? Sachs und Georgi (20) nehmen an, daß durch 2-proz. NaCl die Labilität der Albumine aufgehoben und dadurch ihre Schutzwirkung vermindert wird und daß durch das 2-proz. NaCl bei der D. M. dasselbe erreicht wird wie bei der Sachs-Georgi-Reaktion durch das Inaktivieren, was mit den erwähnten Versuchen von Hirschfeld und Klinger übereinstimmt. Sie konnten durch 1,5-proz. NaCl auch bei der Sachs-Georgi-Reaktion mit aktivem Serum positive Reaktionen erzielen. Daß es sich hierbei um Aufheben einer Schutzkolloidwirkung handelt, schlossen sie daraus, daß beim Arbeiten mit kleineren Dosen die Positivität mancher Sera auch im aktiven Zustand zum Ausdruck kommt, was am leichtesten durch Abnahme der Schutzkolloidwirkung zu erklären ist. Doch geht aus ihren Tabellen hervor, daß auch diese (durch starke Verdünnung schwach gewordenen) Reaktionen durch 1,5-proz. NaCl beträchtlich verstärkt werden. Ferner hat Meinicke mit inaktivem Serum seine Methode ausgearbeitet (1) und die D. M. angegeben. Die Erklärung von Sachs und Georgi trifft daher die Hauptsache wohl nicht zur Gänze.

Hier helfen uns, wie ich in der angeführten Diskussion bereits bemerkte, Erfahrungen mit der Goldsolreaktion weiter, die sich immer wieder als ein treffliches Paradigma serologischer Reaktionen bewährt¹⁾. Es sei kurz das Wesentliche der Goldsolreaktion erwähnt (21, 22, 23, 24, 25): Da Goldsol sehr Kochsalzempfindlich ist, darf die Kochsalz-

1) Die Versuche und Erwägungen, auf denen (von den bekannten Tatsachen abgesehen) meine Ausführungen über die Goldsolreaktion beruhen, wurden durchwegs in Gemeinschaft mit M_{ras} angestellt. Da diese Ergebnisse noch unveröffentlicht, auf ihnen aber meine Betrachtungen über die D. M. aufgebaut sind, hat mir Herr Dr. Fritz M_{ras} in dankenswerter Weise seinen Anteil an den gemeinsamen Untersuchungen zur Veröffentlichung überlassen.

konzentration nicht so hoch sein wie bei den übrigen serologischen Reaktionen. Andererseits muß sie groß genug sein, um die Globuline in Lösung zu halten, wie es C. Lange, der Autor der Goldsolreaktion, in Uebereinstimmung mit seinen oben zitierten (späteren) Untersuchungen über die Agglutination, angegeben hat. Es ist das Mittel zwischen physiologischer NaCl-Konzentration und Aqua destillata gewählt, 0,4 Proz. NaCl. Die Reaktion verläuft also in einem Gesamtmilieu von weniger als 1 Prom. NaCl. 0,4 Proz. ist willkürlich gewählt; die Reaktion gibt (mit später zu besprechenden typischen Aenderungen) bei niedrigeren und ebenso bei höheren NaCl-Konzentrationen, wenn sie nur das Goldsol nicht ausflocken, charakteristische Kurven. Das Charakteristikum der Lueskurve ist die stärkste Ausflockung in der Verdünnung 1:80 und kontinuierliche Abnahme nach beiden Seiten. Wie Löwy, Mras und Brandt (26) gemäß den Ansichten Langes ausführten, ist die Lueskurve, die auch im normalen Liquor angedeutet ist, die Resultante von schützenden und fällenden Kräften. Unsere Anschauung ist nun, wie wir weiter ausführten, daß bei Lues die fällenden Kräfte verstärkt, die schützenden gleich geblieben sind, wobei nicht in Betracht gezogen werden soll, ob bei der Fällung die Globuline oder die sonstigen fällenden Substanzen mit in den Niederschlag gehen oder nicht. Eine andere Erklärung für die konstante Lage des Maximums, das entsprechend zunehmender Intensität nur Vertiefung und Verbreiterung, aber nicht Verschiebung erfährt, liegt nicht vor. Eine Verminderung der Schutzwirkung als Ursache der Lueskurve kommt nicht in Betracht, weil ja auch im ungeschützten Zustande die gewählte Kochsalzkonzentration Goldsol nicht ausfällt. Auch läßt sich durch kurzes Aufkochen die fällende Wirkung gänzlich beseitigen, während die schützende (gegen die Ausfällung durch NaCl) erhalten bleibt und bei fortlaufenden Verdünnungen des Liquors mit einer das Goldsol bereits fällenden Kochsalzlösung sich als ebensoweit reichend erweist wie im negativen Liquor. Da die quantitativen Verhältnisse der Schutzwirkung des positiven Liquors nach dem Kochen völlig denen im negativen Liquor gleich sind, kann

21*

man nicht annehmen, daß sie etwa erst durch das Aufkochen entstanden sei.

Bei Arbeiten mit 10-proz. NaCl wird auch im ungekochten positiven Liquor der Einfluß der fallenden Kräfte fast völlig verwischt und man erhält bei Beginn mit Verdünnung 1:10 eine Kurve, die nicht wesentlich steiler abfällt als die des negativen Liquors. Zum Beispiel: Negativer Liquor ¹⁾: 1. Röhrchen violett, 2. Röhrchen fast weiß, 3. Röhrchen weiß. Positiver Liquor: 1. Röhrchen blau-violett, 2. Röhrchen fast weiß, 3. Röhrchen weiß. In einem andern Versuch: Positiver Liquor: 1. Röhrchen violett, 2. Röhrchen blau-weiß, 3. Röhrchen weiß. Positiver Liquor nach dem Kochen: 1. Röhrchen zwischen rot und rot-violett, 2. Röhrchen violett, 3. Röhrchen fast weiß. Negativer Liquor: 1. Röhrchen rot, 2. Röhrchen violett, 3. Röhrchen blau-weiß, 4. Röhrchen weiß. Ja, es kann sich im 1. Röhrchen eines positiven Liquors bei Arbeiten mit 10-proz. NaCl eine geringere Ausfällung zeigen als im Normalversuch, sei es daß durch die hohe NaCl-Konzentration die wirksamen Bestandteile gehemmt sind, sei es durch den unten zu besprechenden Einfluß auf die schützenden Kräfte.

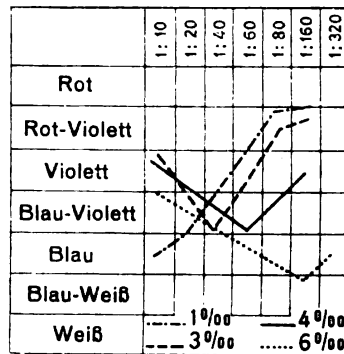
Es handelt sich wohl bei diesen Versuchen um den Schutz gegen NaCl, nicht um den gegen die spezifische Fällung. Wenn also auch die Verwendung dieser Versuche zur Erklärung der Goldsolkurve von diesem Gesichtspunkt aus nicht völlig exakt ist, so liegen doch deutlich die gleichen Verhältnisse wie bei der Meinicke-Reaktion vor und darum kann als wesentlich für die positive Reaktion ein verminderter Schutz gegen den Elektrolyten nicht zugegeben werden.

Eine andere Erklärung aber drängt sich auf: Wenn wir mit steigender, jedoch das Goldsol noch unverändert lassender NaCl-Konzentration den Versuch ansetzen, dann bekommen wir vom destillierten Wasser bis zur 0,6-proz. NaCl-Lösung (der

1) Die Schutzversuche sind zum Unterschied vom Originalversuch zur Ersparung mit Goldsolmengen vom Volumen der Liquorverdünnung angesetzt. Untereinander sind sie trotz der geänderten Verhältnisse vergleichbar.

höchsten, die Goldsol in unserem Versuch nicht zu rasch fällt) eine charakteristische allmähliche Verschiebung des Maximums der Ausfällung von den ersten bis zum 6. und 7. Röhrchen. Auch wenn man durch Variierung der Goldsolmenge die Endkonzentration ändert, bekommt man die gleiche typische Verschiebung. Also nicht das Verhältnis von NaCl zu den Globulinen, sondern die Konzentration des Gesamtmilieus ist von einschneidender Bedeutung für den Ausfall der Reaktion. Außerdem tritt auch entsprechend den höheren Konzentrationen eine Verstärkung der Kurve ein, was bei Ueberschreiten von 0,5-proz. NaCl teilweise auf additiver Wirkung beruht. Ein typischer Versuch ist folgender (mit den Mengenverhältnissen des Originalversuchs):

Als Anhaltspunkt zur Erklärung dieses merkwürdigen Phänomens dient die Meningitiskurve. Schon C. Lange hat gefunden, daß bei Meningitis eine „Verschiebung nach rechts“ stattfindet, d. h. daß das Maximum der Ausfällung in niedrigeren Konzentrationen als bei Lues liegt. Flesch (27) hat nun angegeben, daß dieses nach rechts verschobene Maximum keine fixe Lage hat, sondern entsprechend der Intensitätszunahme des Prozesses statt einer Vertiefung eine Verschiebung nach rechts erfährt. Da die stärkste Ausflockung dort zustande kommt, wo die fällenden Kräfte, die beim Verdünnen langsamer an Wirksamkeit verlieren als die schützenden¹⁾, eben letztere überwiegen, ist es klar, daß die Stelle, an der dies geschieht, um so weiter rechts liegt, je höher die Ausgangskonzentration beider war.



1) Dies stimmt auch mit der oben zitierten Versuchsanordnung von Sachs und Georgi. Freilich treten bei noch stärkerer Verdünnung wieder die schützenden Kräfte hervor, doch kann darauf hier nicht eingegangen werden.

Dies ist in der oben zitierten Arbeit von Löwy, Brandt und Mras (26) näher ausgeführt.

Wenn nun, schematisch gesprochen, in einem Liquor die fällenden und schützenden Kräfte gleichermaßen auf das Doppelte vermehrt sind, so wird das günstige, zur maximalen Ausflockung führende Verhältnis zwischen beiden erst bei einer doppelt so starken Verdünnung eintreten, d. h. das Maximum wird um ein Röhrchen nach rechts verschoben sein. Und je stärker die „Ausgangskonzentration“, um so stärker die Verschiebung. Die Vermehrung der antagonistischen Kräfte muß natürlich nicht so schematisch gleich angenommen werden. Auch überwiegende Vermehrung der schützenden Kräfte muß dieses Wandern bewirken, wenn nur die fällenden Kräfte dadurch nicht überdeckt werden. (Ebenso müßte Abnehmen der schützenden Kräfte im luischen Liquor, wie jetzt klar ist, ein Wandern des Maximums nach links bewirken. Das findet aber nicht statt.) Die vermehrte Schutzwirkung läßt sich leicht gegenüber 10-proz. NaCl nachweisen. Der früher beschriebene Schutzversuch mit 10-proz. NaCl ergibt bei der Meningitis ein charakteristisches Resultat, z. B.: 1. Röhrchen rot, 2. Röhrchen rot, 3. Röhrchen rot-violett, 4. Röhrchen blau-violett, 5. Röhrchen weiß. Die vermehrte fällende Wirkung ist nicht immer durch Vertiefung der Kurve nachweisbar, aber sie geht schon aus der Tatsache hervor, daß sich die Fällung entsprechend der Intensitätszunahme trotz vermehrter schützender Wirkung in immer stärkeren Verdünnungen geltend macht. Außerdem ist der gleiche, das Maximum verschiebende Einfluß durch die NaCl-Konzentration auch bei dem meningitischen Liquor nachweisbar und man kann durch Arbeiten mit Aqua destillata schon in den ersten Röhrchen eine beträchtliche Fällung erzielen.

Die Analogie zwischen der meningitischen und der NaCl-Verschiebung ist einleuchtend. Dabei ist wohl zu beachten, daß nicht etwa die Verschiebung durch NaCl derart eintritt, daß bei höherem NaCl-Gehalt auch weiter rechts Ausfällung, und zwar stärkere, dazukommt, sondern, obwohl die Ausfällung des Goldes durch höhere NaCl-Konzentration gefördert

wird, ist in gewissen Grenzen bei höherer NaCl-Konzentration der Farbenschlag in den ersten Röhren weniger intensiv als beim Arbeiten mit schwächeren NaCl-Konzentrationen. Zum Beispiel: Verdünnung mit Aqua destillata: 1. Röhren blau-violett bis blau. Verdünnung mit 0,3-proz. NaCl: 1. Röhren rot-violett. Dadurch scheint mir bewiesen, daß die Hemmung, die mit ansteigender NaCl-Konzentration neben der Förderung auftritt, einen anderen Angriffspunkt hat als diese. Erst mit dem weiteren Steigen des NaCl-Gehaltes tritt dann in den ersten Röhren ebenfalls eine stärkere Ausfällung ein. (Das gleiche gilt, wie schon gesagt, auch für die meningitische Kurve. Durch Arbeiten mit Aqua destillata kann man in den ersten Röhren, in denen sonst keine Spur von Veränderung sich zeigt, beträchtliche Ausfällungen beobachten. Damit ist auch, wie erwähnt, die zur Erklärung der meningitischen Kurve postulierte Vermehrung der fällenden Kräfte schon in den ersten Röhren nachgewiesen.)

Bei der D. M. handelt es sich wohl um höhere NaCl-Konzentrationen, die einerseits durch die relative Kochsalzunempfindlichkeit des Extraktes erlaubt, andererseits durch die geringere Empfindlichkeit der ganzen Reaktion geboten sind. So wie Ausfällung des Goldsols in einzelnen Röhren der Goldsolreaktion schon durch geringe Verunreinigungen gehemmt oder erzeugt werden kann, während die Meinicke-Reaktion gegen Verunreinigungen weitgehend unempfindlich ist, so muß man auch bei der Meinicke-Reaktion mit viel größeren Konzentrationen arbeiten, um Fällung und Schutz entsprechend deutlich zu beeinflussen. Dann aber ergibt sich klar, daß die Wirkung steigender Kochsalzkonzentrationen prinzipiell die gleiche ist wie bei der Goldsolreaktion. Wir führen einen typischen Versuch an, der derart vorgenommen wurde, daß wir fortlaufende Verdünnungen des Serums mit physiologischer Kochsalzlösung herstellten und je eine solche Verdünnungsreihe mit Extrakt versetzten, der mit 2-proz., 4-, 6-, 8- und 10-proz. NaCl verdünnt war. Die primäre Wasserverdünnung und die Mengenverhältnisse waren der Originalvorschrift entsprechend.

| NaCl-Konz. | Serumverdünnung | | | | | | Kontrolle |
|------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|-----------|
| | $\frac{1}{1}$ | $\frac{1}{2}$ | $\frac{1}{4}$ | $\frac{1}{8}$ | $\frac{1}{16}$ | $\frac{1}{32}$ | |
| 2-proz. | ++ | + | ± | — | — | — | — |
| 4 „ | ± | ± | + | + | — | — | ± |
| 6 „ | ± | + | ++ | ++ | ± | — | ± |
| 8 „ | ±—+ | +(+) | ++ | ±—+ | — | — | ± |
| 10 „ | — | — | — | — | — | — | — |

Wir sehen also bei 2-proz. NaCl das Maximum der Fällung durch das unverdünnte Serum, bei höherer NaCl-Konzentration durch die stärkeren Verdünnungen. So deutlich wie beim Goldsol sind die Ergebnisse nicht, weil wir die Konzentrationen erreichen, in denen bereits eine schädigende Wirkung auf die fällenden Kräfte eintritt, so daß die Maxima weniger in die Augen fallen, und weil ja auch im Serum noch viel mehr unbekanntere Komponenten mitspielen als im Liquor. Ueberdies kommt noch die von Meinicke betonte hohe Bedeutung des Alkohols und seiner Wechselwirkung mit dem NaCl in Betracht. Mit schwächer positiven Seren ist der Erfolg des Versuches oft besser als mit komplett positiven, weil bei letzteren das nicht mehr überschreitbare Maximum der Fällung auch bei stärkerer Kochsalzkonzentration schon in den ersten Röhrchen des Versuches erreicht wird, so daß ein Wandern des Kurvenmaximums nicht nachweisbar ist, so wie ja auch Liquores mit sogenannter paralytischer Kurve zu den oben beschriebenen Goldsolversuchen unbrauchbar sind. Man müßte, um nach links in die Zone des erhöhten Schutzes zu kommen, mit eingeeengtem Serum arbeiten, denn ein Arbeiten mit erhöhter Serumdosis bei diesen Versuchen leidet daran, daß das Verhältnis der Komponenten zueinander dadurch gestört wird. Ein nicht ganz einwandfreier, aber, wie sich zeigt, doch statthafter Weg, um sicher ein Serum entsprechender Positivität zu erhalten, findet sich, wenn man Sera verschiedener Positivität sich dadurch herstellt, daß man positives Serum mit verschiedenen Mengen negativen Serums verdünnt und so reines Serum, $\frac{3}{4}$ -Serum, $\frac{1}{2}$ -Serum, $\frac{1}{4}$ -Serum erhält. Das Serum der geeigneten Positivität kann dann dem Versuch nicht entgehen. So zeigt Fall S. bei dieser Versuchsanordnung folgendes Verhalten:

| NaCl-Konz. | Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung | | | | |
|------------|--|---------------|---------------|---------------|----------------|
| | $\frac{1}{1}$ | $\frac{1}{2}$ | $\frac{1}{4}$ | $\frac{1}{8}$ | $\frac{1}{16}$ |
| | Reines Serum: | | | | |
| 1-proz. | ++++ | ++++ | ++++ | ± | — |
| 2 „ | ++++ | ++++ | ++++ | ± | — |
| 4 „ | ++++ | ++++ | ++++ | + | ±—+ |
| 6 „ | +++ | ++++ | +++ | ++ | ± |
| 8 „ | (±) | (±) | ± | ± | (±) |
| | Mischserum aus 3 Teilen pos. und 1 Teil neg. Serums ($\frac{3}{4}$ -Serum): | | | | |
| 1-proz. | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | — |
| 2 „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | ± |
| 4 „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | ±—+ |
| 6 „ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | ± |
| 8 „ | (±) | (±) | + | — | — |
| | Mischserum aus gleichen Teilen pos. und neg. Serums ($\frac{1}{2}$ -Serum): | | | | |
| 1-proz. | ++++ | ++++ | ++ | — | — |
| 2 „ | ++++ | ++++ | +++ | — | — |
| 4 „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | + |
| 6 „ | ± | ± | +(+) | (±) | — |
| 8 „ | — | — | — | — | — |

Bei Verdünnung mit negativem Serum auf ein Viertel (3 Teile pos., 1 Teil neg. Serums) zeigte dieses positive Serum schon so schwache Ausfälle, daß bei Verwendung von 4-proz. NaCl zur Extraktbereitung, bei der die Verschiebung erst zur Geltung kommt, das Resultat nicht mehr gut ablesbar war. Beim reinen positiven Serum und bei den Mischseren mit geringerem Zusatz von negativem Serum sehen wir aber mit steigender NaCl-Konzentration ein deutliches Wandern des Maximums der Auffällung nach rechts, nach der Zone der stärkeren Verdünnungen, das am besten bei $\frac{3}{4}$ - und $\frac{1}{2}$ -Serum, besonders bei letzterem in der NaCl-Konzentration 6-proz. ausgedrückt ist. Wenn auch diese Versuchsanordnung nicht beweisend ist für die Annahme, daß auch im Luesserum Schutzkräfte vorhanden sind, die durch höhere NaCl-Konzentration in positivem Sinne beeinflußt werden, so wird es doch durch das mit dem erstangegebenen Versuch gleiche Ergebnis sehr wahrscheinlich gemacht, daß negatives Serum und Sera verschiedener Positivität sich nur durch die fällenden Kräfte unterscheiden, daß die schützenden aber gleich sind, ob nun der betreffende Grad der Positivität von Haus aus gegeben war oder erst durch Versetzen mit negativem Serum erreicht wurde.

Wir erkennen demnach auch hier, daß das „kolloidlösende“ (28), also dispersitätsvermindernde NaCl nicht nur die Globuline, bzw. die fällenden Kräfte, zur Wirksamkeit bringt, sondern auch ihr Widerspiel, die schützenden. Daß es wirklich eine solche Einwirkung auf die schützenden Kräfte gibt, zeigt folgendes Experiment: Während im Versuch mit 2 Proz. NaCl ein positives Serum bei fortlaufender Verdünnung mit negativem Serum bis fast in die gleich niedrigen Konzentrationen noch einen Ausschlag gibt wie bei der Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung, zeigt sich bei ansteigender Konzentration folgendes Verhalten:

| | Verdünnung mit physiol. NaCl-Lösung | | Verdünnung mit negativem Serum | |
|---------|-------------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------|
| | $\frac{1}{2}$ | $\frac{1}{4}$ | $\frac{1}{2}$ | $\frac{1}{4}$ |
| 2-proz. | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 4 „ | ++++ | ++++ | ++++ | ±-+ |
| 6 „ | ++++ | ++++ | ± | - |
| 8 „ | ± | ± | - | - |

Bei dem mit negativem Serum verdünnten Serum zeigt sich also schon bei geringerem Anstieg der NaCl-Konzentration eine Hemmung der Flockung als bei dem mit physiologischem NaCl verdünnten. Die Deutung ergibt sich aus der Tatsache, daß bei beiden Verdünnungsarten die „Reagine“ in gleicher Menge enthalten sind, die normalen Serumbestandteile aber bei der Verdünnung mit Serum weit überwiegen. Nur durch einen Einfluß auf diese normalen Bestandteile kann das differente Verhalten der beiden Verdünnungsreihen bei ansteigender NaCl-Konzentration erklärt werden. Die Erklärung, daß die Hemmung durch das negative Serum bei ansteigender NaCl-Konzentration gleich bleibt und sich nur deshalb in den höheren NaCl-Konzentrationen erst geltend macht, weil durch letztere die Globulinwirkung bereits geschädigt ist, kann deshalb nicht stichhaltig sein, weil dieses Verhalten ja ebenso deutlich nachweisbar sein müßte, wenn man durch fortlaufende Verdünnung bei 2-proz. Na-Extrakt bis an die Grenze der Wirksamkeit herangeht, wobei dann in dem mit negativen Serum verdünnten positiven Serum durch den Einfluß der Schutzkräfte früher die Fällungswirkung verschwinden müßte

als in dem mit physiologischen NaCl verdünnten. Da zeigt sich aber, wie erwähnt, noch kein wesentlicher Einfluß der Schutzwirkung. Das Ueberwiegen der Schutzwirkung bei den höheren NaCl-Konzentrationen kann daher nur durch direkte Einwirkung des NaCl auf die schützenden Kräfte hervorgerufen sein.

Es ist also wahrscheinlich gemacht, daß die höhere NaCl-Konzentration, wenigstens in gewissen Grenzen, fällende und schützende Kräfte gleichsinnig beeinflußt. Je nachdem, ob die Reaktion dem gegebenen Verhältnis der Agentien nach in den Bereich des Optimums fällt oder nicht, wird der Schutz oder die Fällung überwiegen, die Reaktion deutlicher oder weniger deutlich werden. So ist es demnach erklärlich, daß die höhere NaCl-Konzentration, die in manchen Fällen hemmend wirkt, doch einen unstreitig fördernden Einfluß auf die Meinicke-Reaktion hat. Die Differenzen ergeben sich je nach der Versuchsanordnung und gehorchen einem Gesetz.

Es muß zugegeben werden, daß die Verhältnisse keineswegs so einfach liegen, wie es nach dem Gesagten erscheinen könnte. Der Versuch wird weder mit jedem Extrakt so deutlich wie in den angeführten Fällen, noch mit jedem Serum. Während bei der Goldsolreaktion der Schutz gegenüber Kochsalz und gegenüber der spezifischen Fällung parallel geht, ist bei der Meinicke-Reaktion wohl die Schutzwirkung des Serums gegen die „Eigenflockung“ = Kochsalzflockung des Extraktes deutlich, weniger aber gegen die spezifische Präzipitation. Das Reaktionsergebnis ist hier nicht so ausdrucksvoll das Resultat des Widerspiels schützender und fällender Kräfte. Worauf es ankam, war: zu zeigen, daß die Verhältnisse, die einfacher und leichter deutbar die Goldsolreaktion beherrschen, prinzipiell (wenngleich mit anderen Bedingungen sich kreuzend) auch bei der Meinicke-Reaktion eine Rolle spielen. Namentlich scheint mir der Nachweis wichtig, daß die Bedeutung der höheren NaCl-Konzentration jedenfalls in einer Einwirkung auf das Serum liegt.

Zusammenfassung.

1) Der positive Ausfall der Meinicke-Reaktion (D. M.) beruht nicht auf dem Fehlen schützender, sondern auf dem Vorhandensein fällender Kräfte im luisch positiven Serum.

2) Die Bedeutung der höheren Kochsalzkonzentration liegt in deren Einwirkung auf das Serum, nicht auf den Extrakt.

3) Steigende NaCl-Konzentration fördert sowohl fällende als auch schützende Kräfte.

4) Dieses Verhalten hat (übereinstimmend mit den Erfahrungen bei der Goldsolreaktion) mit steigender NaCl-Konzentration eine Verschiebung des Optimums der Fällung nach den geringeren Konzentrationen zur Folge.

5) Von der Versuchsanordnung hängt es ab, ob im Endresultat Förderung oder Hemmung zum Ausdruck kommt.

Literatur.

- 1) Meinicke, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 25.
- 2a) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 27, H. 6.
- b) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, H. 3 u. 5.
- 3) — Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 4.
- 4) Epstein und Paul, Med. Klinik, 1920, No. 19.
- 5) — Archiv f. Hyg., Bd. 90.
- 6) Scheer, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 2.
- 7) Niederhof, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 11.
- 8) Sachs und Sahlmann, Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 37.
- 9) Weisbach, Wassermann-Reaktion und Ausflockungsreaktionen usw., Jena, Gustav Fischer, 1921.
- 10) Epstein und Paul, Deutsche med. Wochenschr., 1922, No. 3.
- 11) Klostermann und Weisbach, Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 37.
- 12) R. Bauer und Nyiri, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, H. 4 u. 5.
- 13) Emanuel, Berl. klin. Wochenschr., 1915.
- 14) Kafka und Jakobstal, Kafka, Berlin, J. Springer, 1917.
- 15) Paltauf, Handb. der pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, Bd. 2.
- 16) C. Lange, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, H. 4—6.
- 17) Georgi, Biochem. Zeitschr., Bd. 93.
- 18) Neukirch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19, H. 3 u. 4.
- 19) Hirschfeld und Klinger, Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 29.
- 20) Sachs und Georgi, Med. Klinik, 1921, No. 32.
- 21) C. Lange, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 19.
- 22) — Zeitschr. f. Chemotherapie, 1912, Bd. 1.
- 23) H. Eicke, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 49.
- 24) K. Eskuchen, Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk., Bd. 63, H. 1 u. 2.
- 25) Mras und Brandt, Wiener klin. Wochenschr., 1919, No. 42.
- 26) Löwy, Brandt und Mras, Med. Klinik, 1921, No. 7 u. 8.
- 27) Flesch, Zeitschr. f. d. ges. Neur., Bd. 26.
- 28) Höber, Physikal. Chemie d. Zelle, 3. Aufl.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Akademie für praktische Medizin zu Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. Bürgers).]

Ein Beitrag zur Frage der unspezifischen Hemmungen bei der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. W. Bachmann, I. Assistent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1922.)

In letzter Zeit sind einige Arbeiten erschienen, die sich wieder mit der seit langem bekannten unspezifischen Hemmung der Wassermannschen Reaktion bei Kaninchen beschäftigen. Der eine Autor (1) schließt aus seinem Sektionsmaterial, daß der positive Ausfall der Wassermannschen Reaktion auf Coccidioseerkrankung seiner Tiere beruht, während Marcuse (2) aus seiner ziemlich umfangreichen Versuchsreihe eine derartige Beziehung nicht zu ersehen vermag. Ja er zeigt sogar, daß das Serum von Kaninchen, die an Coccidiose leiden, Wassermann-negativ sein kann, und kommt zu dem auch von anderen Autoren gefällten Urteil, daß das Serum von Kaninchen bereits physiologisch derartige Schwankungen im Ausfall der Wassermannschen Reaktion zeigt, daß es kaum als zulässig angesehen werden kann, wenn von anderer Seite daraus weitgehende Schlüsse gezogen werden. Marcuse führt einen großen Teil der einschlägigen Literatur an, so daß ich es mir ersparen kann, das dort Gesagte zu wiederholen. Ich möchte nur, wie schon in einer früheren Arbeit (3), betonen, daß die Schlußfolgerungen, die v. Wassermann (4) und Much (5) in letzter Zeit aus ihren serologischen Untersuchungen bei Kaninchen gezogen haben, aus den soeben genannten Gründen nicht stichhaltig erscheinen, eine Ansicht, die auch in den Veröffentlichungen von Wendlandt (6) und Jantzen (7) bestätigt wird. Alle stärkeren Eingriffe, die darauf hinzielen, die Wassermannsche Reaktion des Kaninchenserums zu verändern, wie Injektionen von Quecksilber, Salvarsan, Lipoiden usw. müssen darum zu

Trugschlüssen führen. Anders liegen die Dinge dagegen, wenn man zum Vergleich mit der Wassermannschen Reaktion physiologisch vorhandene Eigenschaften der Tiere heranzieht und, eine genügend lange Beobachtungszeit vorausgesetzt, etwaige Beziehungen aus dem Vergleich beider abzulesen versucht. Wir haben deshalb daran gedacht, daß den Schwankungen des Ausfalls der Wassermannschen Reaktion beim Kaninchen vielleicht ebensolche des Blutbildes parallel gehen, von der Vorstellung ausgehend, daß die „Reaktionskörper“, die zur Komplementbindung führen, Zerfallsprodukte der weißen Blutkörperchen sein könnten. Die Möglichkeit eines derartigen Zusammenhanges ist ja nicht von vornherein abzulehnen, wenn man z. B. an den Scharlach denkt, bei dem unspezifische Hemmungen der Wassermannschen Reaktion und gleichzeitig Eosinophilie beobachtet wird, oder wenn man sich an die unspezifisch-positiven Resultate erinnert, wie sie auch bei anderen akuten und chronischen Infektionskrankheiten auftreten, wo ebenfalls regelmäßig Aenderungen des Blutbildes bestehen. Bereits Jakobsthal (8) hat diese Vermutung ausgesprochen, daß der Zerfall von Leukozyten zur Bildung von Hemmungskörpern führt, ebenso Pappenheim (10), der jedoch der Meinung ist, daß die weißen Blutkörperchen nicht die alleinige Quelle der Hemmungskörper sein dürften. Auch v. Wassermann (10) hat angegeben, daß die positive Reaktion des von Paralytikern stammenden Liquors von Stoffen bestimmt wird, die aus den Lymphozyten der Lumbalfüssigkeit herkommen. Er schließt das daraus, daß die durch Autolyse solcher Lymphozyten gewonnenen Stoffe die positive Wassermannsche Reaktion verstärken, während das Autolysat in den Kontrollen mit dem Liquor nichtsyphilitischer Kranker diesen Befund vermissen läßt.

I.

In einer ersten Versuchsreihe habe ich bei 10 Kaninchen mehrmals innerhalb eines Zeitraums von 6 bis 10 Tagen, später in größeren Zeitabständen (s. Tabelle I) die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen in der Bürkerschen Zählkammer festgestellt und in nach Pappenheim gefärbten Blutaussstrichen den prozentualen Anteil der einzelnen Formen der weißen

Blutkörperchen bestimmt. Gleichzeitig ist von den betreffenden Tieren eine genügende Menge Blut entnommen worden, um damit die Wassermannsche Reaktion mit Komplementabstufungen, die Modifikation der WaR. nach Graetz (11, 12), die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke (D.M.) und die Doldsche Trübungsreaktion (13) anzustellen. Die genannte Modifikation von Graetz habe ich deshalb bei allen Kaninchen mitlaufen lassen, weil wir auf Grund eines Materials von etwa 1500 Blutuntersuchungen den Eindruck gewonnen haben, daß diese Methode, die darin besteht, daß bei der Komplementbindung die Temperaturskala von 0 bis 37° durchlaufen wird, in einem Teil der Fälle noch spezifisch positive Resultate ergibt, die bei der gewöhnlichen Art der Komplementbindung nicht erfaßt werden. Allerdings muß man zugeben, daß vereinzelt unspezifische Hemmungen aufzutreten scheinen. Aus Tabelle I ist zu ersehen, inwiefern die doch sicher unspezifischen Hemmungen der Kaninchensera bei dieser Modifikation beeinflußt werden. Besonderes Interesse verdient der Vergleich des Ausfalls der WaR. beim Kaninchen mit dem der Flockungsreaktionen und der Doldschen Trübungsreaktion, da hier nicht wie beim Arbeiten mit menschlichen Seren ein negativer Ausfall der Flockungsreaktionen bei positivem Ergebnis der WaR. zugunsten der letzteren entschieden werden kann. Von den 10 Tieren meiner Versuchsreihe sind 3 (No. 1, 2, 8) bereits wenige Wochen nach Versuchsbeginn gestorben, so daß ihr Blut nur zweibis dreimal hat geprüft werden können. Eine Beziehung zwischen der Todesursache (Magenruptur, Pseudotuberkulose und Coccidiose) und dem Ausfall der WaR. ist nicht zu ersehen; insbesondere interessiert Kaninchen No. 8, das an Coccidiose verendet ist, dessen Serum zwar am 2. XII. eine deutliche Hemmung der Komplementbindung erkennen läßt, was aber auch bei Kaninchen No. 1, das an Magenruptur zugrunde gegangen ist, zutrifft. Marcuse hat also nach meiner Meinung schon recht, wenn er die Angabe Kuszinskis zurückweist, daß die unspezifischen Hemmungen der WaR. beim Kaninchen durch Coccidiose verursacht seien. Die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke sowie die Doldsche Trübungsreaktion sind bei diesen 3 Tieren stets negativ aus-

Tabelle I.

| Kaninch. No. | Datum | KE. | 1 1/2 KE. | 2 KE. | Kon- trollen | KE. | 1 1/2 KE. | 2 KE. | Kon- trollen | Sachs- Georgi | Meinickes D. M. | Dold | Gesamt- zahl der Leuko- zyten |
|-----------------|----------|------|-----------|-------|-----------------|-----|-----------|-------|-----------------|------------------|--------------------|--------|--|
| 1 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | — | — | — | † 7. XII. |
| | 2. XII. | +++ | (±) | (±) | (±) | +++ | +++ | +++ | — | — | — | — | |
| | 7. XII. | (++) | — | — | — | ++ | + | — | — | — | — | — | |
| 2 | 22. XI. | ± | — | — | — | · | · | · | · | — | — | — | † 6. XII. |
| | 2. XII. | +++ | (+) | (±) | (+) | +++ | ± | — | — | — | — | — | |
| 3 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | 7 500 9 000 |
| | 2. XII. | ± | — | — | — | ++ | — | — | — | | | | |
| | 7. XII. | — | — | — | — | + | (±) | (±) | — | | | | |
| | 11. XII. | ± | (±) | — | — | + | (±) | — | — | | | | |
| 4 | 22. XI. | + | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | 12 000 6 250 |
| | 2. XII. | +++ | (+) | (±) | + | +++ | +++ | + | — | | | | |
| | 7. XII. | +++ | + | ± | — | +++ | ++ | + | — | | | | |
| | 11. XII. | ++ | (±) | (±) | — | +++ | +++ | +++ | — | | | | |
| | 16. XII. | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | — | | | | |
| | 16. I. | +++ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | — | | | | |
| 5 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | 8 000 5 200 |
| | 2. XII. | +++ | ± | (±) | — | +++ | (±) | — | — | | | | |
| | 7. XII. | — | — | — | — | ± | (±) | — | — | | | | |
| | 11. XII. | ± | (±) | (±) | — | ++ | (±) | — | — | | | | |
| 6 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | 6 700 6 400 |
| | 2. XII. | + | (±) | — | — | (±) | — | — | — | | | | |
| | 7. XII. | — | — | — | — | + | — | — | — | | | | |
| | 14. XII. | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 7 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | 5 000 5 000 |
| | 2. XII. | +++ | (±) | + | ± | +++ | ++ | (±) | — | | | | |
| | 7. XII. | +++ | — | — | — | +++ | ± | (±) | — | | | | |
| | 14. XII. | (++) | — | — | — | + | — | — | — | | | | |
| 8 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | † 14. XII |
| | 2. XII. | +++ | + | — | — | +++ | +++ | +++ | — | | | | |
| | 7. XII. | (+) | — | — | — | +++ | ++ | — | — | | | | |
| | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | | | | |
| 9 | 2. XII. | +++ | ± | — | — | +++ | (±) | (±) | — | | | | |
| | 7. XII. | — | — | — | — | + | (±) | (±) | — | | | | |
| | 16. XII. | (±) | — | — | — | ++ | (+) | (±) | — | | | | |
| | 21. XII. | — | — | — | — | (+) | — | — | — | | | | |
| 10 | 22. XI. | (±) | — | — | — | · | · | · | · | } neg. | } neg. | } neg. | 6 000 8 400 |
| | 2. XII. | +++ | ± | — | — | · | · | + | — | | | | |
| | 7. XII. | (±) | — | — | — | +++ | ++ | (±) | — | | | | |
| | 14. XII. | (+) | — | — | — | +++ | (±) | — | — | | | | |
| 21. XII. | (±) | — | — | — | +++ | ++ | — | — | | | | | |

WaR. in Komplement-
abstufungen

Graetzsche
Modifikation

Es wurde immer mit dem gleichen Extrakt gearbeitet.

Abkürzung und Zeichenerklärung für alle Tabellen gültig: KE. = Komplementeinheit
+++ = völlige Hemmung der Hämolyse; — = Hämolyse.

gefallen. Bei den 7 überlebenden Kaninchen zeigt das Ergebnis der WaR. zu den verschiedenen Zeiten der Blutentnahme ebenfalls gewisse Schwankungen, die besonders auffallend bei Tier No. 4 sind, dessen Wassermann bei gewöhnlicher Bindungsweise (37°) am 16. XII. vollkommen negativ ist, während er einen Monat später als stark positiv abgelesen wird. Im allgemeinen reagiert keines der Tiere völlig negativ, was sicher darauf zurückzuführen ist, daß mit Komplementabstufungen gearbeitet worden ist, so daß noch Hemmungen erfaßt werden, die bei Komplementüberschuß sich dem Nachweis entziehen. Allerdings gewinnt man den Eindruck, daß einzelne Tiere wie No. 4 mehr nach der positiven Seite neigen, während andere, z. B. No. 6, stets nur ganz geringe Hemmungen der Hämolyse, und zwar nur bei niedriger Komplementmenge aufweisen. Auffallend ist es, daß bei der Modifikation nach Graetz die Hemmung der Hämolyse fast durchweg stärker ausfällt als bei der gewöhnlichen Bindungsweise des Komplements. Nur einmal ergibt sich das umgekehrte Verhalten, und zwar am 14. XII. 1921 bei Kaninchen No. 7. Eigenhemmung geringen Grades ist mehrfach festzustellen (Kaninchen No. 1, 2, 4 und 7). Die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke, sowie die Doldsche Trübungsreaktion haben stets ein negatives Resultat ergeben. Es steht das im Einklang mit den Befunden von Wendlandt (6) und Konitzer (14), die beim normalen Kaninchen mit den Reaktionen nach Sachs-Georgi und der Dritten Modifikation nach Meinicke niemals eine einwandfreie Flockung gesehen haben. Wie verhält sich nun aber das jeweilige Blutbild der Tiere zum Ausfall der WaR.? Wie aus Tabelle I ersichtlich, bestehen an den verschiedenen Untersuchungstagen ziemlich starke Unterschiede in der Gesamtzahl der Leukozyten. So findet sich bei Kaninchen No. 4 am 11. XII. 1921 eine Leukozytenzahl von 12 000 bei positivem Ausfall der WaR., während einen Monat später bei negativem Ergebnis der WaR. nur 6250 Leukozyten gezählt werden. Ebenso sieht man bei Kaninchen No. 5 am 11. XII. 1921 eine Spur Hemmung bei einer Zahl von 8000 Leukozyten, 6 Tage später bei negativem Wassermann eine Zahl von 5200 weißen Blutkörperchen. Das Umgekehrte ist jedoch bei

Kaninchen No. 3 zu beobachten, während andere Tiere trotz Schwankungen der Leukozytenzahl den gleichen Ausfall der WaR. aufweisen. Die Dinge liegen eben so, daß die Leukozytenzahlen, die zu verschiedenen Zeiten bei den einzelnen Tieren gefunden worden sind, innerhalb der physiologischen Breite (15) liegen, so daß man nicht berechtigt ist, aus der Gesamtzahl der Leukozyten im Vergleich mit dem Ausfall der WaR. irgendwelche Beziehungen abzuleiten. Wie verhält sich nun aber das Blutbild in qualitativer Hinsicht? Nach Fröscher (16) gestaltet sich beim Kaninchen das prozentuale Verhältnis der einzelnen Formen der weißen Blutkörperchen folgendermaßen:

| | | |
|--------------------------------|--------|-------|
| Polynukleäre Pseudoeosinophile | 33—40 | Proz. |
| „ Eosinophile | 0—0,57 | „ |
| Mononukleäre Basophile | 4—8 | „ |
| Lymphozyten | 60—65 | „ |

Dies sind jedoch nur Durchschnittszahlen. In einer ausführlichen Tabelle bringt er bei 2 Kaninchen die an verschiedenen Tagen erhaltene Gesamtzahl der Leukozyten und die Prozentzahlen der einzelnen Formen. Der niedrigste Wert für pseudoeosinophile Leukozyten beträgt dort 18,24 Proz., der höchste Wert 62,57 Proz., für Lymphozyten 31,98 Proz. und 74,44 Proz., für Basophile 1,0 und 17,88 Proz., für Eosinophile 0 und 4,04 Proz., also sehr erhebliche Unterschiede schon unter physiologischen Verhältnissen. Auffallend ist dabei das Zahlenverhältnis zwischen Lymphozyten und Pseudoeosinophilen, die sich immer so ergänzen, daß bei einer niedrigen Lymphozytenzahl ein hoher Wert für Pseudoeosinophile gefunden wird und umgekehrt. Auch aus meinen Untersuchungen geht hervor, daß die Zahlen der einzelnen Leukozytenformen erheblich schwanken, und daß die Pseudoeosinophilen und Lymphozyten sich in ihrem Zahlenverhältnis in der soeben erwähnten Weise ergänzen. Eine bestimmte Beziehung zwischen dem Ausfall der WaR. und dem Vorwiegen einzelner Formen von weißen Blutkörperchen kann ich jedoch nicht angeben. Bei dem größeren Teil der Untersuchungen gewinnt man den Eindruck, als ob eine Verstärkung der Hemmung der WaR. mit einem Ansteigen der Pseudoeosinophilen Hand in Hand geht, ein Befund, der bei meinem kleinen Material aber auch

auf Zufall beruhen kann. Jedenfalls ist es auffallend, daß die pseudoeosinophilen Leukozyten im Kaninchenblut schon normalerweise in so beträchtlicher Zahl vorhanden sind. Denkt man daran, daß, wie schon oben erwähnt, auch beim Scharlach Eosinophilie beobachtet wird, so gewinnt der Zusammenhang zwischen pseudoeosinophilen Leukozyten und unspezifischer Hemmung der WaR. an Wahrscheinlichkeit. Zur Orientierung habe ich nun ebenfalls das Blut von 4 Scharlachkranken in gleicher Weise wie das der Kaninchenreihe untersucht; leider hat nur einer der Kranken eine deutliche Hemmung gezeigt, die aber als spezifisch gedeutet werden muß, da der betreffende Patient in der Vorgeschichte eine erworbene Lues zugegeben hat und auch klinische Erscheinungen auf Syphilis hinweisen. Im Gegensatz zu den Kaninchenversuchen sind die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke sowie die Doldsche Trübungsreaktion bei diesem Kranken einwandfrei positiv ausgefallen. Eine Zählung der Blutkörperchen habe ich bei diesem Fall, da zwecklos, unterlassen, ebenso bei dem Blut der anderen 3 Scharlachkranken, deren Serum stets Wassermann-negativ reagiert hat.

Ich habe nun versucht, bei einem der Kaninchen (No. 6), das bei den verschiedenen Blutuntersuchungen nur geringe Hemmung der Hämolyse gezeigt hat, eine Steigerung der Leukozytenzahl hervorzurufen, um zu sehen, ob diese künstliche Leukozytose imstande sei, den Ausfall der WaR. entsprechend zu verändern. In einem ersten Versuch habe ich mich der von Burmeister (15) angegebenen Methode bedient und dem Tier 20 Tropfen Zimmetöl in 4 ccm steriler Ringerscher Lösung filtriert in die Ohrvene eingespritzt. Die Gesamtzahl der Leukozyten beträgt vor der Einspritzung 7500, 7 Stunden später 6000, 24 Stunden nach der Injektion 8125. Aus Tabelle II ist zu ersehen, daß eine stärkere Hemmung nicht mit der geringen Zunahme der Leukozytenzahl nach 24 Stunden zusammentrifft, sondern daß sie bei der niedrigsten Zahl von 6000 7 Stunden nach der Einspritzung sich zeigt. Die hier beobachtete Zunahme der Gesamtzahl der Leukozyten liegt unbedingt innerhalb der physiologischen Breite, so daß irgendwelche Schlüsse daraus nicht gezogen werden können. Dagegen ist die Zahl der pseudoeosinophilen

Tabelle II.

| Kaninchen No. 6 | KE. | 1 1/2 KE. | 2 KE. | KE. | 1 1/2 KE. | 2 KE. | Gesamtzahl der Leuko- zyten | Pseudo- eosino- phile Proz. | Lympho- zyten Proz. |
|--|-------|-----------|-------|--------|-----------|-------|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| | | | | Kontr. | | | | | |
| Vor der Ein- spritzung | + | + | + | - | - | - | 7500 | 23,1 | 62 |
| 7 Std. nach der Einspritzung von Zimmetöl | (+++) | (+++) | (+++) | - | - | - | 6000 | 59,5 | 31,7 |
| 24 Std. nach der Einspritzung von Zimmetöl | + | + | + | - | - | - | 8125 | . | . |

Leukozyten zur Zeit der deutlichen Hemmung der WaR. (7 Stunden nach der Injektion) von 23,1 Proz. auf 59,5 Proz. gestiegen, was eine weitere Stütze für meine bereits oben gemachte Annahme gibt, daß die pseudoeosinophilen Leukozyten des Kaninchenblutes mit den unspezifischen Hemmungen der WaR. in Beziehung stehen. In einem zweiten Versuch habe ich bei Kaninchen No. 9 dadurch eine deutliche Leukozytose zu erreichen gesucht, daß ich dem Tier am linken Oberschenkel 1 ccm steriles Terpentinöl in die Muskulatur eingespritzt habe. Die Leukozytenzahl ist 24 Stunden nach der Injektion von 7940 auf 19250 gestiegen, um nach weiteren 24 Stunden wieder auf 8350 abzufallen. Die WaR. ist vor der Injektion, auf der Höhe der Leukozytose und nach der

Tabelle III.

| Kaninchen No. 9 | KE. | 1 1/2 KE. | 2 KE. | Kontrolle | KE. | 1 1/2 KE. | 2 KE. | Kontrolle | Gesamtzahl der Leuko- zyten | Pseudo- eosino- phile Proz. | Lympho- zyten Proz. |
|--|---------------------------------------|-----------|-------|-----------|----------------------------|-----------|-------|-----------|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| | | | | | | | | | | | |
| Vor der Injektion | - | - | - | - | - | - | - | - | 7940 | 52,3 | 32 |
| 24 Std. nach der Ein- spritzung von 1 ccm Terpentinöl i.m. | - | - | - | - | - | - | - | - | 19250 | 52,3 | 35,1 |
| 48 Std. nach der Ein- spritzung von 1 ccm Terpentinöl i.m. | - | - | - | - | - | - | - | - | 8350 | 55,1 | 34,0 |
| | WaR. in Komplement- abstufungen | | | | Graetzsche Modifikation | | | | | | |

Rückkehr der Leukozytenzahl zur Norm vollkommen negativ ausgefallen, obwohl auch hier wieder mit Komplementabstufungen und mit der Graetzschen Modifikation gearbeitet worden ist. Interessant ist es, daß die Prozentzahlen der einzelnen Leukozytenformen bei allen drei Blutproben fast genau dieselben geblieben sind (s. Tabelle III). Die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke, ebenso die Doldsche Trübungsreaktion haben ein negatives Resultat ergeben.

Zusammenfassend möchte ich sagen, daß Aenderungen in der Gesamtzahl der Leukozyten beim normalen Kaninchen keinen Zusammenhang mit den auftretenden spezifischen Hemmungen der WaR. erkennen lassen. Dagegen ist daran zu denken, daß die im normalen Kaninchenblut in großer Zahl vorhandenen pseudoeosinophilen Zellen mit den Schwankungen im Ausfall der WaR. in Beziehung stehen. Besonderes Gewicht möchte ich auf die Tatsache legen, daß trotz Hemmung der Komplementbindung der Ausfall der luetischen Flockungsreaktionen und der Doldschen Trübungsreaktion bei meinen Kaninchen stets negativ gewesen ist. Für die Beurteilung der WaR. beim Menschen möchte ich darum mit Vorsicht den Analogieschluß ziehen, daß wir bereits heute berechtigt sind, bei der serologischen Untersuchung auf Lues das Hauptgewicht auf die Flockungsreaktion zu legen und die WaR. in zweifelhaften Fällen zusammen mit dem klinischen Befund zur Entscheidung heranzuziehen. Für die Richtigkeit dieser Auffassung sprechen eine Reihe von Veröffentlichungen (17, 18) und eigene Erfahrungen, wonach man den Eindruck gewinnt, daß die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke (D. M.) der WaR. in einem Teil der Fälle sogar überlegen zu sein scheinen, während bei den nach Wassermann eindeutig positiven Blutproben auch mit den Flockungsreaktionen fast durchweg ein positives Ergebnis erzielt wird.

II.

Meine folgenden Untersuchungen beziehen sich nun auf die Frage, welcher Anteil des Serums es ist, der die unspezifischen Hemmungen des Kaninchenblutes bei der WaR. hervorruft. Das Serum des gesunden und kranken Menschen

ist in dieser Richtung häufig geprüft worden, und zwar beschäftigen sich die betreffenden Arbeiten vornehmlich mit der Feststellung, ob die Albumine oder Globuline des Serums die Träger der antikomplementären Wirkung sind, wobei in neuerer Zeit auch den Lipoiden des Serums eine wesentliche Rolle beim Zustandekommen der Reaktion beigelegt wird. Die einen sprechen von einer durch die veränderte Lipoidzusammensetzung des Blutes erzielten Thermostabilität der Globuline bei Syphilitikern (19), während nach Friedemann die Albumine bei negativen Seren die antikomplementären Eigenschaften der Globuline aufheben, was beim Syphilitikerserum nicht der Fall ist. Mandelbaum (20) hat gezeigt, daß nach Durchleiten von Kohlensäure, also nach Entfernung der Globuline, die Albuminfraktion des Syphilitikerserums noch eine deutlich positive Sachs-Georgi-Reaktion ergibt; auch Gloor und Klinger (21), die mit $n/300$ HCl als Trennungsmittel arbeiten, machen die Albumine für den positiven Ausfall der WaR. verantwortlich. Nach ihrer Auffassung sind die Globuline vollkommen unspezifisch, sie dienen nur als Indikatoren für die meisten Luesreaktionen, wie Felke sagt (22); nach Felkes eigenen Untersuchungen sind es ebenfalls die Albumine, die den Kern der spezifischen Luesveränderung ausmachen, da sie ja auch den größten Anteil des Serums an Lipoiden besitzen, während er eine spezifische Eigenschaft der Globuline des Luetikerserums ablehnt. Ich glaube, daß dieser Widerspruch in den Versuchsergebnissen der einzelnen Autoren darauf beruht, daß mit nicht vollwertigen Methoden der Globulinfällung gearbeitet worden ist. Es ist klar, daß eine positive Albuminreaktion vorgetäuscht werden kann, wenn die Albuminfraktion noch Spuren von Globulin enthält. Ich möchte deshalb die Untersuchungsergebnisse von Kapsenberg (23) für richtiger halten, der als einwandfreie Methode die Globulinfällung nach Hofmeister-Kauder mit Ammoniumsulfat und nachfolgender Dialyse in für Eiweiß undurchlässigen, für Salze passierbaren Dialysierhülsen benutzt hat. Die Methode von Kapsenberg verdient auch deshalb besonderes Interesse, weil er im Amnion der menschlichen Placenta eine Dialysiermembran angibt, die ebenso zuverlässig wie leicht herzustellen ist. Wegen der Gewinnung solcher Membranen

verweise ich auf Kapsenbergs ausführliche Beschreibung in obiger Arbeit. Seine Resultate mit den nach dieser Methodik erhaltenen Albumin- und Globulinfraktionen sind kurz folgende: 1) In einem positiven Serum ist es das Globulin, welches die positive WaR. hervorruft, während das Albumin gänzlich negativ reagiert. 2) Die Intensität der WaR., die durch das Vollserum und durch sein isoliertes Globulin hervorgerufen wird, ist die gleiche. Das Globulin reagiert sogar öfters ein wenig stärker als das Vollserum, was durch die Versuchstechnik erklärt wird (geringere Alkaleszenz der Globulinlösung als die des Vollserums). 3) Das Globulin aus einem negativen Serum reagiert im allgemeinen negativ. Es kann aber dennoch eine stärkere oder schwächere positive Reaktion liefern. 4) Das Albumin eines negativen Serums reagiert stets negativ.

Mit dieser von Kapsenberg angegebenen Versuchstechnik habe ich das inaktivierte Serum des Kaninchens No. 4, das meist positiv reagiert hat, in seine Albumin- und Globulinfraktion zerlegt, und mit beiden sowie dem Vollserum die WaR. und die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke sowie die Doldsche Trübungsreaktion ausgeführt. Aus Tabelle IV ist abzulesen, daß das Vollserum stark positiv reagiert, das Globulin nur mit der Komplementeinheit völlige Hemmung der Hämolyse zeigt, während das Albumin entsprechend den Angaben von Kapsenberg gänzlich negativ reagiert.

Tabelle IV.

| Kaninchen No. 4 | KE. | $\frac{1}{3}$ KE. | 2 KE. | Kontrollen | Sachs-Georgi | D. M. | Dold |
|-----------------|-----|-------------------|-------|------------|--------------|-------|------|
| Vollserum | +++ | +++ | +++ | — | — | — | — |
| Globulin | +++ | ± | ± | — | — | — | — |
| Albumin | — | — | — | — | — | — | — |

Das positive Kaninchenserum verhält sich also nicht wie ein Syphilitikerserum, bei dem die Intensität der Hemmung im Vollserum und im Globulin gleich stark ist, ja zuweilen die Hemmung des Globulins sogar stärker ist als die des Vollserums, sondern wie eines der negativen Menschensera, deren Globulin in manchen Fällen bei negativem Ausfall der

Albuminreaktion eine mehr oder minder starke Hemmung der Hämolyse ergibt. Die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke und die Doldsche Trübungsreaktion sind mit beiden Fraktionen negativ ausgefallen. Ich lege auf diese Feststellung besonderen Wert, da sie vielleicht die Möglichkeit bietet, auch eine fragliche Hemmung bei menschlichen Seren als spezifisch oder unspezifisch aufzudecken.

Welcher Art sind nun die Stoffe, die in der Globulinfraktion des Kaninchenserums den positiven Ausfall der WaR. bedingen? In einer früheren Arbeit (3) über die Beziehungen von Organabbauprodukten zur WaR. habe ich nach Much und Embden gezeigt, daß enteiweißte Sera von Syphilitikern eine positive Ninhydrinreaktion geben, während ein Teil der Normalsera ebenfalls positiv, der größere Teil negativ reagiert. Ich habe nun auch mit den enteiweißten Sera der Kaninchen die Ninhydrinreaktion angestellt und überraschenderweise stets ein positives Ergebnis erhalten. Leider sind diese Befunde nicht eindeutig, da die enteiweißten Sera auch eine zweifelhafte Biuretkreaktion gezeigt haben. Trotz wiederholter Untersuchung habe ich kein einwandfreies Ergebnis erhalten, so daß ich die Frage unentschieden lassen möchte, ob auch hier bei den unspezifischen Hemmungen der Kaninchensera Eiweißabbaustufen eine wesentliche Rolle spielen.

III.

Im Anfang dieser Arbeit habe ich bereits gezeigt, wie wenig geeignet das Kaninchen als Versuchstier für die Lösung von Fragestellungen erscheint, die sich damit beschäftigen, ob durch Einspritzung von nicht differenten Substanzen eine Änderung des Ausfalls der WaR. im positiven oder negativen Sinne zu erzielen ist. In folgender Weise habe ich zu dieser Frage einen experimentellen Beitrag geliefert: Von dem Gedanken ausgehend, daß die hemmende Wirkung von Extrakten durch Zusatz von Cholesterin verstärkt wird, habe ich den Kaninchen 3 und 6 eine kolloidale wässrige Lösung von Cholesterin eingespritzt. Die Hauptschwierigkeit liegt darin, eine auch mit Serum nicht flockende wässrige Emulsion von Cholesterin zu erhalten, was nach den Angaben von Porges

und Neubauer (24) auf folgende Weise gelingt: Man geht von einer Cholesterinlösung in Azeton aus und läßt diese im Wasserbad in destilliertes Wasser eintropfen, filtriert die auftretenden groben Flocken ab und erhält so eine dicht getrübe milchige Emulsion, die sich mit physiologischer Kochsalzlösung ohne auszuflocken verdünnen läßt. Ich bin von einer 2-proz. Cholesterinlösung ausgegangen und habe nun Kaninchen No. 6 5 ccm der unverdünnten Emulsion unter die Haut und Kaninchen No. 3 5 ccm der zehnfach verdünnten Emulsion in die Ohrvene je zweimal in Abständen von 6 Tagen eingespritzt. Vor jeder Einspritzung und 24 Stunden später ist das Serum der 2 Tiere nach Wassermann und mit der Graetzschen Modifikation untersucht worden. Aus Tabelle V geht hervor, daß bei Kaninchen No. 3 nach der ersten Injektion eine Verstärkung der Hemmung eingetreten ist, 6 Tage später nach der zweiten Injektion eine Abschwächung der Hemmung; bei Kaninchen No. 6 hat sich 24 Stunden nach der Einspritzung der Befund nicht geändert, während nach der zweiten Einspritzung ebenfalls eine Abschwächung der Hemmung festzustellen ist. Aus diesen Befunden irgendwelche Schlüsse auf eine Wirkung des eingespritzten Cholesterins zu ziehen, halte ich aus den oben angegebenen Gründen nicht für erlaubt.

Tabelle V.

| Kaninchen No. 3 | KE. | 1 $\frac{1}{2}$ KE. | 2 KE. | Serum-Kontrollen | KE. | 1 $\frac{1}{2}$ KE. | 2 KE. | Serum-Kontrollen |
|-----------------------------------|-----|---------------------|-------|------------------|-----|---------------------|-------|------------------|
| | | | | | | | | |
| Vor der Injektion | +++ | ± | ± | — | +++ | +++ | +++ | — |
| 24 Std. später | +++ | ++ | — | — | +++ | +++ | +++ | — |
| Vor der 2. Injektion nach 6 Tagen | +++ | (+) | — | — | +++ | +++ | +++ | — |
| 24 Std. nach der 2. Injektion | ± | — | — | — | — | — | — | — |
| Kaninchen No. 6 | | | | | | | | |
| Vor der Injektion | +++ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | — |
| 24 Std. später | +++ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | — |
| Vor der 2. Injektion | +++ | +++ | +++ | — | +++ | +++ | +++ | — |
| 24 Std. nach der 2. Injektion | + | — | — | — | — | — | — | — |

IV.

In einer weiteren Versuchsreihe habe ich mich nun mit der Frage beschäftigt, ob es nicht auch auf andere Weise wie bisher (Aenderung der Alkaleszenz, Anwendung von Fällungsmitteln usw.) gelingt, ein Wassermann-positives Serum negativ zu machen, und umgekehrt, um daraus vielleicht irgendwelche Anhaltspunkte für die Art des Vorgangs der WaR. zu gewinnen. Zuerst habe ich versucht, stark positives Luetiker-serum durch Digerieren mit Bakterienaufschwemmungen zu beeinflussen. Trotz verschieden langer Einwirkung ist eine Beeinflussung im angegebenen Sinne nicht festzustellen gewesen. Dann habe ich versucht, durch Digerieren des positiven Serums mit Hammelblutkörperchen eine derartige Wirkung zu erzielen, was jedoch nur in einem von drei Fällen geglückt ist. Ein gleichartiger Versuch, positives Kaninchen-serum durch Behandlung mit arteigenen Blutkörperchen zu beeinflussen, ist resultatlos verlaufen. Auch die Fällung mit Tierkohle und Kaolin hat einen Einfluß auf den Ausfall der Reaktion nicht erkennen lassen. Wir haben nun daran gedacht, daß das Chloralhydrat die Eigenschaft besitzt, biologische Vorgänge in ihrem Ablauf zu verlangsamen und darum versucht, ob nicht auch im Reagensglas eine ähnliche Wirkung der WaR. zu verzeichnen sei. Ich habe mir deshalb eine 10-proz. Lösung von Chloralhydrat, und zwar in physiologischer Kochsalzlösung bereitet, um die hämolytische Wirkung des destillierten Wassers zu vermeiden. In einem kleinen Vorversuch habe ich festgestellt, daß diese Chloralhydratlösung in aufsteigender Menge von 0,1—0,5 ccm mit Serum zusammengebracht keine Flockung ergibt. Im ersten Hauptversuch habe ich nun 0,1 ccm Patientenserum mit fallenden Mengen der 10-proz. Chloralhydratlösung (0,1—0,4 ccm) versetzt und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 0,5 ccm aufgefüllt, Extrakt und Komplement (in Abstufungen) hinzugefügt, $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad gebunden und nach Zusatz des hämolytischen Systems nach $\frac{1}{2}$ Stunde das erste Mal, nach 2 weiteren Stunden endgültig abgelesen. Als Kontrolle ist eine Reihe von Röhrchen ohne Serumzusatz mit denselben Mengen Chloralhydratlösung mitgelaufen.

Tabelle VI.

| | KE. | 1 $\frac{1}{2}$ KE. | 2 KE. | Kon- trolle | Kon- trolle | Kon- trolle |
|--|-----|---------------------|-------|----------------|----------------|----------------|
| Negatives Serum No. 1 | | | | | | |
| 0,1 Ser. + 0,5 NaCl + 0,4 Chloralhydrat (10 %) | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 „ + 0,6 „ + 0,3 „ | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 „ + 0,7 „ + 0,2 „ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 „ + 0,8 „ + 0,1 „ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | — |
| Positives Serum No. 1 | | | | | | |
| 0,1 Ser. + 0,5 NaCl + 0,4 Chloralhydrat (10 %) | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 „ + 0,6 „ + 0,3 „ | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 „ + 0,7 „ + 0,2 „ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 „ + 0,8 „ + 0,1 „ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | (±) |
| Kontrolle ohne Serum | | | | | | |
| 0,6 NaCl + 0,4 Chloralhydrat (10 %) | — | — | — | +++ | +++ | + |
| 0,7 „ + 0,3 „ | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,8 „ + 0,2 „ | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,9 „ + 0,1 „ | — | — | +++ | +++ | + | — |
| — + 0,5 „ | — | — | — | — | — | — |

Bei Durchsicht der Tabelle VI zeigt sich also die interessante Erscheinung, daß ein negatives Serum bei Zusatz von 0,3 und 0,4 ccm einer 10-proz. Chloralhydratlösung Hemmung der Serumkontrollen aufweist, während bei Zusatz von 0,1 und 0,2 ccm der Chloralhydratlösung auch die mit Antigen beschickten Röhrchen eine komplette Hemmung der Hämolyse zeigen; nur in der Serumkontrolle mit 0,1 ccm Chloralhydratlösung und doppelter Komplementeinheit ist Hämolyse eingetreten. Das positive Serum zeigt genau denselben Befund, nur daß in der letzten Serumkontrolle mit 0,1 ccm Chloralhydratlösung mit doppelter Komplementeinheit eine Spur minimaler Hemmung zu erkennen ist. In der Kontrollserie ohne Serum, in der auch eine Reihe mit Zusatz von 0,5 ccm Chloralhydratlösung mitgelaufen ist, ist der Befund fast der gleiche, nur daß in den beiden Reihen, die Antigen und 0,1 ccm bzw. 0,2 ccm Chloralhydratlösung enthalten, mit Ausnahme eines Röhrchens Hämolyse eingetreten ist. Vollkommene Lösung ist in dieser Kontrollserie in allen Röhrchen bei Zusatz von 0,5 ccm der 10-proz. Chloralhydratlösung erfolgt.

Eine Wiederholung dieses Versuches mit Zusatz von 0,3, 0,4 und 0,5 ccm der 10-proz. Chloralhydratlösung ergibt nicht ganz denselben Befund, wie aus Tabelle VII ersichtlich. Vor

allem ist die bei Zusatz von 0,5 ccm Chloralhydratlösung erwartete völlige Hämolyse ausgeblieben.

Tabelle VII.

| | KE. | 1 $\frac{1}{2}$ KE. | 2 KE. | Kontrolle | Kontrolle | Kontrolle | NaCl |
|--------------------------------------|-----|---------------------|-------|-----------|-----------|-----------|------|
| 0,1 ccm neg. Ser. + 0,3 Chloralhydr. | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | 0,6 |
| 0,1 " " " + 0,4 " | — | — | — | +++ | +++ | +++ | 0,5 |
| 0,1 " " " + 0,5 " | — | — | — | ++ | + | +++ | 0,4 |
| 0,1 ccm pos. Ser. + 0,3 Chloralhydr. | — | (+++) | +++ | +++ | +++ | +++ | 0,6 |
| 0,1 " " " + 0,4 " | — | — | — | +++ | +++ | +++ | 0,5 |
| 0,1 " " " + 0,5 " | — | — | — | +++ | +++ | +++ | 0,4 |
| Kontrolle ohne Serum: | | | | | | | |
| + 0,3 Chloralhydr. | — | — | — | +++ | +++ | +++ | 0,7 |
| + 0,4 " | — | — | — | fehlt | +++ | +++ | 0,6 |
| + 0,5 " | — | — | — | +++ | — | +++ | 0,5 |

In einem weiteren Versuch habe ich deshalb statt einer 10-proz. eine 15-proz. Chloralhydratlösung gewählt. Das Ergebnis ist aus Tabelle VIII abzulesen.

Tabelle VIII.

| Mit 15-proz. Chloralhydratlösung | KE. | 1 $\frac{1}{2}$ KE. | 2 KE. | Kontrolle | Kontrolle | Kontrolle |
|--|-----|---------------------|-------|-----------|-----------|-----------|
| Positives Serum: | | | | | | |
| 0,1 Ser. + 0,6 NaCl + 0,3 Chloralhydr. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 " + 0,5 " + 0,4 " | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 " + 0,4 " + 0,5 " | — | — | — | — | — | — |
| Negatives Serum: | | | | | | |
| 0,1 Ser. + 0,6 NaCl + 0,3 Chloralhydr. | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,1 " + 0,5 " + 0,4 " | — | — | — | +++ | — | — |
| 0,1 " + 0,4 " + 0,5 " | — | — | — | — | — | — |
| Kontrolle ohne Serum: | | | | | | |
| 0,7 NaCl + 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | +++ | +++ | +++ |
| 0,6 " + 0,4 " | — | — | — | (+++) | — | (+++) |
| 0,5 " + 0,5 " | — | — | — | — | — | — |

Es zeigt sich also, daß das positive Serum bei Zusatz von 0,5 ccm einer 15-proz. Chloralhydratlösung vollkommen negativ geworden ist, während das negative Serum bereits bei Zusatz von 0,4 ccm Chloralhydratlösung in dem mit größerer Komplementmenge beschickten Röhrchen wieder negativ geworden ist. Vergleicht man mit diesen Befunden frühere Arbeiten von Sachs und Altmann (25), Rondoni (26) und

Abramow (27) über den Einfluß der Reaktion auf den Ausfall der WaR., so findet man auch dort, daß bei Zugabe von bestimmten Säure- und Alkalimengen die charakteristische Hemmung des Luetikerserums verloren geht. Die Titrierung einer 10-proz. Chloralhydratlösung gegen n/NaOH hat nun ergeben, daß sie leicht sauer reagiert (10 ccm der Chloralhydratlösung verbrauchen bis zum Phenolphthaleinpunkt 0,25 ccm n/NaOH). Auch der verwendete Extrakt zeigt leicht saure Reaktion. So wird die paradoxe Erscheinung, daß in meinen Versuchen in einer gewissen Breite nur die Serumkontrollen — also ohne Extrakt — Hemmung der Hämolyse aufweisen, verständlich. Daß diese Deutung meiner Versuche richtig ist, geht auch aus der Kontrollserie ohne Serum hervor, die eine ganz ähnliche Beeinflussung der Hämolyse zeigt, wie die mit negativem oder positivem Serum angesetzten Versuchsreihen. Daß keine genau quantitative Uebereinstimmung besteht, ist dadurch zu erklären, daß in der Kontrollreihe ja das Serum fehlt und daß außerdem mit den benutzten Pipetten ein im chemischen Sinne exaktes Arbeiten nicht möglich gewesen ist.

In einer weiteren Versuchsreihe habe ich nun geprüft, ob beim Zusatz abgestufter Mengen von Chloralhydratlösung zu negativen und positiven Seren, bei Anwesenheit von Wassermann-Extrakt in der Gebrauchsdosis, eine Ausflockung eintritt oder nicht. Die Versuchsanordnung ist die, daß 0,5 ccm Extraktverdünnung und 0,1 ccm Serum mit absteigenden Mengen einer 10-proz. Chloralhydratlösung sowie der doppelten

Tabelle IX.

| Bei Zusatz von 0,5 Chloralhydratlösung 10-proz. | Sofort | Nach | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|---------|
| | | 1 Std. | 3 Std. | 5 Std. | 22 Std. |
| Negative Sera: | | | | | |
| No. 1 | ± | (+) | ++ | ++ | ++++ |
| " 2 | ± | (+) | (+) | (+) | ++++ |
| " 3 | ± | (+) | (+) | (+) | ++++ |
| " 4 | ± | (+) | (+) | (+) | ++++ |
| " 5 | ± | ++ | +++ | +++ | ++++ |
| " 6 | + | + | + | + | ++++ |
| Positive Sera: | | | | | |
| No. 1 | — | — | — | — | ++++ |
| " 2 | — | — | — | — | ++++ |
| " 3 | (±) | (±) | — | — | ++++ |

Komplementeinheit in 0,5 ccm-Mengen zusammengebracht werden. Das Gemisch wird bei 37° im Brutschrank gehalten. Die Ablesung im Agglutinoskop erfolgt sofort und darauf in Abständen von 1, 3, 5 und mehr Stunden. Wie Tabelle IX zeigt, ist nach 3 Stunden bei den 3 positiven Seren keine Flockung zu sehen, während bei den 6 negativen Seren eine zum Teil deutliche Flockung eingetreten ist. Nach 22 Stunden sind sämtliche Röhrchen dick ausgeflockt.

In einem weiteren Versuch ist dasselbe, nur ohne Komplementzusatz, und zum Teil mit anderen Mengen Chloralhydratlösung, wiederholt. Aus Tabelle X ist zu entnehmen, daß die 3 positiven Sera nach 1 Stunde bei Zusatz von 0,5 und 0,6 ccm Chloralhydratlösung keine Flockung zeigen, während das negative Serum ausgeflockt ist; nach 3 Stunden ist ein Unterschied in der Flockung nur mehr bei der Chloralhydratmenge 0,4 ccm zu beobachten: die positiven Sera zeigen keine Flockung, das negative Serum hingegen ist ausgeflockt.

Tabelle X.

| Mit 10-proz. Chloralhydratlösung | So-fort | Nach | | | | | |
|----------------------------------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 St. | 3 Std. | 4 Std. | 5 Std. | 7 Std. | 22 St. |
| Positive Sera: | | | | | | | |
| No. 1 | | | | | | | |
| mit 0,3 ccm Chloralhydr. | — | — | — | — | — | (±) | — |
| „ 0,4 „ „ | — | — | — | +++ | +++ | ++++ | — |
| „ 0,5 „ „ | — | — | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |
| „ 0,6 „ „ | ± | — | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |
| No. 2 | | | | | | | |
| mit 0,3 ccm Chloralhydr. | — | — | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ „ | — | — | — | — | — | ++ | — |
| „ 0,5 „ „ | — | — | — | — | (±) | — | — |
| „ 0,6 „ „ | ± | — | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |
| No. 3 | | | | | | | |
| mit 0,3 ccm Chloralhydr. | — | — | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ „ | — | — | — | — | — | ++++ | — |
| „ 0,5 „ „ | — | — | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |
| „ 0,6 „ „ | + | — | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |
| Negatives Serum: | | | | | | | |
| mit 0,3 ccm Chloralhydr. | — | — | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ „ | — | — | (±) | + | + | ++++ | — |
| „ 0,5 „ „ | — | (±) | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |
| „ 0,6 „ „ | — | + | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | — |

Entsprechend den Versuchen mit der WaR. habe ich den letzten Flockungsversuch statt mit 10-proz. mit 15-proz. Chloralhydratlösung angesetzt. Aus Tabelle XI ist zu ersehen, daß der bei Zusatz von 10-proz. Chloralhydratlösung beobachtete Unterschied in der Flockung Wassermann-positiver und -negativer Sera nicht mehr vorhanden ist; die negativen Sera lassen zum Teil nach 3—5 Stunden eine Flockung vermissen, während auch bei den positiven Seren teilweise Flockung eingetreten ist.

Tabelle XI.

| Mit 15-proz. Chloralhydratlösung | Sofort | Nach | | | |
|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 Std. | 3 Std. | 4 Std. | 5 Std. |
| Positive Sera: | | | | | |
| No. 1 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | (±) | — | — | — |
| „ 0,5 „ | — | (±) | — | ± | +++ |
| No. 2 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | — | (+) | + | +++ |
| „ 0,5 „ | — | — | (+) | + | +++ |
| No. 3 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | ± |
| „ 0,4 „ | — | — | — | ± | ++ |
| „ 0,5 „ | — | — | (+) | + | +++ |
| Negative Sera: | | | | | |
| No. 1 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | — | + | + | ++ |
| „ 0,5 „ | — | — | ++ | +++ | +++ |
| No. 2 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | — | — | — | — |
| „ 0,5 „ | — | — | — | (±) | +++ |
| No. 3 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | — | — | — | — |
| „ 0,5 „ | — | — | — | — | + |
| No. 4 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | — | — | — | — |
| „ 0,5 „ | — | — | — | — | + |
| No. 5 mit 0,3 Chloralhydrat | — | — | — | — | — |
| „ 0,4 „ | — | — | (++) | ++ | +++ |
| „ 0,5 „ | — | + | ++ | ++ | +++ |

In den gleichzeitig angesetzten Kontrollen ohne Extrakt fällt nun auf (in der Tabelle nicht mit aufgeführt), daß das positive Serum nach 4 Stunden eine Spur Flockung aufweist, während das negative Serum ohne Extraktzusatz keine Flockung erkennen läßt. Ich habe deshalb in einer weiteren Versuchs-

reihe verschiedene positive und negative Sera mit abgestuften Chloralhydratmengen (15-proz.) ohne Extrakt angesetzt und habe dabei gefunden, daß tatsächlich bei fast allen positiven Seren, allerdings nicht schon nach 4 Stunden, sondern erst nach 7 Stunden eine Flockung auftritt, die die negativen Seren zumeist vermissen lassen. Tabelle XII gibt darüber Auskunft, nach welcher Zeit und bei welcher Chloralhydratmenge dieser

Tabelle XII.

| Mit 15-proz. Chloralhydratlösung | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|-------------------|--------|--------|--------|--------|--|
| | Sofort | Nach | | | | | Sofort | Nach | | | |
| | | 1 Std. | 2 Std. | 6 Std. | 7 Std. | | 1 Std. | 2 Std. | 6 Std. | 7 Std. | |
| Positive Sera: | | | | | Negative Sera: | | | | | | |
| No. 1 | | | | | No. 1 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | + | + | — | + | + | m.0,3Chloralhydr. | (+) | (+) | ± | — | |
| „0,4 „ | + | + | — | + | + | „0,4 „ | (+) | (+) | ± | ± | |
| „0,5 „ | + | + | ++ | ++ | ++ | „0,5 „ | (+) | ± | ± | — | |
| No. 2 | | | | | No. 2 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | + | + | + | + | + | m.0,3Chloralhydr. | (+) | (+) | ± | ± | |
| „0,4 „ | + | + | + | + | + | „0,4 „ | (+) | (+) | (+) | (+) | |
| „0,5 „ | + | + | + | + | + | „0,5 „ | (+) | (+) | (+) | ± | |
| No. 3 | | | | | No. 3 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | m.0,3Chloralhydr. | (+) | (+) | ± | ± | |
| „0,4 „ | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | „0,4 „ | (+) | (+) | ± | — | |
| „0,5 „ | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | „0,5 „ | (+) | (+) | ± | — | |
| No. 4 | | | | | No. 4 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | (+) | (+) | m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | — | |
| „0,4 „ | — | — | — | + | + | „0,4 „ | — | — | — | — | |
| „0,5 „ | — | — | — | (+) | (+) | „0,5 „ | — | — | — | — | |
| No. 5 | | | | | No. 5 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | (+) | + | + | + | + | m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | — | |
| „0,4 „ | ± | (+) | (+) | + | + | „0,4 „ | — | — | — | — | |
| „0,5 „ | ± | (+) | (+) | (+) | (+) | „0,5 „ | — | — | — | — | |
| No. 6 | | | | | No. 6 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | — | — | (+) | — | (+) | m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | — | |
| „0,4 „ | — | — | + | + | + | „0,4 „ | — | — | — | — | |
| „0,5 „ | — | (+) | + | + | + | „0,5 „ | — | — | — | — | |
| No. 7 | | | | | No. 7 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | — | — | (+) | — | (+) | m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | — | |
| „0,4 „ | — | — | (±) | ± | (+) | „0,4 „ | — | — | — | — | |
| „0,5 „ | — | — | — | — | — | „0,5 „ | — | — | — | — | |
| No. 8 | | | | | No. 8 | | | | | | |
| m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | — | (±) | m.0,3Chloralhydr. | — | — | — | + | |
| „0,4 „ | — | — | (±) | (±) | (+) | „0,4 „ | — | — | — | + | |
| „0,5 „ | — | — | — | — | — | „0,5 „ | — | — | ± | ± | |

Unterschied zwischen positiven und negativen Seren auftritt. Es ist jedenfalls interessant, daß auch bei dieser einfachen Versuchsanordnung ein Flockungsunterschied zwischen positiven und negativen Seren zu bestehen scheint, der gerade umgekehrt verläuft wie bei den mit Extraktverdünnung beschickten Reihen. Ich teile diese Befunde mit aller Zurückhaltung nur als vorläufige mit, da sie ja auch auf Zufälligkeit beruhen können, was sich bei größeren Versuchsreihen, die ich mir vorbehalte, herausstellen wird. Aus dem gleichen Grunde möchte ich deshalb an dieser Stelle auch nicht darauf eingehen, wie dieser Flockungsunterschied zwischen positiven und negativen Seren nach Chloralhydratzusatz zu erklären ist.

Zusammenfassung.

1) Die im Kaninchenserum auftretenden unspezifischen Hemmungen der WaR. werden durch die Gesamtzahl der Leukozyten nicht beeinflußt. Dagegen scheint eine Beziehung zwischen dem Ausfall der WaR. und der Zahl der pseudo-eosinophilen polynukleären Leukozyten zu bestehen.

2) Es gelingt, die im Kaninchenserum auftretenden Hemmungen der WaR. durch Einspritzung einer wässerigen Cholesterinemulsion abzuschwächen. Jedoch ist es nicht angängig, daraus irgendwelche Schlüsse zu ziehen, da die beobachtete Aenderung im Ausfall der WaR. innerhalb der physiologischen Breite liegt.

3) Die Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinicke sowie die Trübungsreaktion nach Dold sind beim normalen Kaninchen, trotz auftretender Hemmungen bei der WaR., stets negativ. Die Globulinfraction eines Wassermann-positiven Kaninchensersums gibt eine geringere Hemmung als das Vollserum, wodurch es sich ebenfalls vom Serum eines Luetikers unterscheidet. Ich lege auf diese Feststellung besonderen Wert, da sich so vielleicht die Möglichkeit bietet, auch eine fragliche Hemmung bei menschlichen Seren als spezifisch oder unspezifisch zu erkennen.

4) Der Zusatz von Hammelblutkörperchen, arteigenen Blutkörperchen und von gewissen Adsorbentien (Tierkohle, Kaolin) zu positiven Seren läßt eine Beeinflussung der WaR.

340 Bachmann, Beitrag zur Frage der unsp. Hemmungen usw.

bei der von uns gewählten Versuchsanordnung nicht mit Sicherheit erkennen.

5) Bei Zusatz von Chloralhydratlösung zu Wassermann-positiven und -negativen Seren treten Aenderungen im Ausfall der WaR. ein, die auf Säureeinwirkung zurückzuführen sein dürften.

6) Bei Zusatz von Chloralhydratlösung zu Wassermann-positiven und -negativen Seren sind bestimmte Flockungsunterschiede zu beobachten, die serologisch von Interesse sind.

Literaturverzeichnis.

- 1) Kuszinski, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 6.
- 2) Marcuse, Centralbl. f. Bakt., Bd. 87, 1921, Heft 5.
- 3) Bachmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, Heft 3/4.
- 4) v. Wassermann, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 14.
- 5) Much und Schmidt, Dtsch. med. Wochenschr., 1921, No. 21.
- 6) Wendlandt, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920, Heft 1.
- 7) Jantzen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, Heft 2.
- 8) Jakobsthal, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 19, p. 1036.
- 9) Pappenheim, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 44, p. 2034.
- 10) v. Wassermann und Lange, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 11, p. 527.
- 11) Schwab, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, 1921, Heft 1, p. 87.
- 12) Graetz, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 89, p. 285.
- 13) Dold, Med. Klinik, 1921, No. 31.
- 14) Konitzer, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30.
- 15) Burmeister, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 48.
- 16) Fröscher, Folia haematologica, Bd. 7, 1909, p. 111.
- 17) Conf. 14, p. 405.
- 18) Weisbach, Dtsch. med. Wochenschr., 1921, No. 22.
- 19) Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, p. 562.
- 20) Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 33.
- 21) Gloor und Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, Heft 5.
- 22) Felke, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, 1921, Heft 2, p. 141.
- 23) Kapsenberg, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, Heft 4/5, p. 450.
- 24) Porges und Neubauer, Biochem. Zeitschr., 1908.
- 25) Sachs und Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.
- 26) Rondoni, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910, p. 515.
- 27) Abramow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1911, p. 144.

Nachdruck verboten.

Der Charakter der Wassermannschen Reaktion bezüglich der Standardisierung der Technik ¹⁾.

Von **John A. Kolmer, M. D.**,
Professor der Pathologie an der Pennsylvania-Universität.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. April 1922.)

Die Literatur über die Wassermannsche und andere Serum-Reaktionen für Syphilis ist so umfangreich geworden, und das Thema ist so oft und so eingehend erörtert worden, daß es beinahe überflüssig erscheinen dürfte, ihm weitere Zeit zu widmen. Dagegen ist aber die Syphilis so weit verbreitet und von solcher ökonomischer Wichtigkeit, mit so großer Wahrscheinlichkeit in jedem Spezialfache der medizinischen Praxis anzutreffen, und kann in gewissen Stadien so leicht klinisch übersehen werden, daß das Thema von allgemeinem Interesse und großer Wichtigkeit ist. Verbesserungen in unseren diagnostischen Hilfsmitteln sind darum willkommen. Keine andere rein-laboratorische Probe ist mehr gebraucht und mißbraucht, gelobt und verdammt und so oft mißverstanden worden, wie die Wassermannsche Reaktion; doch hat ihr wirklicher Wert sie befähigt, allen Stürmen zu trotzen, so daß sie wahrscheinlich heute, in ihrem Wirkungsvermögen wenigstens, das wichtigste laboratorische Verfahren ist, voll von nutzbringenden Möglichkeiten, wenn richtig ausgeführt und korrekt ausgelegt, anderenfalls aber fähig, Schaden anzurichten.

Die Syphilis in ihren ersten und besonders in ihren späteren Erscheinungen wird so vielfach in jedem Spezialfache der Medizin angetroffen, daß alle Aerzte in ihrer Praxis damit rechnen müssen. Gewöhnlich sind die Spezialisten wohl imstande, die Krankheit zu entdecken, wenn sie in ihr besonderes

1) Aus dem Philadelphia-Forschungsinstitut für Dermatologie und der Abteilung für Pathologie und Bakteriologie der Pennsylvania-Universität.

Gebiet fällt; jedoch in ihren späteren Stadien, unter solch verschiedenartigen klinischen Kundgebungen, kann sie leicht der Aufmerksamkeit des Arztes in der allgemeinen Praxis entgehen. Selbst der erfahrenste Arzt kann verfehlen, die Syphilis in ihren latenten Stadien zu diagnostizieren, ebenso einen atypischen Fall mit einer negativen oder unbestimmten Anamnese. Um ihren Zweck richtig zu erfüllen, muß die Wassermannsche Reaktion unter solchen Umständen sich von größtem Wert erweisen; sie soll den klinischen Scharfsinn und die Urteilskraft nicht ersetzen, sondern sich als ein Mittel erweisen, bei klinischen Schwierigkeiten zweifelhafte oder nicht beargwöhnte Fälle genau und richtig zu beurteilen. Wann und wo klinischer Scharfsinn am wenigsten verwertet werden kann, muß die Zuverlässigkeit der Serumprobe am größten sein, und darum verdient die Technik besondere Aufmerksamkeit, denn sie ist von größter Wichtigkeit in dem jetzigen internationalen Feldzuge gegen die Syphilis.

Die Wassermannsche Reaktion nimmt eine eigenartige Stellung ein unter den immunologischen Phänomenen. Anfänglich als eine spezifische Reaktion angesehen, wird sie jetzt als biologisch unspezifisch anerkannt; aber dieses vermindert ihren diagnostischen Wert nicht, weil man bestimmt weiß, daß die besondere antikörpergleiche Substanz, die im Blute oder in der Spinalflüssigkeit oder in beiden vorhanden und die für die Reaktion verantwortlich ist, nur bei Syphilis und *Framboesia tropica* vorkommt.

Eine Infektion durch die Spirochäten dieser beiden Krankheiten hat die Erzeugung einer Substanz zur Folge, die von Neisser sehr passend „Reagin“ genannt wurde, und welche die Eigenschaft hat, sich mit gewissen lipoiden Substanzen zu vereinigen oder auf sie zu reagieren. Der daraus entstehende Komplex wird von einigen Forschern als ein Präzipitat betrachtet, da er fähig ist, hämolytisches Komplement im Reagenzglase zu binden. Dieses „Reagin“ wird wahrscheinlich von den Zellen erzeugt, die mit den Spirochäten in direkte Berührung kommen und so von den letzteren stimuliert werden; daher ist es zuerst in den Säften des Zellgewebes beim Schanker zu finden, wie es von Klauder und mir selbst unlängst bewiesen worden ist. Während die Spirochäten durch

den Körper verbreitet werden, nimmt sehr wahrscheinlich das Zellgewebe der verschiedenen inneren Organe, dasjenige des Gehirns und des Rückenmarks eingeschlossen, teil an der Hervorbringung dieser Wassermannschen Substanz oder „Reagin“. Sogar die Zellen der Blutgefäße können an diesem Prozesse teilnehmen, ebenso die Lymphozyten und andere Zellen entzündlicher Reizung, welche die Spirochäten umgeben. Es kann sein, daß die Lipide der Spirochäten antigen sind, und daß sie die Hervorbringung des „Reagin“ verursachen; aber bis jetzt sind alle Versuche, Antikörper mit reinen Lipoiden zu erzeugen, mißlungen, und selbst wenn es der Fall wäre, sollte man einen gewissen Grad von Spezifität von diesen Lipoiden erwarten, was nicht bewiesen worden ist. Diese Anschauung stimmt nicht überein mit unserem jetzigen Begriffe von Zellgeweben, die gewöhnlich beteiligt sind an der Antikörperproduktion bei ansteckenden Krankheiten; aber es gibt triftige Gründe dafür, daß man dieses Zellprodukt „Reagin“ nicht als einen wahren Antikörper betrachten sollte. Erstens steht die Quantität, die in den Körperflüssigkeiten vorhanden ist, in mehr oder weniger direktem Verhältnisse zu der Stärke der Infektion, obgleich dieses Verhältnis sich klinisch nicht äußern mag, wenn die Spirochäten in Geweben von unbedeutenderer physiologischer Wichtigkeit tätig sind. Zweitens kann das Reagin in den latenten oder ruhenden Stadien der Krankheit in solch kleinen Mengen vorhanden sein, daß es der Entdeckung entgeht, während, wenn es ein wirklicher Antikörper wäre, der die Spirochäten zu diesen Perioden der Latenz zu zwingen fähig ist, es in größeren Mengen demonstrierbar sein sollte. Aus diesen und anderen Gründen muß die Wassermannsche Reaktion eher als ein Index des Infektionsgrades als der Immunität betrachtet werden, und wenn dies wahr ist, so ist die Erscheinung einzig in ihrer Art — nicht nur aus diesem Grunde, sondern wegen des besonderen Charakters des „Reagin“.

Dieses „Reagin“ vermag Komplement in der Gegenwart einer passenden Aufschwemmung von Lipoiden zu binden. Wahrscheinlich ist es nicht selbst ein Lipoid oder identisch mit dem Lipoidgehalt des Serums oder der Spinalflüssigkeit. Allerdings sind über diese Frage die Akten noch keines-

wegs geschlossen. Vielmehr sind weitere Untersuchungen notwendig.

Die wichtige, praktische Frage ist: können ähnliche von Zellen produzierte „Reagine“, fähig die physikalisch-chemische Erscheinung der Komplementbindung in Gegenwart von Lipoid-extrakten herbeizuführen, bei anderen Krankheiten als Syphilis und Framboesia erzeugt werden? Wird die Frage bejaht durch die positiven Wassermannschen Reaktionen, die bei Lepra, Diabetes mellitus, während der Fieberstadien bei Malaria, Abdominaltyphus, Lungenentzündung, in den letzten Stadien der Schwangerschaft usw. berichtet worden sind? Wenn man die vielen Möglichkeiten technischer Fehler bedenkt, die jedes wichtige Element und jede wichtige Phase der Probe betreffen kann, so muß die Antwort sehr vorsichtig gegeben werden. Könnte nicht außerdem die Schwangerschaft, eine interkurrente Infektion, eine Stoffwechselkrankheit usw. latente Spirochätenherde zur Tätigkeit anreizen und „Reagin“ erzeugen, ebenso wie ein Trauma reizend wirken kann? Ich bin sicher, daß diese Frage der nichtspezifischen Reaktionen nicht durch einen bloßen Ueberblick über die Literatur der Wassermannschen Reaktion in nichtsyphilitischen Krankheiten beantwortet werden kann, weil zuviel davon unverkennbar auf technische Fehler aufgebaut worden ist. Wiederum verleugne ich nicht die Möglichkeit positiver Wassermannscher Reaktionen in nichtsyphilitischen Krankheiten bei korrekter Technik. Ich weiß aber, daß der Kliniker nicht immer in seinem Urteil unfehlbar ist, daß Syphilis klinischer Entdeckung entgehen kann, und daß diese unerwarteten positiven Reaktionen nicht immer einem laboratorischen Fehler zuzuschreiben sind. Meine Frage bleibt: kann man ein „Reagin“, ähnlich dem bei Syphilis und Framboesia hervorgebrachten, oder eine physikalisch-chemische Veränderung des Blutes und der Spinalflüssigkeit, wie sie bei diesen Krankheiten vorkommt, auch bei anderen ansteckenden und nicht ansteckenden Krankheiten finden? Eine endgültige Antwort kann nicht gegeben werden, weil das Thema weiterer Untersuchung bedarf; aber wenn ich mir eine Prophezeiung erlauben darf, so glaube ich, daß die Antwort eine verneinende sein wird, und daß, je mehr die klinische und pathologische Kenntnis der Syphilis sich

erweitert, und besonders, je mehr die Technik der Komplementbindung sich vervollkommnet, desto mehr Nachdruck wird auf die syphilitische Bedeutsamkeit dieser unerwarteten und schwachpositiven Reaktionen gelegt werden, die in den Seris von als nicht syphilitisch diagnostizierten Personen beobachtet werden.

Eine Quelle klinischen Irrtums, die nicht vergessen werden sollte, ist, daß eine positive Wassermannsche Reaktion nicht notwendigerweise bedeutet, daß eine gewisse Läsion syphilitisch ist; z. B. kann ein tuberkulöses Geschwür im Kehlkopfe einer Person mit latenter Syphilis erscheinen und sich unter antiluetischer Behandlung nicht bessern. Andererseits kann die Wassermannsche Reaktion falsche negative Reaktionen zeigen. Manche Aerzte halten deshalb die Probe für nicht genügend sensitiv.

Diese falschen Reaktionen können dem zuzuschreiben sein, daß sich nicht genügend „Reagin“ im Blute oder in der Spinalflüssigkeit befindet, oder daß technische Fehler gemacht worden sind. Die Tatsache, daß eine Person sich unverkennbar Syphilis zugezogen hat, bedeutet nicht notwendigerweise, daß das „Reagin“ in nachweisbarer Quantität vorhanden ist. Dazu ist ein gewisser Grad von Spirochätenaktivität nötig, und die Anzahl der Spirochäten, ihre Virulenz und ihr Aufenthaltsort im Körper sind wichtige modifizierende Faktoren. Warthin hat bewiesen, daß Spirochäten in den Zellgeweben beinahe ohne jegliche entzündliche Reaktion existieren können, und unter diesen Umständen würde die Reaginproduktion sehr gering sein.

Darum soll die Technik der Wassermannschen Reaktion so sensitiv sein, als es mit der Spezifität vereinbar ist. Jeder Serologe weiß, daß die Methode so verfeinert werden kann, daß man Gefahr läuft, unspezifische Reaktionen zu erhalten; aber die Schädlichkeit der letzteren ist so klar, daß sie hier nicht besprochen werden darf. Ob Fälle von latenter Syphilis, die unerwartet von der Wassermannschen Reaktion entdeckt werden, mild, mäßig oder intensiv behandelt werden sollen, gehört auch nicht in diese Erörterung. Es sollte jedoch keine Meinungsverschiedenheit darüber bestehen, daß es wünschenswert ist, eine Komplementfixationsmethode zu finden,

die so sensitiv ist, als es mit der Spezifität in praxi vereinbar ist, um falsche negative Reaktionen zu vermeiden; und besonders wenn die Probe dazu dient, die Behandlung zu bestimmen, damit der bedauerliche Fehler, die Krankheit nicht genügend zu behandeln, vermieden werden kann. Selbst unter diesen Umständen werden wir falsche negative Reaktionen erwarten müssen, aus dem guten biologischen Grunde, weil, wo fast gar kein „Reagin“ im Serum und in der Spinalflüssigkeit vorhanden ist, es im Reagenzglase nicht entdeckt werden kann. Im Zusammenhange mit diesem Thema der biologisch-falsch-negativen Wassermannschen Reaktionen ist es wert zu bedenken, daß, obgleich „Reagin“ nicht in entdeckbaren Mengen im Blute gegenwärtig ist, es doch in genügenden Quantitäten in der Spinalflüssigkeit vorhanden sein kann, um positive Reaktionen zu geben. Die Ursache dieser Erscheinung ist unbekannt. Es kann sein, daß in diesen Fällen die Spirochäten hauptsächlich in den Geweben des Gehirns und des Rückenmarkes vorhanden sind, und daß das in diesen Geweben erzeugte „Reagin“ seinen Weg in die Spinalflüssigkeit findet, wo es in kleineren Mengen, als es im Serum möglich ist, erkannt werden kann, weil man zur Wassermannschen Probe fünf- bis zehnmal mehr Spinalflüssigkeit als Serum benutzen kann. Ich glaube, dies ist der Hauptgrund, aber außerdem wird möglicherweise etwas von dem „Reagin“ aus der Spinalflüssigkeit filtrierte während seiner Resorbierung in das lymphatische und das vaskuläre System.

Für die meisten Aerzte ist die Wassermannsche Probe nichts weiter als ein bestätigender Beweis der diagnostizierten Syphilis. Viele sind nicht geneigt, der Reaktion, ob sie positiv oder negativ ist, irgendeine Bedeutung zuzuschreiben, wenn das Resultat ihre klinische Erwartung nicht bestätigt.

Ohne Zweifel sind nicht wenige zu dieser Ansicht durch wirkliche Erfahrung gezwungen worden. Ich glaube aber, daß es möglich ist, technische Fehler zu vermeiden und den diagnostischen Wert der Probe sehr zu erhöhen, und daß es das Ziel und der Zweck der Serologen sein sollte, die Reaktion so zu gestalten, daß die Krankheit richtig diagnostiziert werden kann, auch wenn dies durch klinische Methoden nicht möglich

ist. Die Wassermannsche Probe verfehlt ihren eigentlichen Zweck, wenn sie dies nicht tun kann. Ich glaube, daß falsch-positive Reaktionen am wahrscheinlichsten durch technische Fehler verursacht werden, und daß, wie in anderen Zweigen der Medizin, Geschicklichkeit und Erfahrung nötig sind, um ihr Vorkommen möglichst zu verhindern. Ich glaube, daß bei verbesserter Technik das Auftreten von fälschlich positiven Reaktionen ganz unbedeutend werden wird, denn es liegt kein biologischer Grund für ihr Erscheinen bei einer nichtluetischen Krankheit vor, ausgenommen die *Framboesia tropica*. Fälschlich negative Reaktionen aber werden wahrscheinlich immer und zwar aus biologischen Gründen vorkommen, weil, wie sensitiv eine Probe auch gemacht werden wird, sie doch weder im Serum noch in der Spinalflüssigkeit etwas demonstrieren kann, was praktisch nicht vorhanden ist. Es scheint, daß in manchen Fällen von latenter Syphilis die Tätigkeit der Spirochäten so unbedeutend ist oder daß ihre Anzahl und ihre Virulenz so reduziert ist, daß nachweisbare Mengen von „Reagin“ nicht produziert werden.

Ich hoffe zuversichtlich, daß dieses hohe Ideal der Komplementbindungsprobe bei Syphilis gerechtfertigt ist. Nach meinen eigenen Beobachtungen und Erfahrungen glaube ich es, obgleich ich zugeben muß, daß alle Möglichkeiten der Reaktion nur durch enges Zusammenarbeiten des Klinikers und des Serologen verwirklicht werden können, oder von einem, der in beiden Zweigen ausgebildet und erfahren ist.

In den letzten sechs Jahren haben meine Kollegen und ich uns mit einer Reihe von Forschungen beschäftigt mit dem Zwecke, jede Phase der Komplementfixation bei Syphilis zu studieren, um eine Probe aufzubauen, die den höchsten Grad von Empfindlichkeit mit der geringsten Möglichkeit, unspezifische Reaktionen zu geben, verbindet. Ich sah ein, daß die Aufgabe groß war, ehe noch ein Anfang gemacht war, aber ich stellte mir nicht vor, daß sie so viel Arbeit erfordern würde. Mit dem Fortschritte unserer Forschungen wurde es klar, daß jede Einzelheit, wie trivial sie zuerst auch erscheinen mag, sorgfältigen Studiums würdig sei. Meine Mitarbeiter und ich haben uns immer bestrebt, die Arbeit ohne vorgefaßte

Meinungen und ohne Vorurteil fortzuführen. Man kann kaum hoffen oder erwarten, daß wir technischen Fehlern und irrigen Schlüssen entgangen seien; wir haben aber wahrheitsgemäß dargestellt, was wir getan und was wir beobachtet haben. Diese Forschungen haben uns endlich befähigt, eine neue Komplementfixationsprobe für Syphilis aufzubauen, welche, wie ich hoffe, andere ebenso befriedigen wird wie uns. Ich hoffe, daß Kliniker und Serologen einwilligen werden, sie wenigstens neben ihrer eigenen Technik auszuprobieren.

Die Standardisierung der Wassermannschen Reaktion ist schon besprochen worden; sie kann, wenn sie erreicht wird, gewisse Vorteile haben. Sie würde, z. B. eine genauere Analyse und Abschätzung der verschiedenen Arten und Methoden der Behandlung ermöglichen und das Vertrauen der medizinischen Profession im allgemeinen zu der Probe als Hilfe in der Luesdiagnostik sehr erhöhen.

Viele Aerzte haben, zweifellos, die unglückliche Erfahrung gemacht, verschiedene Resultate der Wassermannschen Reaktion zu erhalten mit Proben desselben Blutes, das nach verschiedenen Laboratorien geschickt worden war. Dies ist bedauerlich, aber nicht ganz unerwartet, wenn man den großen Einfluß der Technik auf die Reaktionen bedenkt und die zahlreichen Modifikationen, die in Praxis sind. Die Standardisierung der Technik würde sich die Verbesserung dieses Zustandes zum Ziel machen; es ist aber leicht, in den Irrtum zu verfallen, „die Kur schlimmer als die Krankheit“ zu machen! Z. B. wenn man nur wünschte, die Resultate gleichmäßig zu machen, in betreff positiver oder negativer Reaktionen, so könnte eine einfache Modifikation der ursprünglichen Wassermannschen Reaktion genügend sein. Mit anderen Worten, die Adoptierung einer Technik, die nur verhältnismäßig große Mengen von „Reagin“ zu demonstrieren fähig wäre, würde die schwach-positiven oder zweifelhaften Fälle, welche diese verschiedenen Resultate geben, durch negative Reaktionen ausscheiden. Nur grobe technische Fehler würden, unter diesen Umständen, gleichförmige Resultate stören. Ist aber eine solche Reaktion der Mühe wert? Sind nicht die wirklichen Fälle von Syphilis in den latenten Stadien

der Entdeckung wert, selbst wenn eine antiluetische Behandlung nicht durchgeführt wird? Sollte nicht ein Versuch gemacht werden, die Behandlung so gründlich wie möglich zu machen? Wenn die Behandlung von der Komplementfixationsreaktion geleitet wird, sollte nicht die Probe so sensitiv gemacht werden, wie es bei richtiger Spezifität möglich ist, so daß eine wirklich positive Reaktion das letzte Symptom sein würde, das verschwände, und das erste, wieder zurückzukehren, wenn nicht vollständige Sterilisierung erreicht worden ist?

Ich habe unsere neue Probe nicht eine standardisierte Probe genannt, weil sie diese Bezeichnung erst durch allgemeine Zustimmung verdienen muß. Unsere Erfahrung mit ihr ist aber günstig gewesen, und ich hoffe, daß sie sich wenigstens als ein Anfangspunkt zur Annahme einer standardisierten Technik erweisen wird. Ein neues Antigen und viele technische Verbesserungen sind miteingeschlossen worden, um der Technik die folgenden fünf Eigenschaften zu geben: 1) Einen so hohen Grad von Empfindlichkeit, wie er bei wirklicher Spezifität statthaft ist. 2) Technische Genauigkeit und Gleichförmigkeit in den Resultaten, so weit wenigstens, als positive oder negative Reaktionen in Betracht kommen. Unbedeutende Variationen in dem Grade der Positivität werden vorkommen; aber diese haben keine Bedeutung, solange die ursprüngliche Frage, ob ein Serum eine positive oder negative Reaktion gibt, beantwortet wird. 3) Eine wirklich quantitative Reaktion als ein Anzeiger für die Aktivität der Spirochäten und für den Einfluß der Behandlung. 4) Einfachheit der Technik, um Fehler zu einem Minimum zu reduzieren, und 5) Sparsamkeit an Zeit und Materialien, so weit wie dies mit guter Arbeit vereinbar ist. Einfachheit ist nur ein relativer Begriff; für den Unerfahrenen kann jede Technik kompliziert sein, für den Erfahrenen aber ist meine neue Probe einfach. Sie ist keine verkürzte Methode und hat niemals darauf hingeezielt, weil zu viele Quellen des Irrtums Aufmerksamkeit und Berichtigung verlangen, um den ersten Zweck der Empfindlichkeit und Spezifität zu erfüllen.

Die neue Komplementfixationsprobe für Syphilis hat versucht, diesen Forderungen entgegenzukommen; eine voll-

ständigere Diskussion und alle technischen Einzelheiten sind anderswo gegeben worden¹⁾:

I. Die Forderungen der Empfindlichkeit durch die folgenden Verfahrensmethoden:

- a) Durch den Gebrauch eines sehr empfindlichen Antigens.
- b) Durch den Gebrauch verhältnismäßig großer Mengen des Antigens.
- c) Durch den Gebrauch verhältnismäßig großer Mengen von Serum und Spinalflüssigkeit.
- d) Durch das Erhitzen der Sera auf 55° C für nur 15 Minuten anstatt 30 Minuten.
- e) Durch den Gebrauch einer Mischung von Meerschweinchenkomplement, so präpariert, daß ihre Empfindlichkeit zur Fixation verstärkt worden ist.
- f) Durch die Mischung des Serums und des Antigens für eine kurze Zeit vor der Hinzusetzung des Komplements.
- g) Durch den Gebrauch einer primären Inkubation von 15 oder 18 Stunden in einem Eisschranke bei 6° oder 8° C plus 10 Minuten in einem Wasserbade.
- h) Durch genaue Anpassung des hämolytischen Systems.
- i) Durch den Gebrauch eines Anti-Schaf- oder Anti-Ochshämolytischen Systems, obgleich die Probe mit einem Antimensch-System durchgeführt werden kann.
- j) Durch das Ablesen der Reaktionen innerhalb von 3 Stunden nach dem Ende der sekundären Brutperiode.

II. Die Forderung praktischer Spezifität durch:

- a) Genaue Anpassung des hämolytischen Systems an eine erste Brutperiode von 15—18 Stunden bei 6°—8° C.
- b) Sorgfältige Titrieranalyse des Antigens unter Umständen, welche die gebrauchte Dosis für diese Art primärer Inkubation passend machen.
- c) Die Einschließung zahlreicher und passender Kontrollen.

1) J. A. Kolmer: A new complement-fixation test for syphilis based upon the results of studies in the standardization of technic (to be published in the American Journal of Syphilis).

III. Die Forderung von technischer Richtigkeit und Gleichförmigkeit in den Resultaten durch:

- a) Die Annahme, daß das Pipettieren von verhältnismäßig großen Mengen der Flüssigkeit (0,2 bis 1 ccm) zu größerer Richtigkeit führt, als das Messen von kleineren Mengen (weniger als 0,2 ccm).
- b) Den Gebrauch eines Total-Volumens von 3 ccm mit genügend Blutkörperchen und Probierröhrchen von passender Größe, um klare, scharfe und leicht lesbare Reaktionen zu geben.
- c) Das Benutzen einer Skala, die für jede Probe besonders und mit denselben Reagentien präpariert wird.

IV. Die Forderung einer wirklich quantitativen Reaktion, die bei dem Gebrauche einer Komplementfixationsprobe als ein Führer und eine Kontrolle in der Behandlung so wichtig ist, ist durch die Ausarbeitung einer Serie von fünf Verdünnungen des Serums und der Spinalflüssigkeit des Patienten, die schnell und richtig aufgestellt werden kann, erfüllt worden.

V. Die Forderung der Einfachheit ist erfüllt worden insofern, als erfahrene Serologen in Betracht kommen. Einfachheit ist nur ein relativer Ausdruck, weil die einfachste Technik ein verwickeltes Problem für den unerfahrenen und ungenügend ausgebildeten Arbeiter ist, während hingegen eine verwickeltere Technik für den erfahrenen Serologen vollständig einfach ist. Ich bin ganz sicher, daß meine neue Probe von jedem, der praktische Kenntnis der Technik der Komplementbindung besitzt, befriedigend ausgeführt werden kann.

VI. Die Forderung der Sparsamkeit ist erfüllt worden, was die Materialien betrifft; in betreff der Zeit ist mein neuer Versuch nicht eine verkürzte Methode und nicht kürzer als die anderen gebräuchlichen Methoden.

Einige Zeilen dürften dem Thema der Gleichförmigkeit der Resultate zugefügt werden. Es muß betont werden, daß die antikomplementäre Tätigkeit des Serums oder der Spinalflüssigkeit sehr wichtig ist, und darum kann man nicht erwarten, daß Untersuchungen mit derselben Blutprobe ganz genau ähnliche Resultate abgeben, wenn sie in verschiedenen

Städten oder sogar in derselben Stadt ausgeführt werden, wenn Serologen verschiedene Methoden in der Präservierung des Blutes gebrauchen.

Zwei oder mehr Serologen, die in demselben Laboratorium oder in verschiedenen Laboratorien mit Proben des Blutes oder der Spinalflüssigkeit von derselben Person arbeiten, sollten wenigstens über die Frage positiver oder negativer Reaktionen übereinstimmen. Meiner Erfahrung nach kommt die größte Variation bei Seren vor, welche schwach positive oder unbestimmte Reaktionen geben. Kleine Widersprüche in den Berichten über den Grad der Komplementbindung muß man erwarten, denn die Persönlichkeit spielt eine wichtige Rolle beim Ablesen des Grades der Hämolyse, ebenso wie es der Fall ist, wenn Farben verglichen werden. Kleine Widersprüche dieser Art schaden nichts, solange die erste und fundamentale Frage, ob ein Serum eine positive oder negative Reaktion gibt, unberührt bleibt, besonders in betreff der Sera, die Grenzlinienresultate geben.

Standardisierung ist wünschenswert, wenn diese Endziele gefördert und befriedigt werden: Der erste Zweck sollte sein, eine so gute Technik zu erlangen, wie es im Lichte unserer jetzigen Kenntnis möglich ist. Gleichförmigkeit der Resultate Wassermannscher Proben in verschiedenen Laboratorien bedeutet wenig oder gar nichts, wenn die Probe nicht technisch korrekt ist, und so sensitiv, wie es mit praktischer Spezifität vereinbar ist. Sogar unter diesen Umständen werden die persönlichen Verschiedenheiten in wissenschaftlicher Genauigkeit bei den verschiedenen Serologen immer ihren Einfluß ausüben, wenn die Probe sensitiv sein soll. Ich glaube aber, daß Standardisierung unter diesen Umständen möglich ist, und meine eigenen Anstrengungen werden diesem Zwecke auch weiterhin gewidmet sein.

Bibliography.

- 1) Kolmer, J. A., The demand for and requirements of a standardized Wassermann reaction and method of investigation. Amer. Journ. Syph., Vol. 3, 1919, p. 1—7.
- 2) Brown, C. P., and Kolmer, J. A., The preparation of glassware and saline solution for the Wassermann reaction. The influence of acids, alkali and other factors. Amer. Journ. Syph., Vol. 3, 1919, p. 8—25.

- 3) Kolmer, J. A., and Brown, C. P., The red corpuscle suspension for the Wassermann reaction. The preservation of red blood cells. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 3, 1919, p. 169—192.
- 4) —, Matsunami, T., and Trist, M. E., A general study of the complements of various animals with special reference to human and guinea pig complements and methods of collection. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 3, 1919, p. 407—448.
- 5) —, —, —, The preservation of complement serum. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 3, 1919, p. 513—540.
- 6) —, and Fleck, A. M., Human versus guinea pig complement in the serum diagnosis of syphilis with special reference to methods employing human complement. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 3, 1919, p. 541—558.
- 7) —, Trist, M. E., and Fleck, A. M., A study of the natural thermostable and thermostabile hemolysins and hemagglutinins in human serum in relation to the Wassermann reaction. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 111—135.
- 8) —, and Rule, A., Influence of natural antisheep hemolysin in human sera upon the Wassermann reaction. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 135—157.
- 9) —, Matsunami, T., and Rule, A., A comparative study of complement fixation in syphilis with antihuman, antichickens and antisheep hemolytic systems. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 278—285.
- 10) —, and Rule, A., A study of methods for the preparation and preservation of hemolysins. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 484—518.
- 11) —, Matsunami, T., and Rule, A. M., A study of methods for adjusting the hemolytic system with special reference to the titration of complement. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 518—547.
- 12) —, Rule, A. M., and Trist, M. E., The titration of hemolysin and sensitized versus plain red blood corpuscles in complement fixation tests. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 616—640.
- 13) —, —, —, The influence of heating serum upon complement fixation in syphilis. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 641—674.
- 14) —, The influence of temperature and duration of primary incubation upon the hemolytic activity of complement. *Amer. Journ. Syph.*, Vol. 4, 1920, p. 675—684.
- 15) —, and Trist, M. E., The influence of temperature and duration of primary incubation upon the anticomplementary activity of organ extracts (antigens) and sera. *Amer. Journ. Syph.*
- 16) —, Rule, A. M., and Yagle, E., The influence of temperature and duration of primary incubation upon the velocity and amount of complement fixation in syphilis with different organ extracts (antigens). *Amer. Journ. Syph.*
- 17) —, —, and Trist, M. E., A comparative study of methods for conducting the primary incubation for complement fixation in syphilis with the technic recommended for a standardized technic. *Amer. Journ. Syph.*

- 18) Kolmer, J. A., The influence of the order of mixing serum, antigen and complement and total volume upon complement fixation reactions in syphilis. Amer. Journ. Syph.
- 19) —, A study of factors relating to the serum and serum control tube. Amer. Journ. Syph.
- 20) —, A study of factors influencing the amount of hemolysin to use in complement fixation tests. Amer. Journ. Syph.
- 21) —, and Rule, A. M., A study of methods for conducting the secondary incubation and time of reading of complement fixation reactions in syphilis. Amer. Journ. Syph.
- 22) —, A method for preventing the influence of natural antishcep hemolysin upon complement fixation reactions after the secondary incubation. Amer. Journ. Syph.
- 23) —, A study of methods for conducting quantitative complement fixation tests and of reading scales for recording reactions with the principles of methods adopted for a standardized technic. Amer. Journ. Syph.
- 24) —, and Trist, M. E., A comparative study of tissue extracts (antigens) and methods of preparation. Amer. Journ. Syph.
- 25) —, A superior antigen for complement fixation tests in syphilis (cholesterolized and lecithinized alcoholic extract of heart muscle). Amer. Journ. Syph.
- 26) —, and Yagle, E. M., A study of methods for the preservation of tissue extracts (antigens). Amer. Journ. Syph.
- 27) —, and Trist, M. E., A study of factors influencing the titration of antigen. Amer. Journ. Syph.
- 28) —, A study of factors influencing the amount of antigen to employ in complement fixation tests in syphilis. Amer. Journ. Syph.
- 29) —, A method for establishing a uniform and standardized unit of antigen. Amer. Journ. Syph.
- 30) —, A method for establishing a uniform and standardized unit of antigen. Amer. Journ. Syph.

Nachdruck verboten.

**Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei
präzipitierenden Antiseren.**

(Bemerkungen zu einem Artikel von Manteufel
und Beger über obenerwähnten Gegenstand.)

Von Dr. **H. E. Reeser**,
Abteilungsvorsteher am Reichsseruminstitut Rotterdam.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. März 1922.)

Im Laufe des Jahres 1919 wurde von Friedberger und Collier¹⁾ und sofort danach vom Verfasser dieses²⁾, also unabhängig voneinander, die Aufmerksamkeit auf „heterologe Präzipitine“ gelenkt und konstatiert, daß mehrere präzipitierende Sera auf das homologe Eiweiß nicht nur reagierten, sondern auch eine Reaktion (einige sogar in noch stärkeren Verdünnungen) mit heterologem Eiweiß gaben, welche Tatsache später von mehreren Untersuchern bestätigt wurde.

In Bezug hierauf meinte ich, bei der Ausführung der Präzipitationsreaktion zu großer Vorsicht ermahnen zu müssen, und lenkte die Aufmerksamkeit darauf, daß man in den Fällen, wo man Blutflecke auf Menschenblut untersuchen muß, davon überzeugt sein muß, daß durch das gebrauchte Antimenschenserum nur Menscheneiweiß und kein einziges anderes Eiweiß präzipitiert wird.

Weil ich, im Hinblick auf diese Angelegenheit, mich fragte, wie oft schon die Entscheidung „Menschenblut“ getroffen worden war auf Grund der biologischen Eiweißreaktion, wenn eine andere Blutart dabei im Spiele war, trieb ich die Vorsicht so weit, eine gründliche Untersuchung des Antiserums hinsichtlich einer möglichst großen Anzahl anderer tierischer Eiweiße zu fordern (völlige Gewißheit hat man auch dann noch nicht).

1) Friedberger und Collier, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 28, 1919, p. 237.

2) Reeser, *Mededeelingen van de Rijksserumenrichting*, Bd. 2, 1919, p. 39 und 83.

In ihrer Veröffentlichung über obenerwähnten Gegenstand erheben Manteufel und Beger¹⁾ Einspruch.

Sie schreiben: „Wir wollen in dieser Mitteilung hauptsächlich auf die im Antiserum liegenden Fehlerquellen zurückkommen, da allem Anschein nach durch einige Arbeiten der neueren Zeit in den Kreisen der Praktiker, die mit der Eiweißdifferenzierung zu tun haben, Zweifel an der Zuverlässigkeit der Antisera als diagnostische Reagentien für Untersuchungen von so erheblicher wirtschaftlicher Bedeutung, wie sie das Verfahren im Laufe der Zeit erlangt hat, wachgerufen worden ist.“

Und was ist nun der Erfolg ihrer Untersuchungen? Daß auch sie das Dasein der heterologen Präzipitinen (unspezifische Trübungen) zugeben müssen, denn von den 67 untersuchten Antisera wirkten nur 42 = 63 Proz. streng spezifisch, d. h. reagierten nur mit dem homologen Antigen und gaben sogar in Konzentrationen 1:100 (1:10 wurde nicht untersucht) mit dem heterologen Antigen eine negative Reaktion, ein Erfolg, mit dem sie offenbar sehr zufrieden sind, auch weil die Sera, von denen es sich herausstellte, daß sie heterologe Präzipitine enthielten, dieses heterologe Eiweiß nicht weiter zeigten als in einer Verdünnung 1:1000. Diese Zufriedenheit läßt sich auf den Umstand zurückführen, daß die Untersucher, im Gegensatz zu den Versuchen von Friedberger und Collier und von Verfasser dieses, eine weniger große Anzahl unspezifisch wirkender Sera fanden, und weiter, daß diese heterologen präzipitierenden Sera nicht weiter wirkten, als in einer Verdünnung 1:1000. Eine Ungenauigkeit bei ihren Versuchen liegt aber in der Titrierung ihrer Sera. Auf p. 353 teilen sie mit: „Die Auswertung erfolgte für das homologe Antigen in den Verdünnungen 1:100, 1:1000, 1:10 000 und 1:20 000; die heterologen Antigene wurden in den Verdünnungen 1:100, 1:200 und 1:1000 geprüft.“ Weshalb haben sie nicht immer sowohl homologes als heterologes Eiweiß in denselben Verdünnungen kontrolliert? Hätten Manteufel und Beger sich nicht auf das Lesen eines Referates meines Artikels be-

1) Manteufel und Beger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, p. 348.

schränkt, wie sie offenbar getan haben, sondern hätten sie die ursprüngliche Arbeit studiert und danach ihr Urteil ausgesprochen, was man doch erwarten dürfte, so hätten sie gesehen, daß bei meinen Versuchen die verschiedenen heterologen Eiweiße immer in denselben Verdünnungen wie das homologe Eiweiß untersucht worden sind, daß alle Vorkehrungen genau getroffen wurden und daß bei 8 der 30 untersuchten Antisera heterologe Reaktionen noch in einer Verdünnung 1:1000 und höher nachgewiesen werden konnten.

Weil weiter alle Injektionen und jede Kontrolle immer mit frischen Menschen- und Tiersera gemacht wurden und, wie gesagt, alle Vorkehrungen sehr genau getroffen worden sind, so mögen die Autoren den Ausdruck: „jedenfalls sind derartige grobe Irrtümer nicht dem Verfahren an sich zur Last zu legen“, selbst verantworten.

In bezug auf das Obenerwähnte werde ich denn auch immer bei der Ausführung der Präzipitationsreaktion empfehlen, mit einer großen Anzahl heterologer Eiweiße die Antisera zu kontrollieren und sich derjenigen Sera, welche in einer Verdünnung 1:100 und höher mit heterologen Eiweißen ein positives Resultat geben, bei der Untersuchung nicht zu bedienen.

Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antisera.

(Erwiderung auf die Bemerkungen von Reeser zu unserer gleichlautenden Arbeit in Bd. 33, Heft 4/5 dieser Zeitschrift.)

Von **P. Manteufel** und **H. Beger**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Mai 1922.)

Da wir annehmen, daß sich die wesentlichsten Bemerkungen Reesers durch sprachliche Mißverständnisse erklären, glauben wir uns auf einige kurze Hinweise beschränken zu können. Ein Mißverständnis liegt zunächst darin, daß Reeser annimmt, wir hätten auf Grund unserer Untersuchungen das Vorkommen von heterologen Präzipitinen (unspezifischen oder

heterologen Trübungen) in Abrede stellen wollen. Da wir bei den in unserer Arbeit zusammengestellten 67 Antisera ein „Uebergreifen“ zu 37 v. H. selbst beobachtet haben, würden wir uns mit einer derartigen Schlußfolgerung nicht allein über die Ergebnisse unserer eigenen Versuche, sondern der ganzen einschlägigen Literatur blind hinwegsetzen. Denn auch darin handelt es sich wohl um eine mißverständliche Ansicht von Reeser, daß erst durch die 1919 erschienenen Arbeiten von Friedberger und Collier sowie von Reeser selbst die Aufmerksamkeit auf die heterologen Trübungen gelenkt worden sei. Die Frage steht vielmehr seit 1903 zur Erörterung (vgl. die Arbeit von Uhlenhuth und Beumer in der Zeitschr. f. Medizinalbeamte, 1903)¹⁾ und hat schon damals zu der Erkenntnis geführt, daß die Präzipitinreaktion ebenso wie jede andere biologische Reaktion nur bei Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen zuverlässige spezifische Ausschläge gibt. Aus diesem Grunde sind von Uhlenhuth und seinen Mitarbeitern auch die genauen Vorschriften bezüglich Prüfung der Antisera auf Hochwertigkeit, Klarheit und Spezifität und bezüglich Anstellung der Reaktion ausgearbeitet worden. Durch die Arbeiten von Friedberger und Collier sowie Friedberger und Jarre ist nun der neue Gesichtspunkt in die Sache hineingekommen, daß die Entstehung dieser unspezifischen Präzipitine mit ähnlichen Gesetzen in Zusammenhang stehe, die Forssman für die Bildung von „heterogenetischen“ Hämolysinen ermittelt hat. Solche Hämolysine entstehen bekanntlich, wenn man z. B. Kaninchen mit Organaufschwemmungen von Meerschweinchen oder Pferden vorbehandelt; in diesem Falle treten heterogenetische Hämolysine für Hammelblut auf, und in ähnlicher Weise sollte sich beispielsweise bei der Gewinnung präzipitierender Pferdeantisera nach der Ansicht dieser Autoren das Auftreten von Hämmerpräzipitinen erklären, die an Häufigkeit

1) Uhlenhuth, Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut usw., Jena, G. Fischer, 1905; s. auch Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens, Jena, G. Fischer, 1909; Uhlenhuth und Steffenhagen, Die biologische Eiweißdifferenzierung usw., Kollé-Wassermann, Bd. 3, 1913.

und Stärke den isogenetischen gleichkommen oder sie übertreffen. Wir haben nun an unserem Material zu ermitteln versucht, inwieweit dieser neue Gesichtspunkt für die praktische Bedeutung des Uhlenhuthschen Verfahrens der Eiweißdifferenzierung von Belang ist.

Die Arbeit von Reeser, die auf diese Sonderfrage, soweit wir bei unserer unzulänglichen Kenntnis der holländischen Sprache ersehen, nicht eingeht, haben wir in dem Zusammenhange nur deshalb erwähnt, weil die Schlußfolgerungen des Autors geeignet sind, das Vertrauen zu der Verlässlichkeit der praktischen Eiweißdifferenzierung zu erschüttern. Unser Einspruch richtet sich weniger gegen die Ergebnisse seiner Versuche, obwohl unsere eigenen Erfahrungen auch in diesem Punkte andere sind, als gegen die Schlußfolgerung, daß man auch bei gründlichster Prüfung der Antisera unter Heranziehung von zahlreichen Antigenkontrollen keine völlige Gewißheit habe, ob Menschen- oder Tierblut vorliegt. Wir haben bei unseren Untersuchungen keinen Anlaß zu solchen schwerwiegenden Bedenken gefunden und glauben daher die Verantwortung übernehmen zu können, daß derartige grobe Irrtümer ausgeschlossen sind, sofern man die Uhlenhuthschen Vorschriften genau beachtet.

Auch darin hat uns Reeser anscheinend mißverstanden, daß wir die Prüfung unserer Antisera gegenüber dem heterologen Eiweiß nur mit den geringeren Eiweißverdünnungen (100, 200, 1000) vorgenommen haben. Wenn das im allgemeinen der Fall gewesen ist, so ist der Grund nicht, wie Reeser meint, eine so plumpe Ungenauigkeit unserer Untersuchungen, sondern der Umstand, daß der heterologe Titer unserer Sera nach der Uhlenhuthschen Auswertung geringer war als 1000, so daß sich also die Prüfung höherer Antigenverdünnungen erübrigte. Wenn in den Tabellen das Uebergreifen auf heterologes Eiweiß mit 1000 + angegeben ist, so bedeutet diese Zahl den Endtiter. Das erschien uns so selbstverständlich, daß wir es nicht besonders betont haben.

Die Forderung von Reeser, alle Antisera, die in der Antigenverdünnung 100 noch mit heterologem Eiweiß reagieren, von der Verwendung in der Praxis auszuschließen, ist zwar an sich folgerichtig, wenn die Verhältnisse ein solches Vor-

gehen gestatten, sie ist aber nicht notwendig und bei der gegenwärtigen Notlage der Wissenschaft in Deutschland auch kaum durchführbar. Die Herstellungskosten für Antisera, die jetzt schon eine unleidliche Höhe erreicht haben, würden dann noch mehr steigen, weil ohne dringenden Grund mehr Antisera als unbrauchbar erklärt werden müßten, als tatsächlich notwendig ist; das gilt natürlich nur unter der Voraussetzung, daß man in der Praxis mit starken Antigenverdünnungen arbeitet, wie es Uhlenhuth vorschreibt.

Die Arbeit von Reeser hat uns allerdings bei der Abfassung unserer eingangs bezeichneten Niederschrift nur in Referaten vorgelegen, aber auch nach Kenntnis der Originalabhandlung bleibt uns nichts weiter übrig als zu sagen, daß unsere Erfahrungen anders lauten und vorläufig keine ganz befriedigende Erklärung für die Unstimmigkeit der Ergebnisse zulassen. Auf einige Ursachen, die nach unserer Ansicht die Entstehung stark übergreifender Antisera begünstigen, haben wir in unserer Arbeit hingewiesen, womit aber natürlich nicht gesagt sein soll, daß in den Reeserschen Fällen andere Ursachen auszuschließen sind. Jedenfalls geht auch aus den Reeserschen Protokollen nicht hervor, daß die von Forssman und anderen Autoren für die Entstehung der heterogenetischen Hämolyse ermittelten Gesetze dabei eine Rolle spielen.

Bemerkungen zu der Arbeit von Reeser: Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren.

Von Paul Uhlenhuth.

Die Arbeit von Reeser¹⁾ versetzt uns unwillkürlich 20 Jahre zurück, wo bereits von mir und anderen Autoren (Nuttall, Kister und Wolff, Strube, Kratter u. a.) auf die „heterologen Trübungen“ mit Nachdruck hingewiesen worden ist. Das Uebergreifen spezifischer Sera ist ja eine bekannte theoretisch interessante Erscheinung, die wir bei

1) Mededeelingen van de Rijksseruminrichting, Deel II, Afl. II.

allen Immunitätsreaktionen beobachten können. Im Hinblick auf ihre praktische forensische Bedeutung gab mir diese Tatsache Veranlassung, zusammen mit dem damaligen Vertreter der gerichtlichen Medizin an der Universität Greifswald, Prof. Beumer, schon im Jahre 1903 ganz genaue Vorschriften für die gerichtsärztliche Praxis auszuarbeiten, und es zeigte sich bald, daß bei Innehaltung dieser Vorschriften Fehlresultate vollkommen ausgeschlossen sind. Der beste Beweis dafür wurde von mir selbst vor Einführung der Methode in die forensische Praxis dadurch erbracht, daß ich zahlreiche mir vom Justizminister überlassene, mit Blut befleckte Asservate untersuchte, dessen Herkunft ich nicht kannte. In allen Fällen stimmte der Befund mit den Aktenangaben überein. Von allen gerichtsärztlichen Sachverständigen, die sich mit der Technik des Verfahrens vertraut gemacht haben, ist auf Grund fast 20-jähriger Erfahrungen die Zuverlässigkeit der Methode anerkannt, vorausgesetzt, daß die von mir gegebenen Vorschriften, unter Berücksichtigung der zeitlichen und quantitativen Verhältnisse sowie der vorgeschriebenen Kontrollen, die ich genau festgelegt habe, beachtet werden. Nach meinen Vorschriften soll das zur Verwendung kommende Serum „1) vollständig klar und steril sein. Es darf nicht opaleszieren; 2) es soll hochwertig sein; 3) es soll artspezifisch sein; es ist daher jedes Antiserum auf diese Eigenschaften sorgfältig zu prüfen.“

Die Herstellung solcher Sera erfordert nicht geringe Mühe und große Sachkenntnis. Die Ausführung der Reaktion ist, wie ich immer betont habe, nur von Sachverständigen auszuführen, die Uebung und Erfahrung besitzen. Es ist daher auch schon früher (1903) von mir die Forderung aufgestellt, daß die Sachverständigen an einer geeigneten Stelle unterrichtet werden und daß auch die Sera unter staatlicher Aufsicht hergestellt werden. In Deutschland sind laut Ministerialverfügung¹⁾ in Preußen das Hygienische Institut Greifswald,

1) Die betreffenden Verfügungen für Preußen, Württemberg, Baden, Oesterreich sind abgedruckt in meinem Buch Uhlenhuth-Weidanz: Praktische Anleitung zur Untersuchung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut-

das Institut für Infektionskrankheiten Berlin, das Institut für Staatsarzneikunde in Berlin und das Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. für forensische Untersuchungen zuständig. In Württemberg ist es das Medizinalkollegium (Hygienisches Laboratorium) in Stuttgart, in Baden das Hygienische Institut der Universität Heidelberg. Auch in Bayern und Oesterreich sind ähnliche Einrichtungen getroffen. Die für die gerichtliche Praxis erforderlichen Sera werden offiziell im Reichsgesundheitsamt (Bakteriologische Abteilung, Berlin-Dahlem) und im Hygienischen Institut in Greifswald hergestellt, wo sie vor Abgabe einer genauen Prüfung unterzogen werden und wo man die Sera, die den Vorschriften nicht entsprechen, ausschaltet. Sind die beiden Forderungen erfüllt: 1) ein einwandfreies Serum, 2) ein erfahrener Sachverständiger, so gibt es wohl kaum eine Methode, die praktisch so zuverlässige Resultate liefert wie die biologische Methode für die forensische Blut(Fleisch)untersuchung. Das beweisen schließlich auch die Protokolle der Arbeit von Reeser sowie die Ausführungen von Friedberger und Collier und Friedberger und Jarre¹⁾, welche letztere auch ausdrücklich betonen, daß derartig übergreifende Sera, wie sie bisweilen beobachtet werden — „so interessant sie in theoretischer Beziehung sind — die praktische Anwendung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens in keiner Weise tangieren, wenn man, wie Uhlenhuth schon betont hat, solche übergreifende Sera für die forensische Praxis ausschaltet.“

und Fleischuntersuchung sowie der Gewinnung präzipitierender Sera, Jena, G. Fischer, 1909, p. 129—132.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, 1919, und Bd. 30, 1920.

**Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei
präzipitierenden Antiseren.**

(Schlußwort auf die Antwort von Manteufel und
Beger und auf diejenige von Uhlenhuth.)

Von Dr. H. E. Reeser.

Zweifellos ist die unzulängliche Kenntnis der holländischen Sprache, wie Manteufel und Beger selbst schreiben, die Ursache, wenn sie meinen, daß ich mit meiner Veröffentlichung die Verlässigkeit der Uhlenhuthschen Reaktion habe angefechten wollen.

Ich habe die Aufmerksamkeit lenken wollen auf den Umstand, daß bei der Bereitung von präzipitierenden Seren man die Kontrolle so ausgedehnt wie möglich nehmen soll, weil mehrere dieser Seren neben dem homologen Präzipitin noch andere Präzipitine enthalten, welche heterologen Präzipitine oft noch in stärkeren Verdünnungen nachgewiesen werden können als die homologen. Uhlenhuth hat in seinem ursprünglichen Artikel auf diesen Umstand nicht hingewiesen und schreibt dann auch über diese Angelegenheit: „Heterologe Trübungen sind hervorzurufen, wenn konzentrierte Blutlösungen bei erheblichem Zusatz hochwertigen Antiserums verwendet werden.“

Weil Manteufel und Beger selbst schreiben, „daß die Forderung von Reeser, alle Antisera, die in der Antigenverdünnung 1:100 noch mit heterologem Eiweiß reagieren, von der Verwendung in der Praxis auszuschließen, an sich folgerichtig ist“, so meine ich, daß dieses kurze Schlußwort genügt, obgleich ich bedauere, daß die „Notlage der Wissenschaft in Deutschland“ Ursache ist, daß dort, nach Manteufel und Beger, derartige Seren von der Praxis nicht ausgeschlossen werden können.

Druckfehlerberichtigung.

In der Arbeit „Beiträge zum physikalisch-chemischen Verhalten des Blutes“ usw. von H. Rosenberg und L. Adelsberger in Bd. 34 (Orig.) dieser Zeitschrift muß es auf S. 54 4. Zeile von unten „neun“ statt „neuen“, auf S. 60 10. Zeile von unten „senkungsbeschleunigend“ statt „senkungshemmend“ heißen.

Frommannsche Buchdruckeret (Hermann Pohle) in Jena. — 5014

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. 34. Heft 5.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in
Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobornheim).]

**Untersuchungen über die Wirkung des Diphtherie-
heilserums auf die experimentelle Kaninchendiphtherie.**

Von **Dr. Kazufusa Sato** (Osaka, Japan).

Mit 2 farbigen Tafeln.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Dezember 1921.)

Vorbemerkungen.

In neuerer Zeit mehren sich die Beobachtungen, aus denen hervorgeht, daß es unter Umständen gelingt, durch parenterale Einverleibung nicht spezifischer Eiweißstoffe ähnliche Heilerfolge zu erzielen, wie bei der spezifischen Antigen- oder Serumtherapie. Ja, vielfach werden sogar der unspezifischen Behandlung günstigere, unerwartete und bisher wenigstens theoretisch nicht leicht zu erklärende Wirkungen nachgerühmt. Die Verwendung heterogener Bakterienpräparate, die Milchtherapie, die Anwendung normaler Tiersera u. a. sind an der Tagesordnung und stellen die gewöhnliche Form der „Proteinkörpertherapie“ dar.

Es verdient daran erinnert zu werden, daß die Tatsache der prophylaktischen und therapeutischen Wirksamkeit derartiger Stoffe schon seit langen Jahren bekannt ist. Die einschlägigen Experimente und Beobachtungen sind freilich wohl nicht in der gebührenden Weise berücksichtigt worden und zum Teil in Vergessenheit geraten. Es war das Verdienst R. Pfeiffers, diese Wirkungen im Sinne einer Resistenzsteigerung zuerst scharf umschrieben und von den Vorgängen der spezifischen Immunität abgegrenzt zu haben. Immerhin gehen die jetzt von klinischer Seite berichteten Heilwirkungen doch vielfach über das Maß des vorher Bekannten und Erwarteten hinaus und regen daher ganz gewiß zu erneuter experimenteller und theoretischer Erfassung des Problems an.

Besondere Beachtung haben, wie bekannt, seinerzeit die Mitteilungen von Bingel gefunden, der auf Grund eines großen Beobachtungsmaterials zu dem Schluß gelangte, daß die Behandlung der Diphtherie mit normalem Pferdeserum ihm im großen und ganzen die gleichen Heilerfolge gegeben hätte, wie die spezifische Serumtherapie. Es ist begreiflich, daß diese überraschende Mitteilung alsbald zu kritischen Erörterungen und klinischen und experimentellen Nachprüfungen Anlaß gegeben hat. Soweit man aber bisher in anderen Krankenhäusern nach dem Bingelschen Vorgang das Diphtherieserum mit normalem Pferdeserum verglichen hat, sind die Beobachtungen meist nicht zugunsten der Gleichwertigkeit ausgefallen. So wird von den Kliniken entweder hervorgehoben, daß das spezifische Serum dem Normalserum unzweifelhaft überlegen sei, oder aber auch, wenn ein einschneidender Unterschied nicht klar zutage trat, doch aus mancherlei Erwägungen dem Antitoxin der Vorzug gegeben (vgl. Feer, Karger, Meyer, Klotz, Dorn, Brückner, Herzfeld, v. Starck, Schwenkebecher u. a.). Auch experimentelle Nachprüfungen, wie sie vor allem von Friedberger, sowie Kolle und Schloßberger neuerdings vorgenommen worden sind, haben erneut und in ganz eklatanter Weise den Beweis erbracht, daß die Heilkraft des spezifischen Diphtherieantitoxins die therapeutische Wirkung des normalen Pferdeserums vollkommen in den Schatten stellt. Ähnliches war schon früher festgestellt worden, obwohl Heilversuche mit normalem Serum bisher nur in geringer Zahl vorlagen (vgl. Henke).

Wenn Friedberger freilich dem Tierexperiment, im besonderen dem Meerschweinchenversuch, eine entscheidende Beweiskraft nicht beimißt, so trifft dies wohl insofern zu, als die letzte Entscheidung natürlich am Krankenbett gebracht werden muß. Dennoch aber wird man über die Bedeutung des Tierexperimentes nach allem, was bisher in der Frage der Diphtherieimmunität und der Serumtherapie auf diesem Wege geleistet worden ist, nicht hinweggehen dürfen. Gewiß ist der Infektionsmodus, wie er bei Meerschweinchen gewöhnlich gewählt wird, in Form der verschiedenen Arten der Toxin- oder Kulturinjektion, weit entfernt von dem natürlichen Infektionsmodus bei der Spontanerkrankung des Menschen. Es kann daher auch gerade für die Beurteilung der in Rede stehenden Verhältnisse nur von Wert sein, wenn man auch im Tierversuch Bedingungen wählt, die denen der menschlichen Diphtherie möglichst nahe kommen.

Schon Löffler hat als erster darauf hingewiesen, daß es gelingt, bei Kaninchen, sowie bei Hühnern und Tauben, denen man auf dem Wege der Tracheotomie Diphtheriebakterien in die lädierte Trachealschleimhaut einbringt, einen mit der Diphtherie des Menschen vergleichbaren Krankheitsprozeß hervorzurufen und Pseudomembranen zu erzeugen. Dabei er-

streckte sich die Membranbildung vom Kehlkopf bis in die Trachea hinab. Die Tiere gingen meist unter zunehmender Dyspnoe zugrunde. Andere Bakterienarten riefen bei Verimpfung auf die Trachealschleimhaut keine derartigen Veränderungen hervor. Diese Angaben konnten von Roux und Yersin bei Kaninchen durchaus bestätigt werden, nur mit dem Unterschiede, daß nach ihren Beobachtungen der tracheale Infektionsmodus so gut wie regelmäßig zum Tode führt, wogegen Löffler den tödlichen Ausgang nicht so häufig eintreten sah. Auch betonten Roux und Yersin die „*ressemblance absolument frappante*“ der so erzeugten Kaninchen-diphtherie mit dem menschlichen Krankheitsprozeß und fanden insbesondere in der Bildung der Pseudomembranen auf der Trachealschleimhaut der Kaninchen, in Verbindung mit der ödematösen Schwellung und den übrigen histologischen Veränderungen, eine weitgehende Analogie mit den gleichen Vorgängen an der menschlichen Schleimhaut.

Beck, Tangl, Spronck, Brieger, C. Fraenkel u. a. fanden gleichfalls die experimentell erzeugte tracheale Diphtherie der Versuchstiere, insbesondere des Kaninchens, der menschlichen Diphtherie nahe verwandt. Namentlich wird auch von ihnen der progrediente Charakter der diphtherischen Membranen betont (Spronck, C. Fraenkel), sowie die charakteristische Anordnung der Diphtheriebazillen in den Membranen, die oft ganz der bekannten Lagerung der Löfflerschen Stäbchen in den menschlichen Diphtheriemembranen entspricht. Auch geht aus der Gesamtheit der Beobachtungen hervor, daß die Kaninchen-trachea sich am besten zur Erzeugung einer Schleimhautdiphtherie mit Membranbildung bei Versuchstieren eignet, wogegen Meerschweinchen nicht ganz so sicher reagieren, noch weniger gut Tauben, Hühner und Katzen. Andere Schleimhäute geben im Vergleich zur Trachealschleimhaut nur unvollkommene Resultate, so z. B. die Vaginalschleimhaut und die Conjunctiva. Die Erzeugung diphtherischer Membranen gelingt freilich auch bei Kaninchen nur dann, wenn die Trachealschleimhaut lädiert und das Kulturmaterial möglichst kräftig eingerieben wird. Von der intakten Schleimhaut aus scheint gewöhnlich eine Infektion nicht zustande zu kommen, wie bereits von Löffler hervorgehoben worden ist¹⁾. Nur ganz vereinzelt finden sich positive Angaben (vgl. Tangl, Spronck). Für das Diphtherietoxin liegen die Bedingungen vielleicht etwas anders, denn hiermit scheint nach Angaben von Roger und Bayeux, Morax und Elmassian, Dietrich auch ohne vorherige Läsion des Schleimhautepithels die Erzeugung von Pseudomembranen relativ leicht zu gelingen.

Besonders eingehend sind die Bedingungen der experimentellen Schleimhautdiphtherie dann in dem Baumgartenschen Institut untersucht worden. Die Arbeiten von Henke, Stecksén und Dietrich beschäftigten sich nicht nur mit der genauen experimentellen und pathologisch-anatomischen Prüfung der tracheal erzeugten Kaninchen-diphtherie, sondern auch mit der damals noch nicht genügend geklärten Frage nach dem spezifischen Charakter der so erzeugten Läsionen. Alle diese

1) Vgl. auch Flexner und Anderson.

Untersuchungen sind an einem reichen Tiermaterial ausgeführt worden. Es konnte zunächst durch Henke der Beweis erbracht werden, daß es sich bei den Veränderungen, die nach Verimpfung von Reinkulturen des Löfflerschen Bazillus auf der Schleimhaut der Kaninchentrachea zur Entwicklung gelangen, tatsächlich um eine spezifische Wirkung der Diphtheriebazillen bzw. des Diphtherietoxins handelt. Wenigstens ließ sich mit anderen Bakterien, besonders solchen, die sich neben dem Diphtheriebazillus in menschlichen Membranen finden, wie Streptokokken und Staphylokokken, beim Kaninchen entweder keine oder nur sehr unvollkommene und wenig ausgedehnte Membranbildung erzielen. Die Membranbildung gleicht im übrigen nach Henkes Untersuchungen trotz mancher Verschiedenheit doch außerordentlich der des Menschen, sie besitzt eine beschränkte Progredienz und der pseudomembranöse Prozeß ist dem „diphtherischen Prozeß in der Trachea des Menschen sehr ähnlich“. Auch der histologische Befund der beiden Prozesse weist eine „nahezu vollständige Uebereinstimmung“ auf, wie auch die verimpften Bazillen „in den experimentellen Pseudomembranen sich in derselben charakteristischen Anordnung, wie beim Menschen, in einzelnen Fällen finden“. Die auf den Schleimhäuten der Versuchstiere durch Reinkulturen des Löfflerschen Bazillus hervorgerufenen Veränderungen entsprechen im übrigen an Ausdehnung und nach ihrem ganzen Verhalten dem, was man beim Tier durch die Verimpfung der ganzen diphtherischen Membranen auch hervorrufen kann.

Zu ganz gleichen Ergebnissen gelangte Stecksén, und auch Dietrich bestätigte im wesentlichen die Henkeschen Angaben. Er fand gleichfalls, daß die „tracheale, croupähnliche, fibrinöse Entzündung der Kaninchen“ als ein „Effekt des Diphtherietoxins angesehen werden“ muß.

Die Erscheinungen, die nach intratrachealer Impfung bei Kaninchen auftreten, sind nach Dietrich, abgesehen von der mehr oder weniger ausgedehnten Pseudomembran, charakterisiert durch einen schleimig-eitrigen Katarrh, der sich bis in die kleineren Bronchien erstreckt und vielleicht in Analogie zu setzen ist mit der „katarrhalischen Diphtherie“ des Menschen. Bezüglich einer im späteren Verlaufe oft eintretenden Bronchitis vermochte sich Dietrich nicht immer mit Sicherheit zu entscheiden, inwieweit sie als Folge der Infektion oder etwa als Sekundärinfektion aufzufassen sei. Als Allgemeinerscheinungen wurden von ihm Fieber, Prostration, Veränderungen an Nieren, Leber und anderen Organen beobachtet. Das Gesamtbild der Erkrankung wird von Dietrich in 3 Abschnitte oder Formen zerlegt; er unterscheidet ein akutes, ein subakutes und ein chronisches Stadium (vgl. hiezu auch Löffler, Roux und Yersin, Tangl, Spronck u. a.). Die Virulenz der verwendeten Kultur und die verimpfte Bakterienmenge beeinflussen naturgemäß den Verlauf, ebenso therapeutische Eingriffe. Von den Kontrolltieren, die Dietrich zu seinen sogleich zu besprechenden Heilversuchen mitheranzog, hat kein einziges die Infektion überstanden; sie sind vielmehr sämtlich im akuten Stadium innerhalb von 7 Tagen gestorben. Die durchschnittliche Lebensdauer

betrug nur 3—4 Tage. In der Sicherheit des Infektionserfolges stimmen also seine Beobachtungen mit den bereits erwähnten Angaben von Roux und Yersin überein.

Die letztere Tatsache zeigt jedenfalls, daß der Kaninchenversuch mit intratrachealer Einführung des Infektionsmaterials durchaus nicht so unzuverlässig ist, wie man gewöhnlich annimmt, und sehr wohl die Grundlage für experimentelle Untersuchungen über Schutz- und Heilfragen abgeben kann.

Die therapeutische Wirksamkeit des Diphtherieserums ist an tracheal infizierten Tieren, insbesondere Kaninchen, bisher nur sehr wenig studiert worden.

Roux und Martin fanden bei Meerschweinchen und Kaninchen das Serum wirksam und stellten fest, daß es bis zu 24 Stunden nach trachealer Infektion noch gelingt, die Tiere am Leben zu erhalten, während die Kontrolltiere nach 3—5 Tagen eingingen. Nur vorübergehend trat bei den behandelten Tieren Fieber oder leichtes Oedem vor der Trachea auf. Auch Paltauf sah von dem Diphtherieserum bei Kaninchen nach trachealer Infektion günstige Wirkung, indem 6 nachträglich mit Heilserum behandelte Tiere sämtlich die Infektion überstanden, während 2 Kontrolltiere starke Abmagerung, Infiltration der Trachea, Atemnot etc., also schwere Krankheitserscheinungen darboten. Erwähnt seien ferner die Versuche von Hilbert, der tracheal infizierte Meerschweinchen und Kaninchen mit Diphtherieserum behandelte, doch lassen diese Versuche, die hauptsächlich die Frage der Serumtherapie im Falle der Mischinfektion behandelten, nach Zahl und Anordnung keine sicheren Schlüsse zu.

In systematischer Weise hat Dietrich die Wirkung des Diphtherieheilserums auf die experimentell erzeugte Kaninchendiphtherie geprüft. Es sind wohl die umfassendsten Untersuchungen, die nach dieser Richtung hin bisher vorgenommen worden sind. Ohne zunächst auf die Einzelheiten weiter einzugehen, kann als wichtigstes Resultat seiner gesamten Experimente verzeichnet werden, daß es ihm selbst bei Anwendung großer Dosen von 500—600 Antitoxineinheiten und mehr (1000, 1500 AE.) nur dann gelungen ist, die Tiere zu retten, wenn die Seruminjektion entweder wenige Tage vor der Infektion oder auch unmittelbar nachher erfolgte. Schon 6 Stunden nach der Infektion, d. h. in einem Augenblick, in dem es noch nicht zur Entwicklung spezifischer lokaler Veränderungen (Membranen) bei den infizierten Tieren gekommen ist, wurde das Resultat ganz unsicher das Serum versagte. So faßt Dietrich sein Urteil dahin zusammen, daß die an Kaninchen angestellten Untersuchungen „eine eigentliche Heilwirkung des Serums nicht erkennen lassen“, daß vielmehr „nur eine schützende Wirkung, ein prophylaktischer Wert“ des Serums erwiesen werden konnte.

Eine Angabe über die Art und Weise, wie das Serum injiziert wurde, findet sich in seiner Arbeit nicht, offenbar

handelte es sich immer um subkutane Injektionen. Auch sind Kontrollexperimente mit normalem Pferdeserum nicht ausgeführt worden.

Es ist wunderbar, daß diese so wichtige Frage eigentlich seitdem keine weitere experimentelle Bearbeitung gefunden hat. Die im wesentlichen negativen oder zum mindesten wenig befriedigenden Ergebnisse der Serumtherapie bei der experimentellen Trachealdiphtherie der Kaninchen und Meerschweinchen waren schwer zu verstehen, die Angaben der wenigen Autoren, die sich diesen Untersuchungen zugewandt hatten, stimmten überdies untereinander nicht ganz überein (vgl. z. B. Roux und Martin einerseits, Dietrich andererseits). Nachdem man den auf der experimentell infizierten Schleimhaut sich entwickelnden Prozeß als einen spezifischen erkannt hatte und nachweisen konnte, daß nur der Löfflersche Bazillus diese Veränderungen in charakteristischer Form hervorzurufen vermag, nachdem fernerhin die Lokal- und Allgemeinerscheinungen auch bei diesem Infektionsmodus in der Hauptsache als eine Wirkung des Diphtherietoxins aufgefaßt werden mußten (Stecksén, Dietrich), durfte man von dem antitoxischen Diphtherieserum wohl eine bessere Heilwirkung erwarten. Der Grund, weshalb die tracheale Diphtherie der Versuchstiere als Prüfungsobjekt für die Serumtherapie fast ganz vernachlässigt wurde, ist offenbar der, daß man in dem Meerschweinchenexperiment bei der gewöhnlichen Infektionsweise ein bequemes und sicheres Prüfungsverfahren zur Verfügung hatte. Wenn gleich zuzugeben ist, daß die Trachealinfektion in technischer Hinsicht größere Schwierigkeiten bietet und auch in ihrem Verlauf vielleicht nicht die gleiche Exaktheit aufweist, so liegt ihr Wert und ihr biologisches Interesse andererseits eben darin, daß auf diesem Wege ein dem menschlichen Krankheitsprozeß ziemlich nahestehendes Bild erzeugt wird.

Bei dieser Sachlage erschien es erwünscht, die Frage von neuem experimentell zu bearbeiten und die Heilwirkung des spezifischen Serums, im Vergleich mit der des Normalserums, bei intratracheal infizierten Kaninchen unter verschiedenen Bedingungen zu prüfen. Ich habe diese Versuche auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Sobernheim an einer größeren

Zahl von Tieren ausgeführt. Die genaue histologische Untersuchung des Materials wurde größtenteils in dem hiesigen pathologischen Institut vorgenommen. Ich bin Herrn Prof. Wegelin, der die Güte hatte, eine Reihe von Präparaten durchzusehen und den Befund aufzuzeichnen, sowie Herrn Dr. Dubois, früherem Assistenten des Instituts, der bei Herstellung der Schnittpräparate und Aufnahme des histologischen Befundes mich mit Rat und Tat unterstützte, zu außerordentlichem Dank verpflichtet.

Eigene Versuche.

Die Kaninchen, die zu den Versuchen dienten, waren nach Alter und Gewicht ziemlich verschieden. Es wurden Tiere benutzt, deren Gewicht etwa zwischen 1200 und 2300 g schwankte und durchschnittlich 1400—1800 g betrug. Soweit es sich einrichten ließ, wurden für die einzelnen Versuchsreihen Tiere von annähernd gleichem Gewicht zusammengestellt, jedenfalls aber darauf geachtet, daß zu den mit spezifischem Serum behandelten Kaninchen entsprechend große Tiere zur Kontrolle, also zur Behandlung mit normalem Pferdeserum oder ohne jede Behandlung, hinzugenommen wurden. Im allgemeinen scheinen von früheren Untersuchern jüngere Tiere bevorzugt worden zu sein. So gibt Stecksén an, daß junge Kaninchen im Alter von 4—9 Monaten benutzt wurden, und Dietrich arbeitete mit mittelgroßen Kaninchen von höchstens 1800—1900 g, doch habe ich bei meinen eigenen Versuchen auch schwerere Tiere verwendet, ohne einen wesentlichen Unterschied in der Empfänglichkeit, Reaktion und Heilungsmöglichkeit feststellen zu können.

Zur Infektion der Tiere diente ein virulenter Diphtheriestamm, der über gutes Toxinbildungsvermögen verfügte (No. 1282). Ein Vorversuch hatte gezeigt, daß das sichere Gelingen der trachealen Infektion auch von der Wahl einer geeigneten Diphtheriekultur abhängt, wie dies andere Autoren früher gleichfalls beobachtet haben. So war von 2 Kaninchen, die genau in der gleichen Weise infiziert worden waren, nur das eine, mit Stamm 1282 geimpfte Tier unter den charakteristischen Erscheinungen des Diphtherietodes eingegangen, das andere dagegen hatte die Infektion mit einem

anderen Diphtheriestamm ohne nennenswerte Krankheitserscheinungen überstanden. Stets wurden von unserem Stamm 24-stündige, gut entwickelte Kulturen (37°) auf Löfflerschem Serum verwendet. Mittels großer Platinöse wurde dann das Bakterienmaterial entnommen und kräftig in die Trachealschleimhaut eingerieben. Anfänglich beschränkte ich mich darauf, 1 vollgefüllte Platinöse (ca. 4—5 mg) zu verimpfen, später infizierte ich die Schleimhaut mit 2 Oesen. Inwieweit hierdurch der Infektionsverlauf beeinflußt wurde, wird an anderer Stelle noch kurz zu erörtern sein.

Die Ausführung der Tracheotomie erfolgte in Chloroformnarkose. Die Haare wurden mit der Schere kurz abgeschnitten, die äußere Haut nach Alkoholdesinfektion und Jodpinselung durchtrennt, dann stumpf weiter gearbeitet und ein Schnitt durch die Trachealwand angelegt. Durch die kleine Schnittwunde wurde die mit dem Diphtheriematerial beschickte Oese eingeführt und die Schleimhaut durch kräftiges Einreiben des Materials infiziert. Die Wunde wurde in der Regel mit kleinen Wundklammern sorgfältig verschlossen. Von einem Vernähen mit Seide oder Catgut machte ich nur ausnahmsweise Gebrauch; ich habe im allgemeinen davon abgesehen, da ich es nicht nötig fand und in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen Dietrichs feststellte, daß auch auf diese Weise sich Sekundärinfektionen nicht immer mit Sicherheit vermeiden lassen.

Daß die Infektion nur bei stärkerer Läsion der Schleimhaut und kräftigem Einreiben der Kulturmasse zustande kommt, konnte ich in Bestätigung der schon erwähnten Angaben anderer Untersucher ebenfalls beobachten. Ich habe gelegentlich versucht, zur Infektion der Kaninchen Kulturaufschwemmungen, also flüssiges Material, zu verwenden, wobei ich so vorging, daß ich mit der Spritzenkanüle durch die freigelegte Wand der unverletzten Trachea einstach, den gegenüberliegenden Teil der Schleimhaut ritzte und nun die Kultur langsam einspritzte. Eine Trachealdiphtherie konnte ich auf diese Weise nicht erzielen; die Tiere überstanden den Eingriff ohne weiteres. Die Läsion der Schleimhaut war offenbar nicht ausreichend, auch die zur Injektion gelangende Kulturmenge wohl zu gering.

I. Infektionsverlauf (Kontrolltiere).

Der Verlauf der trachealen Infektion war fast ausnahmslos tödlich. Im ganzen wurden bei unseren Versuchen 23 Kaninchen als Kontrolltiere verwendet, die nach der Infektion ohne jede Behandlung sich selbst überlassen blieben. Von diesen ist nur ein einziges mit dem Leben davon gekommen, 2 Tiere starben nach relativ langer Zeit unter zweifelhaften Erscheinungen, alle übrigen gingen in charakteristischer Weise zugrunde. Das Tier, das die Infektion überstanden hatte, gehörte einer Versuchsreihe an, in der auch andere Tiere unerwarteterweise durch Injektion von normalem Serum gerettet wurden und ein zweites Kontrolltier erst ziemlich spät (am 11. Tage) der Infektion erlag. Es ist also höchst wahrscheinlich, daß durch irgendeinen unerkannten Zufall die an dem betreffenden Tage zur Verimpfung benutzte Kultur nicht über die gehörige Virulenz verfügte. Sonst hat sich der tracheale Infektionsmodus als zuverlässig erwiesen und die Kontrolltiere fast ausnahmslos mit einer solchen Sicherheit getötet, daß er zu serotherapeutischen Experimenten sehr wohl geeignet erschien. Von den der Infektion erlegenen Kontrolltieren starben:

| | |
|-----------------------------|------------------|
| 5 nach $1\frac{1}{2}$ Tagen | 2 nach 6—7 Tagen |
| 8 „ 2—3 „ | 1 „ 11 „ |
| 2 „ $3\frac{1}{2}$ „ | 1 „ 21 „ |
| 3 „ 4 „ | |

Also in der Regel trat der Tod der Versuchstiere innerhalb $1\frac{1}{2}$ —4 Tagen, in 2 Fällen nach 6—7 Tagen ein und nur 2mal zu einem späteren Termin. Es schien auch das eine, erst nach 21 Tagen unter sonst charakteristischen Krankheitserscheinungen gestorbene Tier an den Folgen der diphtherischen Infektion eingegangen zu sein, doch war der Befund nicht ganz einwandfrei. Das andere Tier war wohl aus anderer Ursache zugrunde gegangen. Infolgedessen sind bei den später zu berichtenden Heilversuchen immer nur solche Versuchsreihen berücksichtigt worden, bei denen die Kontrolltiere im akuten oder höchstens subakuten Stadium und in typischer Weise mit Membranbildung der Infektion erlagen.

Die Krankheitserscheinungen sind in erster Linie durch Störung der Atmung gekennzeichnet. Die Tiere ließen

stets am Tage nach der Infektion erschwerte Atmung erkennen mit eigentümlichem Röcheln, das im weiteren Verlauf sich noch steigerte und bisweilen in Form schwerster Dyspnoe bis zum Tode anhielt. Es kann kein Zweifel bestehen, daß die örtliche Reaktion, insbesondere die mehr oder minder stark entwickelte Pseudomembran, diese Erscheinungen bedingte. Daneben zeigten die Tiere oft allgemeine Mattigkeit, waren schlaff und offensichtlich krank. Das Verhalten der Temperatur war ungleichmäßig und ließ keinerlei Schlüsse in prognostischer Hinsicht zu. Bisweilen trat am ersten Tage leichte Temperatursteigerung ein, bis auf 39,5—40,0°, in einzelnen Fällen auch höher (40,1—40,6°), doch war das keineswegs regelmäßig der Fall. Ebenso wenig konnte ein Temperaturabfall, der bei einigen Tieren kurz vor dem Tode beobachtet wurde, als ein charakteristisches Symptom angesprochen werden. Inwieweit bronchitische Erscheinungen, sowie Krankheitszeichen von seiten anderer Organe auf die diphtherische Infektion zu beziehen sind, soll an Hand der Sektionsbefunde noch erörtert werden. Erwähnt sei nur, daß ich Lähmungserscheinungen bei den erst nach längerer Zeit eingegangenen oder durch Serumbehandlung geretteten Tieren niemals beobachtet habe.

Daß der Tod der tracheal infizierten Kaninchen tatsächlich auf der spezifischen Wirkung der Diphtheriebazillen und des Diphtherietoxins beruht, also ein eigentlicher Diphtherietod ist, geht, wie wir sahen, aus früheren Untersuchungen unzweifelhaft hervor. Unsere eigenen Beobachtungen haben dies insofern bestätigt, als der Sektionsbefund in jedem Falle Veränderungen erkennen ließ, die eine weitgehende Uebereinstimmung mit dem diphtherischen Prozeß an der menschlichen Trachea aufwiesen. Bei den innerhalb einer Woche nach der Infektion gestorbenen Kontrolltieren wurde regelmäßig eine deutliche Pseudomembran gefunden. Da nur 2 von unseren 22 Kontrolltieren später eingingen, kann man also sagen, daß die Bildung membranöser Auflagerungen auf der Trachealschleimhaut eine konstante Erscheinung der nach trachealer Infektion im akuten oder subakuten Stadium zugrunde gehenden Tiere ist. Die Pseudomembranen waren nach ihrer Ausdehnung verschieden; sie erschienen in einzelnen Fällen auf die nähere Umgebung der Impfstelle beschränkt,

zeigten in der Regel aber ausgesprochen progredienten Charakter und erstreckten sich vielfach weit nach aufwärts und namentlich nach abwärts, zum Teil größere Partien der Trachealschleimhaut völlig auskleidend. Membranen von 3 bis 4 cm Ausdehnung wurden beobachtet; in keinem Fall, auch da nicht, wo die Membranen enger lokalisiert blieben, war ihre Länge geringer als 1 cm. Nur bei 2 Tieren waren die membranösen Auflagerungen verhältnismäßig zart, bei einem (No. 42), das 4 Tage nach der Infektion, und bei einem anderen (No. 89), das in der Zeit vom 6. zum 7. Tage gestorben war. Es müssen bei diesen beiden Kaninchen wohl individuelle Faktoren für die weniger starke Entwicklung einer Pseudomembran maßgebend gewesen sein. Anders war der Befund in jenen 2 Fällen, bei denen die Tiere erst nach 11 bzw. 21 Tagen der Infektion erlagen. Es sind das die bereits oben erwähnten beiden Kaninchen (No. 35 und 51). Hier wurde Membranbildung vermißt, und es konnte bei dem negativen oder ganz geringfügigen Befunde an der Trachealschleimhaut (Rötung) überhaupt zweifelhaft sein, ob diese Tiere an den unmittelbaren Folgen der Infektion zugrunde gegangen waren. Eines von ihnen, und zwar das nach 21 Tagen eingegangene, zeigte in der Umgebung der Trachealwunde einen mehr als kirschgroßen Abszeß, in dem mikroskopisch und kulturell Diphtheriebazillen nachgewiesen werden konnten. Da das Tier anfänglich mit Röcheln, starker Atemnot und schweren Allgemeinerscheinungen auf die Infektion reagiert hatte, war der Eindruck der, daß der lokale Prozeß, wahrscheinlich auch Membranbildung, zunächst spontan zur Ausheilung gelangt war, und daß das Tier alsdann an einer chronischen Diphtherievergiftung, vielleicht mit Mischinfektion zugrunde gegangen ist. Wenigstens wurden sonst in keinem einzigen Falle, weder bei Kontrolltieren noch bei den serotherapeutisch behandelten Kaninchen so lange Zeit nach der Infektion Diphtheriebazillen nachgewiesen. Klar ist der Fall indessen nicht, und er muß deshalb wohl aus unseren Betrachtungen über den Verlauf der trachealen Infektion und als Kontrolle zu den Heilversuchen ausscheiden. Ähnlich liegen die Dinge bei dem anderen, 11 Tage nach der Infektion gestorbenen Kaninchen, nur daß hier überhaupt bestimmte

Hinweise auf einen eigentlichen Diphtherietod fehlten. Das Tier hatte ursprünglich nur erschwerte Atmung gezeigt und der Sektionsbefund bot außer einem kleinen Eiterpfropf an der Schnittwunde nichts Besonderes. Inwieweit ein Darmkatarrh, an dem das Tier gelitten hatte, und der z. B. von Dietrich als Folge der diphtherischen Infektion betrachtet wird, tatsächlich in diesem Falle dazu berechtigt, den Tod des Tieres einfach als Wirkung des Diphtheriegiftes anzusehen, muß als höchst fraglich bezeichnet werden. Berücksichtigt man ferner die Tatsache, daß dieses Tier zu der bereits früher erwähnten Versuchreihe gehört, in der das andere Kontrolltier am Leben blieb, so wird man jedenfalls das Ausbleiben einer Membranbildung — auch für den Fall, daß man die Todesursache in der Diphtherieinfektion oder -intoxikation erblickt — mit der zu geringen Virulenz der verwendeten Kultur zwanglos erklären dürfen.

In histologischer Beziehung hat die in Form der Pseudomembranbildung auftretende fibrinöse Exsudation gleichfalls recht große Ähnlichkeit mit dem Bild des entsprechenden menschlichen Krankheitsproduktes aufgewiesen. Von jedem Fall wurde das Material nach Einbettung in Paraffin untersucht, die Schnittfärbung mittels Hämatoxylin-Eosin, sowie nach Gram-Weigert vorgenommen. Ich gebe zunächst das Protokoll des ersten Tieres ausführlich wieder. Es handelt sich dabei um einen Fall, in dem der Tod erst nach 7 Tagen, also relativ spät, eintrat und bei dem außerdem gerade gewisse Abweichungen von dem typischen Befunde bei der menschlichen Diphtherie zu beobachten waren. Die mikroskopische Untersuchung ergab:

„Im Larynx ist die Schleimhaut beinahe normal. Das Epithel ist überall noch erhalten. In dem darunter liegenden Bindegewebe finden sich vereinzelte Leukozyten. Auf dem Epithel liegen hie und da Häufchen von Leukozyten, die aber von weiter unten stammen können.

In der Trachea finden sich die stärksten Veränderungen ungefähr in der Mitte, wo makroskopisch die weißgelblichen Auflagerungen zu sehen waren. Hier findet sich auf der Schleimhaut sehr reichliches Exsudat, welches zum größten Teil aus polynkuleären Leukozyten besteht und nur sehr wenig

netzförmiges Fibrin enthält. Auch bei der Weigertschen Fibrinfärbung erscheint das Fibrin nur an wenigen Stellen darstellbar und ist blaß gefärbt. Neben den Leukozyten ist auch noch etwas Blut in dem Exsudat. Das Zylinderepithel der Schleimhaut ist stellenweise auf größere Strecken hin defekt, einzelne Stücke können auch im Exsudat eingeschlossen sein. An anderen Stellen finden sich nur ganz kleine Unterbrechungen des Epithels durch Leukozytenpfropfe, welche gleichsam aus der Schleimhaut hervorzquellen scheinen. Hie und da ist das Epithel von der Basalmembran durch Oedemflüssigkeit abgehoben. Das Bindegewebe der Schleimhaut enthält zahlreiche Leukozyten, verstreute Lymphozyten und Plasmazellen und große, protoplasmareiche Bindegewebszellen. Die Blutgefäße sind prall gefüllt, ihr Gehalt an Leukozyten ist oft vermehrt.

In den unteren und oberen Teilen der Trachea sind die Veränderungen weniger stark, namentlich ist hier nur sehr wenig Exsudat auf der Schleimhaut aufgelagert.

Die Veränderungen in der Trachea unterscheiden sich von der menschlichen Diphtherie hauptsächlich durch den sehr geringen Fibringehalt des Exsudates und die viel stärkere leukozytäre Exsudation.“

Trotz der letzterwähnten Abweichungen erinnern aber auch in diesem Falle die pathologischen Veränderungen doch an das Bild der menschlichen Diphtherie, wobei noch besonders zu berücksichtigen ist, daß sich bei den systematischen Untersuchungen der Baumgartschen Schule mit anderen Bakterienarten derartige Prozesse überhaupt nicht oder nur unvollkommen hervorrufen lassen. Indessen ist das angeführte Beispiel, das absichtlich wegen des etwas atypischen Befundes an die Spitze gestellt wurde, keineswegs die Regel. Wohl haben sich noch bei einigen Tieren ähnliche histologische Feststellungen machen lassen, vor allem mit Bezug auf die geringe Fibrinentwicklung in dem Exsudat, doch zeigte sich in der Mehrzahl der Fälle ein dichtes Fibrinnetz, z. T. sogar eine geradezu massenhafte Durchsetzung des Exsudates mit dicken und feinen Fibrinfäden. Dabei finden sich dann in dem fibrinösen Netzwerk rote Blutkörperchen und Leukozyten eingelagert. Weiterhin ist die Trachealschleimhaut bisweilen

stark ödematös und in der Tiefe gegen den Knorpel hin ebenfalls von Fibrinnetzen durchzogen, mit eingelagerten roten Blutkörperchen und zerfallenen Leukozyten. Die Blutgefäße sind zum Teil enorm dilatiert, ohne stärkere Vermehrung der Leukozyten. Man gewinnt den Eindruck, daß die stärkere oder schwächere fibrinöse Exsudation bis zu einem gewissen Grade wohl von individuellen Besonderheiten des Versuchstieres abhängt, in der Hauptsache aber auf die Infektionsweise zurückzuführen ist. Offenbar ist bei kräftigem Einreiben des Materials, d. h. bei stärkerer und ausgedehnterer Epithelläsion, sowie bei Verwendung sehr virulenter Kultur bzw. hoher Bakteriendosis und hierdurch bedingtem rasch tödlichen Verlauf der Infektion das histologische Bild mehr dem des menschlichen diphtherischen Prozesses angenähert. Auch Faroy und Loiseau haben das Fibrin regelmäßig in charakteristischer Entwicklung und Anordnung in den experimentell erzeugten Pseudomembranen der Kaninchentrachea nachweisen können.

Der Nachweis der Diphtheriebazillen gelingt fast in allen Fällen. An der Infektionsstelle und in ihrer unmittelbaren Umgebung lassen sich die Löfflerschen Stäbchen im Ausstrichpräparat meist ohne Schwierigkeit mittels Neisser-Färbung nachweisen. Bisweilen war der mikroskopische Befund zweifelhaft und erst das Kulturverfahren führte zum Ziel. Es fiel auf, daß sich die Diphtheriebazillen besonders dann nur spärlich vorfanden, wenn das Tier erst später eingegangen war. Neben den Diphtheriebazillen konnten in der Regel auch andere Bakterienarten nachgewiesen werden, zum Teil in großer Menge, und zwar nicht nur in solchen Fällen, wo es zu einer sekundären Infektion der Trachealwunde gekommen war. Bisweilen wurde der Diphtheriebazillus aber auch so gut wie in Reinkultur angetroffen. In Schnittpräparaten pflegten die Diphtheriebazillen ganz die gleiche Art der Anordnung und Verbreitung zu zeigen wie bei dem menschlichen diphtherischen Prozeß, indem sie in den Pseudomembranen nesterweise in größeren und kleineren Haufen zu sehen waren. Ihre Zahl war dabei sehr groß. Mitunter fanden sie sich nur vereinzelt und ungleichmäßig verbreitet.

In weiterer Entfernung von der Impfstelle und außerhalb des Bereiches der diphtherischen Membran scheint den Diphtherie-

bazillen die Ansiedlung und Vermehrung nicht mehr zu gelingen. Wenigstens ließen sie sich an solchen Stellen, wie auf den unteren Partien der Trachealschleimhaut, in den Bronchien und Lungen nur gelegentlich und in spärlicher Zahl im Abstrichpräparat oder durch Kultur feststellen. Ganz ausgeschlossen ist es freilich bei diesen Befunden nicht, daß die Diphtheriebazillen mit dem Schleimhautsekret vielleicht erst nach dem Tode des Tieres in die tieferen Lungenpartien herabgeschwemmt worden sind. Andererseits weist der Befund von Diphtheriebazillen im Herzblut, den ich zweimal erheben konnte, darauf hin, daß unter Umständen doch eine weitere Verbreitung der Diphtheriebazillen im Körper des Kaninchens möglich ist. Die experimentelle Trachealinfektion charakterisiert sich damit zugleich als ein eigentlich infektiöser Prozeß, wengleich es wohl keinem Zweifel unterliegen dürfte, daß die Allgemeinerscheinungen und die lokalen Veränderungen bei den Versuchstieren nur auf eine Wirkung des Diphtherietoxins zurückzuführen sind.

Neben der spezifischen Lokalaaffektion der Trachealschleimhaut, gekennzeichnet durch mehr oder minder ausgedehnte Membranbildung, habe ich in Uebereinstimmung mit Henke, Stecksén, Dietrich u. a. nicht selten eine schleimig-eitrige Bronchitis, zum Teil sehr starken Grades, konstatieren können. Wie aus den Untersuchungen der genannten Autoren hervorgeht, ist auch dieser Katarrh durch den Diphtheriebazillus bzw. das Diphtherietoxin bedingt, also als eine Folge und spezifische Wirkung der trachealen Diphtherieinfektion zu betrachten. Dies gilt von den bronchitischen Erscheinungen, wie sie die in relativ kurzer Zeit eingegangenen Kontrolltiere gezeigt haben. Anders steht es mit den Katarrhen, die sich erst nachträglich entwickeln und bei serotherapeutisch behandelten und in einem späteren Stadium der Infektion erlegenen Tieren beobachtet werden. Hier ist es z. B. auch Dietrich vielfach nicht möglich gewesen, zu entscheiden, inwieweit diese Spätbronchitiden „noch als Folge und Ausgang der ursprünglichen Infektion aufgefaßt werden“ müssen. Er hat sie nicht immer auf eine Sekundärinfektion zurückführen können und glaubt darin ein subakutes und chronisches Stadium der Erkrankung erblicken zu dürfen. Wir selbst

haben in der Beurteilung die gleichen Schwierigkeiten gehabt und werden später auf die Frage noch einmal zurückkommen.

An den übrigen Organen konnten außer einer starken Hyperämie besondere Veränderungen in der Regel nicht wahrgenommen werden. Eine Vergrößerung und Hyperämie der Nebennieren war nur in einigen Fällen zu konstatieren. In einem einzigen Falle ergab sich ein an die menschliche Glomerulonephritis erinnernder Nierenbefund. Der Sektionsbefund lautete: „Manche Glomeruli zeigen in einzelnen stark erweiterten Kapillarschlingen eine bedeutende Anhäufung von Leukozyten, neben denen manchmal fast gar keine Erythrozyten zu sehen sind. In einzelnen anderen Kapillarschlingen ist Fibrin abgelagert. Die Kerne der Kapillarendothelien sind etwas geschwellt. In den Epithelien der Hauptstücke leichte trübe Schwellung, im Lumen feinkörniges Eiweiß. In einigen Schleifen und Sammelröhren hyaline Zylinder.“ Etwas Ähnliches wurde sonst bei keinem Tiere wieder gefunden, so daß es sich wohl um eine mehr zufällige Komplikation gehandelt haben dürfte.

II. Einfluß der Serumbehandlung auf den Infektionsverlauf.

Es muß hier vorausgeschickt werden, daß die Beurteilung eines serotherapeutischen Erfolges nicht immer leicht ist. Gelingt es, ein Tier am Leben zu erhalten, während das Kontrolltier prompt eingeht, so ist das Ergebnis natürlich klar. Aber leider sind viele Versuche nicht immer so glatt verlaufen und, wie die Protokolle zeigen werden, sind in vielen Fällen auch serumbehandelte Tiere nach kürzerer oder längerer Zeit eingegangen. Erschwert wurde die Deutung des Verlaufes namentlich auch dadurch, daß während einer gewissen Periode meine Experimente durch Stallinfektionen in unliebsamer Weise gestört worden sind. Eine Anzahl von Kaninchen ist eingegangen, ohne daß es möglich gewesen wäre zu entscheiden, inwieweit die tracheale Infektion oder die Stallseuche als Todesursache in Betracht kam. Jedenfalls mußte infolge dieser Komplikation eine ganze Reihe von Versuchen als unrein ausgeschlossen und wiederholt werden.

Aber auch sonst bestehen Schwierigkeiten. Die Tracheotomie ist selbst bei vorsichtigster Ausführung unter allen aseptischen Vorsichtsmaßregeln und bei Anlegung eines möglichst kleinen Schnittes doch immer für das Versuchstier ein schwerer Eingriff. Es ist häufig genug vorgekommen, daß die mit Diphtherieserum behandelten Tiere zunächst die Infektion zu überstehen schienen, bei dem Tode der Kontrolltiere wieder völlig munter waren, dann aber doch nach 8 oder 14 Tagen und selbst noch später eingingen. Die Entscheidung, ob es sich in solchen Fällen noch um einen späten Diphtherietod gehandelt hat, war nicht immer mit völliger Sicherheit zu treffen. Wo jedes Anzeichen für eine spezifische Wirkung des Diphtheriebazillus und des Diphtherietoxins fehlte, und das war vielfach der Fall, habe ich mich für berechtigt gehalten, den Tod der Tiere lediglich mit dem operativen Eingriff in Zusammenhang zu bringen. Und dies um so mehr, als sich in solchen Fällen so gut wie regelmäßig eine Pneumonie bei der Sektion feststellen ließ. Da, wo überdies der Wundverlauf kein glatter war, sondern Eiterung und Abszeßbildung sich entwickelten, kann wohl kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß das nachträgliche Eingehen der behandelten Versuchstiere bei negativem Diphtheriebefund nur auf eine sekundäre Infektion mit Eitererregern oder anderen Bakterienarten zu beziehen ist. Die Versuchstiere blieben stets 3 Monate lang unter Beobachtung, und wo sich in den Protokollen als Resultat angegeben findet, daß das Tier mit dem Leben davongekommen sei, ist gemeint, daß es bis zu diesem Zeitpunkt gelebt hat.

Die gleichen soeben dargelegten Beobachtungen und Schwierigkeiten sind auch schon von früheren Untersuchern, insbesondere von Dietrich, hervorgehoben worden. Gerade die schleimig-eitrige Bronchitis ist für sich allein nach ihrer Ursache kaum zu diagnostizieren. Ich habe mich daher auf den Standpunkt gestellt, sie nur dann als eine Teilerscheinung des diphtherischen Prozesses zu betrachten, wenn eben auch sonst noch spezifische Veränderungen nachweisbar waren. Ich werde diese Verhältnisse bei Besprechung einzelner Tabellen noch weiter erläutern.

Die therapeutische und heilende Wirkung des Diphtherieserums läßt sich aber glücklicherweise nicht nur danach beurteilen, ob das Tier am Leben bleibt oder nicht, sondern auch durch den Verlauf der Lokalerscheinungen. Es kann schon hier hervorgehoben werden, daß das Diphtherieserum in ausreichender Dosis die Membranbildung zu verhüten und wahrscheinlich auch eine schon zur Entwicklung gelangte fibrinöse Exsudation wieder zur Rückbildung zu bringen vermag. Das letztere ergibt sich aus der Beobachtung des klinischen Verlaufes, sodann aber auch aus der Tatsache, daß zu einem Zeitpunkt, wo erfahrungsgemäß schon pseudomembranöse Auflagerungen auf der Trachealschleimhaut vorhanden sind, die Rettung der Tiere noch möglich ist. Auch das Verschwinden der Diphtheriebazillen ist wohl ein Zeichen des Einflusses, den die Injektion des Diphtherieserums auf den Krankheitsverlauf ausübt. Nicht als ob etwa dem Diphtherieserum eine direkte antibakterielle Wirkung zukomme; aber man darf annehmen, daß mit der Heilung des Lokalprozesses unter der Wirkung des Antitoxins den Löfflerschen Bazillen nunmehr der Boden zu ihrer weiteren Existenz entzogen ist. Denn wir wissen ja, welche tiefgreifender Läsionen es bedarf, um diese Bakterien auf der Trachealschleimhaut des Kaninchens zur Ansiedlung zu bringen. Wir glauben demnach den negativen Befund von Diphtheriebazillen bei nachträglich eingegangenen Versuchstieren ebenfalls als ein Zeichen der Heilwirkung des Serums ansehen zu sollen.

Die ersten Versuche, die in Tabelle I zusammengestellt sind, wurden in der Weise vorgenommen, daß die tracheal infizierten Kaninchen teils 1 Stunde vorher, teils gleichzeitig, teils 1 Stunde nachher bestimmte Mengen eines 250fachen Diphtherieserums subkutan injiziert erhielten. Die verwendeten Serummengen schwankten zwischen $\frac{1}{2}$ und 2 ccm, d. h. zwischen 125 und 500 AE. Wie sich auch aus der Tabelle ergibt, ist diese Versuchsreihe völlig glatt verlaufen. Die 4 Kontrolltiere sind innerhalb $1\frac{1}{2}$ —2 Tagen mit typischem Diphtheriebefund (Membranbildung, Diphtheriebazillen) zugrunde gegangen, von den serotherapeutisch behandelten Tieren dagegen nur eines, das 1 Stunde nach der Infektion 0,5 ccm Serum mit einem Gehalt von 125 AE. erhalten hatte. Dieses

Tabelle I.

Kaninchen, intratracheal infiziert. Diphtherieserum, 250-fach, subkutan injiziert.

| Prot. No. | Gewicht in g | Seruminjektion | | Resultat | Bemerkungen |
|-----------|--------------|----------------|-------------------|----------|-------------|
| | | Zeitpunkt | Menge | | |
| 5 | 2050 | 1 Std. vorher | 0,5 ccm = 125 AE. | lebt | |
| 7 | 2030 | 1 " " | 1 ccm = 250 AE. | lebt | |
| 6 | 1980 | 1 " " | 2 ccm = 500 AE. | lebt | |
| 8 | 1950 | gleichzeitig | 1 ccm = 250 AE. | lebt | |
| 13 | 1635 | " " | 1 ccm = 250 AE. | lebt | |
| 3 | 2245 | 1 Std. nachher | 0,5 ccm = 125 AE. | † 3 | Typ. Befund |
| 14 | 1720 | 1 " " | 1 ccm = 250 AE. | lebt | |
| 9 | 1565 | 1 " " | 1 ccm = 250 AE. | lebt | |
| 10 | 1570 | — | — | † 2 | Typ. Befund |
| 11 | 1845 | — | — | † 1 1/2 | " " |
| 4 | 1810 | — | — | † 2 | " " |
| 12 | 2060 | — | — | † 2 | " " |

Tier starb nach 3 Tagen und zeigte gleichfalls Veränderungen an der Trachealschleimhaut, die sich von denen der Kontrolltiere kaum irgendwie unterschieden. Man ersieht hieraus also, daß zur Immunisierung der Kaninchen gegen die Trachealinfektion 1 Stunde vorher noch 125 AE. (0,5 ccm) genügten, möglicherweise sogar eine noch kleinere Antitoxinmenge (Serummenge), daß bei gleichzeitiger Serumeinverleibung, sowie für die Nachbehandlung nach 1 Stunde 250 AE. (1 ccm) ausreichten, daß aber die Hälfte dieser Dosis keine Heilwirkung mehr besaß.

Es war nun die weitere Frage, ob hier eine spezifische, dem Antitoxin zu dankende Wirkung des Diphtherieserums vorliegt. Darum sollte untersucht werden, welchen Einfluß das antitoxinfreie normale Pferdeserum ausübt. Um unter möglichst gleichen Versuchsbedingungen zu arbeiten, erfolgte die Prüfung in der Weise, daß eine Anzahl von intratracheal infizierten Kaninchen teils mit normalem Pferdeserum, teils mit spezifischem Diphtherieserum behandelt wurde (Tabelle II). Die Versuchsanordnung war gegenüber der ersten Versuchsreihe etwas abgeändert. Als Serumdosis wurde für das spezifische Serum durchweg eine Antitoxinmenge von 250 AE. = 1 ccm gewählt und bei 3 Tieren die Injektion 2, 4 und 8 Stunden

Tabelle II.

Kaninchen, intratracheal infiziert.

Behandlung teils mit Diphtherieserum, 250-fach, teils mit normalem Pferdeserum. Injektion subkutan, je 1 ccm.

| Prot. No. | Gewicht in g | Serum | | | Resultat | Bemerkungen |
|-----------|--------------|----------------|------------------|---------|----------|---|
| | | Zeitpunkt | Art | Menge | | |
| 20 | 1535 | 2 Std. nachher | 1 ccm Di-Serum | 250 AE. | lebt | |
| 22 | 2960 | 4 " " | dgl. | 250 AE. | lebt | |
| 24 | 2115 | 8 " " | " | 250 AE. | lebt | |
| 18 | 2105 | gleichzeitig | 1 ccm Norm-Serum | 0 | † 15 | Pneumonie |
| 19 | 2845 | 1 Std. nachher | dgl. | 0 | † 7 | kleine Pseudomembran, Diph.-Baz. kulturell nachgewiesen, Pneumonie. |
| 21 | 1645 | 2 " " | " | 0 | † 14 | Pneumonie |
| 23 | 2125 | 4 " " | " | 0 | lebt | |
| 25 | 1955 | 8 " " | " | 0 | lebt | |
| 26 | 1660 | — | — | — | † 3 | Typ. Befund |
| 27 | 1920 | — | — | — | † 3 | dgl. |

nach erfolgter Infektion vorgenommen. 5 Tiere erhielten je 1 ccm normales Pferdeserum (karbolisiert), und zwar gleichzeitig mit der trachealen Infektion, bzw. 1, 2, 4 und 8 Std. später. Die Serumeinspritzung erfolgte auch in dieser Versuchsreihe subkutan unter die Bauchhaut an der rechten oder linken Bauchseite. 2 Tiere blieben zur Kontrolle ohne jede Behandlung. Diese letzteren starben nach 3 Tagen unter charakteristischen Erscheinungen und boten bei der Sektion das typische Bild. Die spezifisch behandelten Tiere blieben nach leichterem Krankheitsverlauf und vorübergehenden Atemstörungen am Leben. Hier war also die Heilung nach 8 Std. vollständig gelungen. Der Vergleich mit den anderen Tieren zeigt aber, daß dieser Erfolg nicht dem Antitoxingehalt des Serums zugeschrieben werden konnte, daß vielmehr auch das normale Pferdeserum anscheinend das gleiche geleistet hatte. Wenigstens sind die nach 4 und 8 Stunden mit je 1 ccm

Serum in Behandlung genommenen beiden Kaninchen ebenfalls nach leichtem Krankheitsverlauf gerettet worden und mit dem Leben davongekommen. Auffallend ist es zunächst, daß die schon zu einem früheren Zeitpunkt — sofort, nach 1 und 2 Stunden —, also unter noch günstigeren Bedingungen behandelten 3 Tiere gestorben sind, aber die Betrachtung der weiteren Einzelheiten spricht wohl unzweifelhaft dafür, daß die Todesursache nicht in der Diphtherieinfektion zu suchen ist. Hier liegt ein Beispiel vor, wie es eben bereits angedeutet wurde, daß infizierte Tiere nach längerer Zeit an den Folgen der Operation und einer Sekundärinfektion noch eingehen können, ohne irgendwelche Zeichen des Diphtherietodes zu bieten. Die gleichzeitig und 2 Stunden nach der Infektion mit Normalserum gespritzten Kaninchen (No. 18 und 21) zeigten nur an den beiden ersten Tagen erschwerte Atmung und Stenoseerscheinungen, waren dann aber vollkommen frei von Krankheitserscheinungen, und erst nachträglich, nach ca. 2 Wochen, entwickelten sich, offenbar von der infizierten Trachealwunde ausgehend, eitrige Bronchitis und Pneumonie. Nur bei Kaninchen 19, das 7 Tage nach der Infektion einging, liegt der Fall etwas anders. Dieses Tier war auch nach der Seruminjektion immer noch krank geblieben, zeigte bei der Sektion neben eitriger Bronchitis und Pneumonie eine kleine membranöse Auflagerung auf der Trachealschleimhaut und beherbergte in der Trachea noch spärliche Diphtheriebazillen. Die Wirkung des Serums war also hier nicht ausreichend gewesen, vermutlich hatte die frühzeitig einsetzende Mischinfektion die Heilung verhindert. Aber wie dem auch sei, geht aus der in Tabelle II wiedergegebenen Versuchsreihe jedenfalls das eine hervor, daß es auch mit normalem Pferdeserum möglich ist, tracheal infizierte Kaninchen zu schützen und bis zu einer gewissen Grenze zu heilen. In dem vorliegenden Versuche gelang dies schon mit 1 ccm Pferdeserum und bis zu 8 Stunden nach der Infektion.

Man könnte vielleicht nach dem Verlauf der Versuche annehmen, daß das spezifische Serum doch etwas sicherer gewirkt hat; doch sind die Unterschiede so verschwindend, daß das leere Serum dem antitoxinhaltigen (250 A.E.) unter den

bisher geprüften Bedingungen als therapeutisch gleichwertig angesehen werden müßte. Ueberraschend war auch die weite zeitliche Grenze, bis zu der eine Heilungsmöglichkeit sich ergeben hatte, zumal nach den umfassenden Untersuchungen Dietrichs selbst durch hochwertiges Diphtherieserum und Einspritzung von 1500 AE. nach 6—7 Stunden die tracheal infizierten Kaninchen nicht mehr gerettet werden können. Es war uns daher von Wichtigkeit, diesen Fragen weiter nachzugehen und namentlich zu untersuchen, ob nicht auf andere Weise die Ueberlegenheit des spezifischen Serums und die Bedeutung des Antitoxingehalts erwiesen werden könnte. Zu diesem Zweck mußte einmal ermittelt werden, was sich in einem noch späteren Infektionsstadium, also nach mehr als 8 Stunden, durch Diphtherieserum und Normalserum erreichen läßt, ferner kam eine Verstärkung der Infektion in Betracht.

Die nächsten Versuche, die sich den bisher besprochenen in ihrer Anordnung und Technik genau anschlossen und von ihnen nur dadurch unterschieden, daß die Behandlung nach 6, 14 und 24 Stunden eintrat, wurden in ihrem Verlauf leider durch die schon erwähnte Stallseuche und andere Umstände gestört. Eine größere Zahl von Tieren fällt daher aus, und ich unterlasse es, über diese Versuche, die nicht als maßgebend und beweisend betrachtet werden können, genauere Protokolle anzuführen. Hervorheben möchte ich aber immerhin, daß schon aus ihnen eine unzweifelhafte Ueberlegenheit des anti-toxischen Serums hervorzugehen schien. So starben in einer Versuchsreihe zwar sämtliche Tiere, doch war nach Krankheitsverlauf, Zeitpunkt des Todes und Sektionsbefund zwischen den mit Diphtherieserum und Normalserum injizierten Tieren ein ausgesprochener Unterschied zu konstatieren. Die ersteren gingen nach 8—13 Tagen zugrunde, auch die erst nach 14 und 24 Stunden in Behandlung genommenen, und zwar unter der Erscheinung einer eitrigen Bronchitis und Pneumonie, ohne spezifischen Befund, wogegen die Normalserumtiere, speziell die nach 14 und 24 Stunden behandelten mit typischen Veränderungen (Pseudomembran), wie die Kontrolltiere, nach 2—4 Tagen starben. Was aber hier sowohl wie auch sonst die Heilwirkung des Diphtherieserums besonders charakterisierte, ist die Tatsache, daß die Tiere auf die Seruminjektion

alsbald mit einer Besserung des Allgemeinbefindens und einem Schwinden der Lokalsymptome (Atembeschwerden) reagierten. Fast immer ließ sich konstatieren, daß die trotz Diphtherieseruminjektion gestorbenen Tiere nach einem Stadium der klinischen Genesung von neuem erkrankten oder auch ganz plötzlich und unerwartet eingingen. So waren, wenn man etwa 4, 5 Tage nach der Infektion den Stand des Versuches kontrollierte, die Kontrolltiere bereits tot, auch die mit Normalserum gespritzten tot oder schwer krank und nur die Antitoxinkaninchen schienen munter und gerettet zu sein. Wenn ich auch der Ansicht bin, daß die sekundäre Erkrankung nicht direkt mit der experimentellen Infektion zusammenhing, sondern als Stallseuche zu betrachten war, die auch unbenutzte Tiere unter den gleichen Symptomen einer eitrigen Bronchitis und Pneumonie hinraffte, so liegen die Verhältnisse eben doch nicht völlig klar und eindeutig¹⁾.

Eine Reihe von Versuchen gleicher Art, die in einer späteren Periode einigermaßen glatt verlaufen sind, seien noch etwas näher besprochen. Sie finden sich in Tabelle III zusammengestellt. Es geht daraus zunächst hervor, daß das normale Pferdeserum, das 4—24 Std. nach der Infektion in der Menge von 1 ccm injiziert wurde, so gut wie vollkommen versagte. Nur die nach 4 Stunden behandelten beiden Kaninchen ließen eine Heilwirkung der Seruminjektion erkennen, indem das eine Tier (No. 53) mit dem Leben davonkam, das andere (No. 45) nach 7 Tagen unter atypischen Erscheinungen zugrunde ging. Eine Pseudomembran war in dem letzteren Fall nicht zu konstatieren, auch Bronchien und Lungen erschienen von normaler Beschaffenheit; Diphtheriebazillen waren nicht nachweisbar; in der Trachealwunde fand sich ein kleiner Eiterpfropf. Die übrigen Normalserumtiere, die nach 6, 8, 14 und 24 Std. behandelt waren, erlagen der Infektion unter mehr oder weniger typischen Erscheinungen, fast genau wie die Kontrolltiere. Lediglich eine Verzögerung des Krankheitsverlaufes war in einzelnen Fällen, und zwar außerhalb der Reihe, zu beobachten. Die durchschnittliche Krankheitsdauer

1) Die wechselnde Bakterienflora des Tracheal- und Bronchialschleims brachte in diesen Fällen auch keine weitere Klärung.

Tabelle III.

Kaninchen intratracheal infiziert.

Behandlung nach 4—24 Std., teils mit Diphtherieserum (200—250 AE.), teils mit normalem Pferdeserum.

| Prot. No. | Gew. in g | Seruminjektion | | | Resultat | Bemerkungen |
|-----------|-----------|----------------|-------------------|---------|----------|--|
| | | Zeitpunkt | Art | Menge | | |
| 44 | 1820 | 4 Std. nachher | 1 ccm Diph.-Serum | 200 AE. | lebt | |
| 52 | 1845 | dgl. | dgl. | 200 AE. | lebt | |
| 36 | 2250 | 6 Std. nachher | " | 250 AE. | † 18 | Pneumonie |
| 46 | 1480 | 8 " " | " | 200 AE. | lebt | |
| 54 | 1672 | 8 " " | " | 200 AE. | lebt | |
| 38 | 2050 | 14 " " | " | 250 AE. | † 6 | Eitr. Tracheitis, Enteritis. |
| 56 | 1800 | 14 " " | " | 200 AE. | † 8 | Emphysem, Schleimhaut intakt! Keine Diph.-Baz. |
| 40 | 2090 | 24 " " | " | 250 AE. | † 6 | Geringe Pseudomembr., Diph.-Baz. |
| 45 | 1560 | 4 Std. nachher | 1 ccm Norm. Serum | 0 | † 7 | atypisch |
| 53 | 1920 | 4 " " | " | 0 | lebt | |
| 37 | 1500 | 6 " " | " | 0 | † 3 | Typ. Befund |
| 55 | 1700 | 8 " " | " | 0 | † 7 | Mischinfektion Di.-Baz. nachgewiesen. |
| 39 | 1470 | 14 " " | " | 0 | † 6 | Pseudomembran; Pneumonie, Diph.-Baz. negativ |
| 57 | 1785 | 14 " " | " | 0 | † 4 | Typ. Befund |
| 41 | 2080 | 24 " " | " | 0 | † 5 | Typisch, Diph.-Baz., Membran |
| 42 | 1310 | — | — | — | † 4 | Typ. Befund, Pneumonie |
| 43 | 1400 | — | — | — | † 2 | Typ. Befund |
| 58 | 2055 | — | — | — | † 3 | dgl. |
| 59 | 1670 | — | — | — | † 4 | dgl. |

betrug 5 Tage, die der Kontrolltiere 3,25 Tage. Krankheitsverlauf und Sektionsbefund boten im übrigen, um dies nochmals zu betonen, das für die Trachealinfektion charakteristische Bild. Es fanden sich Pseudomembranen und mehr oder minder reiche Mengen von Diphtheriebazillen. Nur in zwei Fällen (No. 39 und 55), die 2 nach 8 bzw. 14 Std. mit normalem Serum injizierte Kaninchen betrafen, war bei den am 7. bzw. 6. Tage

eingegangenen Tieren eine Mischinfektion mit eitriger Bronchitis bzw. Pneumonie, offenbar ausgehend von der vereiterten Trachealwunde, zu konstatieren. Es gelang also in diesem Versuche, eine therapeutische Wirkung des normalen Pferde-serums höchstens bis zu 4 Stunden nachzuweisen, während in einer früheren Versuchsreihe (vgl. Tab. II) durch den gleichen Eingriff die Tiere noch bis zu 8 Stunden nach der Infektion gerettet werden konnten. Das sind offenbar unvermeidliche Zufälligkeiten, die im Einzelfalle mit dem Infektionsmodus, der Virulenz der Kultur, vielleicht auch mit der Widerstandsfähigkeit der Versuchstiere zusammenhängen. Wesentlich und entscheidend ist für unsere Betrachtungen die Tatsache, daß sich unter den gleichen Bedingungen die starke Ueberlegenheit des spezifischen Serums erweisen läßt.

So blieben von den mit 200 AE. behandelten Kaninchen die nach 4 und 8 Stunden injizierten Tiere am Leben. Auch das nach 6 Stunden mit 250 AE. behandelte Tier ging erst nach 18 Tagen unter den Erscheinungen einer Sekundärinfektion zugrunde, ohne daß sich irgendwelche diphtherische Veränderungen hätten nachweisen lassen. Selbst nach 14 Std. schien die Injektion von 200 bzw. 250 AE. noch eine günstige Wirkung auszuüben, denn obwohl beide Tiere nach 6 bzw. 8 Tagen starben, waren sichere Anzeichen dafür, daß der Tod als Folge der Diphtherieinfektion eingetreten ist, nicht vorhanden. Weder fanden sich Membranen, noch konnten Diphtheriebazillen nachgewiesen werden; das eine Tier (No. 56) zeigte bei verheilter Trachealwunde und unveränderter Trachealschleimhaut ein weit ausgedehntes Hautemphysem. Nach 24 Std. war die Antitoxinbehandlung (250 AE.) dagegen von keinem sicheren Erfolg mehr begleitet. Das betreffende Kaninchen starb nach 6 Tagen unter ziemlich typischen Erscheinungen. Immerhin war die Membranbildung nur angedeutet, der Eintritt des Todes verzögert. Die in Tabelle III angeführten Versuche lehren also, daß das Diphtherieserum mit einem Antitoxingehalt von 200—250 AE. die Trachealinfektion der Kaninchen noch sicher nach 8 Std. zu heilen vermochte und selbst nach 14 Std. noch einen günstigen Einfluß zum mindesten auf den Lokalprozeß äußerte. Bei gleicher Versuchsanordnung konnten die mit gleicher Menge (1 ccm)

normalen Pferdeserums behandelten Kaninchen nur bis zu 4 Std. nach der Infektion gerettet werden.

Immerhin war es erwünscht, die Ergebnisse, wenn möglich, noch eindrucksvoller zu gestalten. Zu diesem Zweck sollte versucht werden, die Heilwirkung des normalen Pferdeserums gänzlich auszuschalten durch Verstärkung der Infektion. Es wurde daher zunächst die Bakteriendosis erhöht und die Trachealschleimhaut durch kräftiges Einreiben von mindestens 2 großen Oesen Kulturmasse infiziert. Eine weitere Erschwerung der Heilbedingungen wurde dadurch bewirkt, daß die Seruminjektion erst nach 8 und 12 Std. einsetzte. Andererseits aber wurde darauf Bedacht genommen, die Wirkung des spezifischen Antitoxins nach Möglichkeit zur Geltung zu bringen. Dies geschah dadurch, daß an Stelle der in den früheren Versuchen ausgeführten subkutanen Einspritzung ein anderer Injektionsmodus gewählt und außerdem wesentlich mehr Antitoxin injiziert wurde.

Die ersten Versuche dieser Art befriedigten auch noch nicht vollkommen, insofern, als die Resultate durch interkurrente Erkrankungen der Versuchstiere und Unregelmäßigkeiten des Verlaufs kompliziert wurden. Es wird deshalb auf eine Wiedergabe der Protokolle verzichtet. Nur kurz sei so viel angeführt, daß die intravenöse Injektion von 625 AE. nach 4, 8 und 16 Std. unverkennbar günstig wirkte, den Tod der Tiere im akuten Stadium und die Membranbildung verhinderte. Eine therapeutische Wirkung des normalen Pferdeserums war nach 8 und 16 Std. überhaupt nicht mehr vorhanden, wohl aber nach 4 Std. noch angedeutet. Eine weitere Erhöhung der Antitoxinmenge schien hiernach angezeigt. Zugleich wurde die intracardiale Einspritzung des Serums versucht, und zwar in Mengen von 1200, 2000 und 3000 AE., aber von den Kaninchen schlecht vertragen. Schließlich gelangte als Injektionsmodus die gleichzeitige intravenöse und intramuskuläre Einspritzung des Serums zur Anwendung. Auf diese Weise ließen sich bessere Resultate erzielen. Die Tiere erhielten das Serum intravenös und intramuskulär, und zwar so, daß die Antitoxinmenge gleichmäßig auf die beiden Applikationsformen verteilt, d. h. die Hälfte intravenös, die andere Hälfte intramuskulär eingespritzt wurde. Ferner wurden

große Antitoxindosen verabfolgt, von 1200—3600 AE., wobei die Einverleibung teils in einer einmaligen Einspritzung, teils in wiederholten (3) Injektionen bestand.

In Tabelle IV ist eine Uebersicht über 2 Versuchsreihen zusammengestellt. Hierbei wurden 12 Tiere in der eben besprochenen Weise mit spezifischem Diphtherieserum behandelt, 4 Kaninchen erhielten entsprechende Mengen von normalem Pferdeserum und 4 weitere Kaninchen blieben ohne jede Behandlung als Kontrollen. Auch diese Versuchsreihe zeigt keine völlig glatten Resultate, ist aber in ihren Ergebnissen ziemlich eindeutig. Was zunächst die Kontrolltiere angeht, so sind 3 von ihnen nach $1\frac{1}{2}$ bzw. 3 Tagen unter typischen Erscheinungen zugrunde gegangen. Nur das vierte, das nach $6\frac{1}{2}$ Tagen starb, zeigte neben typischen Veränderungen eine ausgedehnte eitrige Bronchitis, die möglicherweise als Mischinfektion gedeutet werden könnte. Auch die mit normalem Pferdeserum in der Dosis von 6 ccm nach 8 und 12 Stunden behandelten Kaninchen sind ebenso rasch wie die Kontrolltiere gestorben, ja fast noch früher. Der Tod erfolgte bei diesen nach $1\frac{1}{4}$, $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$ und $4\frac{1}{2}$ Tagen, wobei auch bei dem letzteren Tier möglicherweise eine Mischinfektion in Form eitriger Bronchitis vorlag. Sonst zeigten die Normalserumtiere nicht die geringste Spur einer Beeinflussung und boten die gleichen charakteristischen Erscheinungen im Krankheitsverlauf und Sektionsbefund wie die Kontrollen. Daß sich in diesem Falle nach 8 Stunden durch normales Pferdeserum absolut keine therapeutische Wirkung erzielen ließ, während bei früheren Versuchen sich gelegentlich zu diesem Termin noch ein Einfluß des Serums bemerkbar machte, dürfte in der Hauptsache wohl auf die stärkere Infektion der Tiere zurückzuführen sein. Jedenfalls verdient die Tatsache des völligen Versagens der Normalserumtherapie im Hinblick auf die sogleich zu erörternden Resultate der Antitoxininjektion besonders unterstrichen zu werden.

Das antitoxische Serum hat sowohl nach 8 Stunden als auch nach 12 Stunden unzweifelhaft Heilwirkung geäußert. Die einmalige Einspritzung von 1200 AE. (3 ccm) vermochte sowohl nach 8 Stunden als auch nach 12 Stunden von je 2 Kaninchen eines zu retten. Das zweite nach 8 Stunden

Tabelle IV.

Behandlung der tracheal infizierten Kaninchen mit antitoxischem und normalem Pferdeserum.

Infektion: 2 große Oesen 24-stünd. Diphtheriekultur nach Tracheotomie in die Trachealschleimhaut eingerieben.

Heilversuch nach 8 und 12 Stunden.

Antitoxisches Serum = 400-fach.

| Prot.-No. | Gewicht in g | Behandlung | | Resultat | Bemerkungen |
|-----------|--------------|------------------|---|----------|---|
| | | Zeitpunkt | Menge | | |
| 91 | 1770 | 8 Std. nachher | 1200 AE. = 3 ccm zur Hälfte iv., z. andern Hälfte intramuskulär | lebt | |
| 92 | 2040 | dgl. | dgl. | † 6 | Diphtherie u. Pneumonie |
| 81 | 1650 | 12 Std. nachher | dgl. | lebt | |
| 82 | 1730 | dgl. | dgl. | † 4 | Diphtherie u. Pneumonie |
| 95 | 2410 | 8 Std. nachher | 2400 AE. = 6 ccm wie oben | † 1 1/2 | Diphtherie |
| 96 | 2060 | dgl. | dgl. | † 6 | Eitr. Bronchitis u. Pneumonie. |
| 85 | 1630 | 12 Std. nachher | dgl. | † 7 | Pneumonie |
| 86 | 1800 | dgl. | dgl. | lebt | |
| 93 | 2500 | 8 Std. beginnend | 3600 AE. = 9 ccm in 3 Injektionen von je 3 ccm (iv. und im.) nach 8, 24, 36 Std. | lebt | |
| 94 | 2000 | dgl. | dgl. | lebt | |
| 83 | 2300 | 12 Std. beginn. | 3600 AE. = 9 ccm in 3 Injektionen von je 3 ccm (iv. und im.) nach 12, 24, 36 Std. | lebt | |
| 84 | 2200 | dgl. | dgl. | lebt | |
| 97 | 1850 | 8 Std. | 0 AE. 6 ccm Normal-Pferdeserum je 3 ccm iv. und im. | † 1 1/2 | Diphtherie |
| 98 | 1850 | dgl. | dgl. | † 1 1/4 | Diphtherie |
| 87 | 2450 | 12 Std. | dgl. | † 4 1/2 | Diphtherie, eiterige Bronchitis |
| 88 | 1770 | dgl. | dgl. | † 2 1/2 | Diphtherie |
| 99 | 1800 | — | — | † 1 1/2 | Diphtherie |
| 100 | 1850 | — | — | † 1 1/2 | Diphtherie |
| 89 | 1850 | — | — | † 6 1/2 | Diphtherie, eiterige Bronchitis, Pneum. |
| 90 | 1420 | — | — | † 3 | Diphtherie |

in Behandlung genommene Tier starb nach 6 Tagen unter Erscheinungen, die nicht als reiner Diphtherietod aufgefaßt werden konnten; zum mindesten lag Komplikation mit Pneumonie vor. Ebenso ist das zweite der nach 12 Stunden injizierten Tiere trotz Serumbehandlung der Diphtherieinfektion erlegen, obwohl auch hier die Mischinfektion mit beiderseitiger Pneumonie den Ausgang entscheidend beeinflußt haben dürfte. Im Vergleich mit diesen Ergebnissen erscheint die Wirkung der doppelten Antitoxinmenge von 2400 AE. (6 ccm) fast ungünstiger. Hier wurde von 4 Tieren nur eines, und zwar 12 Std. nach der Infektion, gerettet, während die übrigen nach 1½ bzw. 6 und 7 Tagen eingingen. Dabei ist freilich zu berücksichtigen, daß die zuletzt gestorbenen Tiere schwere eitrige Bronchitis und Pneumonie zeigten, dagegen keine Membranbildung. Merkwürdigerweise ist das am schnellsten, nämlich nach 1½ Tagen, und zwar mit typischem Diphtheriebefund eingegangene Tier dieser Reihe ein solches, das schon 8 Stunden nach der Infektion die Antitoxineinspritzung erhalten hatte. Lassen auch diese Versuche noch gewisse Unregelmäßigkeiten erkennen, so geht aus ihnen jedenfalls hervor, daß das spezifische Serum sich dem normalen weit überlegen gezeigt hat. Einige Tiere wurden gerettet, andere ließen bei der Sektion nichts von Membranbildung erkennen, indem eine solche durch das Antitoxin entweder verhindert oder geheilt worden war, und nur in 2 Fällen war ein deutlicher Einfluß ausgeblieben. Man gewinnt sonach den Eindruck, als ob in den betreffenden Fällen die angewendete Antitoxinmenge noch nicht ausreichend gewesen ist. Daß hierin tatsächlich die Erklärung liegt, dürfte aus der letzten Gruppe von 4 Tieren hervorgehen, die in 3 Injektionen, und zwar 8, 24 und 36 bzw. 12, 24 und 36 Std. nach der Infektion insgesamt 3600 AE. erhielten und sämtlich mit dem Leben davongekommen sind. Ein Zufall kann hier nicht vorliegen, denn diese Versuche wurden in den gleichen Reihen neben den anderen vorgenommen und lieferten dieses glatte Resultat. Wir hätten demnach die Tatsache zu konstatieren, daß es selbst nach 8 und 12 Stunden gelingt, durch sehr große Antitoxinmengen (3600 AE.) die tracheale Kaninchendiphtherie zu heilen. Daß es

sich hier in der Tat um die spezifische Wirkung des Antitoxins handelt und um nichts anderes, geht wohl einmal daraus hervor, daß geringere Antitoxinmengen unter den gleichen Versuchsbedingungen weniger sichere Ergebnisse liefern und daß normales Pferdeserum ohne jede Wirkung bleibt.

Es läßt sich somit auch bei der Trachealinfektion der Kaninchen der Beweis für die spezifische Heilkraft des antitoxischen Serums erbringen, der gegenüber die unter gewissen Bedingungen nachweisbare resistenzsteigernde Fähigkeit des normalen Pferdeserums ganz zurücktritt. Immerhin muß zugegeben werden, daß dieser Unterschied bei dem gewählten Infektionsmodus nicht mit der gleichen Regelmäßigkeit und Prägnanz zutage tritt, wie beispielsweise bei der subkutanen Infektion oder Intoxikation des Meerschweinchens. Es bedarf erst, wie wir gesehen haben, einer besonderen Versuchsanordnung, um die Ueberlegenheit des spezifischen Serums, und zwar entsprechend seinem Antitoxingehalt, mit aller Deutlichkeit zu erweisen. Das kann nicht wundernehmen. Denn wir müssen uns immer vergegenwärtigen, daß die Art und Weise, wie überhaupt beim Kaninchen eine diphtherische Infektion der Trachealschleimhaut hervorgerufen werden kann, einen ungewöhnlich schweren Eingriff darstellt, der von vornherein den Organismus lokal und allgemein ganz anders schädigt als die subkutane und intraperitoneale Einverleibung des Virus. Es ist wohl ohne weiteres verständlich, daß die natürliche Resistenz, über die der Kaninchenorganismus gegenüber der experimentellen Diphtherieinfektion verfügt, den Verlauf serotherapeutischer Versuche wesentlich beeinflußt. Und zwar nach zwei Richtungen. Es wird hierdurch einmal nach relativ schwacher Infektion mit der Möglichkeit zu rechnen sein, daß Eingriffe, die eine Verstärkung der natürlichen Abwehrkräfte des Körpers herbeiführen, imstande sein können, die Infektion zu mildern und unter Umständen zu heilen. Auf der anderen Seite dürfte wiederum da, wo wir durch starke Infektion in Form kräftiger Einreibung virulenter Bakterien und durch erhebliche Läsion der Schleimhaut die normale Resistenz des Tieres absichtlich sehr bedeutend schwächen, ein therapeutischer Erfolg und sichere Heilung nur schwer zu erreichen sein. Es bedarf eben be-

sonderer Kunstgriffe und eines sehr energischen Infektionsmodus, um überhaupt die Diphtheriebazillen zum Haften und damit das Diphtherietoxin zur Wirkung zu bringen. Man wird sich also vorstellen dürfen, daß auch das normale Serum in seiner Eigenschaft als unspezifisch resistenzsteigerndes Mittel einen Heileffekt dann und so lange zu bewirken vermag, als durch die allgemeinen Abwehrkräfte des Organismus noch die Infektion erfolgreich bekämpft werden kann und die Neutralisierung des Toxins durch ein spezifisches Antitoxin nicht Vorbedingung für den lebensrettenden Eingriff ist. Das gleiche sehen wir ja bezüglich der Wirkung des normalen Pferdeserums auch bei der gewöhnlichen Art der Diphtherieinfektion und Diphtherieintoxikation des Meerschweinchens. Nur daß eben bei der trachealen Diphtherie des Kaninchens wegen der an sich größeren Resistenz dieser Tierart die resistenzsteigernde Kraft des normalen Pferdeserums sich nachhaltiger bemerkbar zu machen pflegt. Wird dagegen, wie wir es in dem letzten Teil unserer Versuche gemacht haben, zum Zwecke einer besonders kräftigen Infektion von vornherein eine große Bakterienmenge verwendet und damit die Toxinbildung und Toxinwirkung beschleunigt, und wird fernerhin die Serumtherapie erst in einem relativ späten Stadium, nach 8 oder 12 Stunden eingeleitet, so nützt die Stärkung seiner natürlichen Abwehrkräfte allein dem Körper nicht mehr, er bedarf zur Heilung des spezifischen Antitoxins. Aber auch von diesem sind sehr beträchtliche Mengen erforderlich, weit größere als zur Heilung diphtherieinfizierter Meerschweinchen, Mengen, wie sie zur Heilung der Diphtherie beim Menschen sich bewähren, und selbst noch mehr.

Anfügen möchte ich kurz, daß ich in einer Reihe von Experimenten versucht habe, eine Schleimhautdiphtherie bei Tieren noch in anderer Weise zu erzeugen und der serotherapeutischen Behandlung zu unterwerfen. Diese Versuche haben in Uebereinstimmung mit den Angaben früherer Autoren zu weniger befriedigenden Resultaten geführt. Die Hoffnung, etwa günstigere Versuchsbedingungen zu schaffen, hat sich nicht erfüllt. So hat, wie schon eingangs erwähnt, bei Kaninchen die Einspritzung virulenter Diphtheriekultur durch die Trachealwand hindurch in die Trachea, also ohne Anlegen

einer Schnittwunde, höchst unsichere Resultate ergeben. Das Ritzen der Schleimhaut mit der Spitze der eingeführten Kanüle erwies sich als nicht ausreichend. Die Erzeugung einer Trachealdiphtherie gelang nicht mit der erforderlichen Sicherheit. Auch die Verimpfung von Diphtheriebazillen auf die *Conjunctiva* des Kaninchens gab keine so prompte Reaktion, daß hieran etwa die Wirkung des Serums hätte studiert werden können. Ebenso wenig befriedigten Versuche an Meerschweinchen. Es gelingt zwar ohne Schwierigkeiten, in derselben Weise wie bei Kaninchen, nach Ausführung der Tracheotomie und Einreibung des Impfmateri als in die Schleimhaut der Trachea, die Tiere innerhalb weniger Tage zu töten, doch sind die Erscheinungen nicht ganz so typisch. Vor allem konnte ich ausgesprochene Membranbildung nicht immer erzielen. Da auch die ersten Vorversuche schon zeigten, daß eine Serumbehandlung nur schwer durchzuführen ist und jedenfalls im Vergleich mit dem Verlauf bei Kaninchen noch viel ungleichmäßigere Reihen gibt, wurde von einer Fortsetzung dieser Versuche abgesehen.

Protokollauszüge.

Versuch I. Virulenzprüfung.

Kaninchen 1, graubraun, 1850 g.

18. VI. Tracheale Infektion mit 1 Oese des Diphtheriestammes „1282“.
19. VI. Temperatur 39,2¹⁾ — 39,2 — 39,8. Etwas Röcheln beim Atmen hörbar.
20. VI. Temp. 39,1 — 38,9 — 39,1. Atemnot nimmt zu. Die Wunde gut geschlossen, ohne Besonderheiten.
21. VI. Temp. 39,1 — 38,6 — 39,1.
22. VI. Temp. 39,2 — 38,9 — 39,0. Status idem.
23. VI. Temp. 39,0 — 39,0 — 39,8.
24. VI. Temp. 38,5 — 38,3 — 38,4. Geringere Atembeschwerden, aber das Tier ist sehr matt.
25. VI. Temp. 37,3 — 37,7 — 37,3. Fortschreitende Mattigkeit.
- 25./26. VI. † Wunde geschlossen, ohne Entzündungserscheinungen. An der Impfstelle ist die Trachealschleimhaut mit einer ca. 1 cm langen Pseudomembran bedeckt. Unterhalb der Stelle ist die Schleimhaut nur stark gerötet, ohne Auflagerung. Bronchien und Lungen ohne besonderen Befund. Histologisch fällt nur relativ geringer Fibringehalt der Membran auf. Diphtherie-

1) Messungen morgens, mittags und abends.

bazillen kulturell nicht sicher nachweisbar¹⁾. Nieren zeigen Veränderungen ähnlich der menschlichen Glomerulonephritis, die übrigen Organe, insbesondere auch die Nebennieren, von normalem Aussehen.

Kaninchen 2, weiß, 1780 g.

18. VI. Tracheale Infektion wie No. 1, mit Diphtheriestamm „D 3“.
19. VI. Temp. 39,5 — 39,0 — 39,2. Ziemlich starkes Röcheln.
20. VI. Temp. 39,3 — 38,8 — 39,0.
21. VI. Temp. 39,2 — 38,9 — 39,0. Atemnot scheint geringer zu sein.
22. VI. Temp. 39,1 — 39,9 — 39,8. Status idem.
23. VI. Temp. 39,3 — 38,9 — 39,1.
24. VI. Temp. 39,2 — 39,0 — 39,3. Keine Krankheitserscheinungen mehr. Tier macht einen munteren Eindruck; bleibt leben.

Versuch II. Wirkung des Diphtherieserums, subkutan prophylaktisch und therapeutisch.

Kaninchen 3, gelb, 2245 g.

30. VI. Tracheale Infektion mit 1 Oese des Diphtheriestammes „1282“. Nach 1 Stunde subkutan 0,5 ccm eines 250-fachen Serums = 125 AE.
1. VII. Temp. 39,4 — 38,8 — 39,0. Ziemlich starkes Röcheln.
2. VII. Temp. 37,9 — 39,0 — 39,0. Etwas Röcheln.
3. VII. † Unterhalb des Kehlkopfes ist die Trachealschleimhaut mit einer 1 cm langen, dicken Pseudomembran bedeckt, der übrige Teil der Schleimhaut stark gerötet. Bronchien ebenfalls gerötet. Die übrigen Organe zeigen normale Beschaffenheit. Diphtheriebazillen nur im Herzblut in spärlicher Menge nachgewiesen.

Kaninchen 4, schwarz, 1810 g (Kontrolle).

30. VI. Infektion wie oben.
1. VII. Temp. 40,8 — 40,5 — 38,8. Ziemlich starkes Röcheln.
2. VII. Temp. 37,4 — 35,0. Sehr starkes Röcheln. Stirbt am Abend im Kollaps. An der Impfstelle ist die Trachealschleimhaut mit einer ca. 2 cm langen Pseudomembran bedeckt. Die übrige Schleimhaut stark gerötet. In den stark geröteten Bronchien reichlich fibrinöses Exsudat. Lungen hyperämisch, die anderen Organe normal. Diphtheriebazillen in den membranösen Auflagerungen und in der Bronchialschleimhaut nachgewiesen.

Kaninchen 5, schwarzweiß, 2050 g.

5. VII. Subkutan 0,5 ccm Diphtherieserum = 125 AE. Nach 1 Stunde tracheale Infektion mit Stamm „1282“.
6. VII. Temp. 39,5. Ziemlich starkes Röcheln.

1) Der bakteriologische Befund ist hier wie auch bei den übrigen Tieren nur wiedergegeben, soweit er sich auf Diphtheriebazillen bezieht.

7. VII. Temp. 38,6 — 38,6 — 39,0. Leichtes Röcheln.
8. VII. Temp. 39,3 — 38,8. Keine Erscheinungen.
9. VII. Temp. 38,9 — 38,6 — 38,8. Die Temperatur bleibt auch weiterhin in den bezeichneten Grenzen. Am 18. X. als vollkommen gesund entlassen.

Kaninchen 6, schwarzweiß, 1980 g.

5. VII. Subkutan 2 ccm Diphtherieserum = 500 AE. Nach 1 Stunde tracheale Infektion.
6. VII. Temp. 39,5. Leichtes Röcheln.
7. VII. Temp. 39,2 — 39,0 — 39,2. Keine Erscheinungen.
8. VII. Temp. 38,6 — 38,4 — 38,9. Keine Erscheinungen.
9. VII. Temp. 38,2 — 38,3 — 38,6. Keine Erscheinungen. Temp. auch weiterhin normal. Am 18. X. gesund entlassen.

Kaninchen 7, schwarz, 2030 g.

16. VII. Subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE. Nach 1 Stunde tracheale Infektion. Temp. 39,0 — 39,2 — 39,1. Keine Krankheitserscheinungen.
17. VII. Temp. 38,9 — 38,8 — 39,0. Das Tier bleibt gesund und wird am 18. X. entlassen.

Kaninchen 8, schwarz, 1950 g.

16. VII. Tracheale Infektion. Hierauf sofort subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE. Temp. 39,4 — 39,0 — 39,0. Etwas Röcheln.
17. VII. Temp. 39,4 — 39,0 — 38,9. Ziemlich starkes Röcheln.
18. VII. Temp. 39,1 — 38,9 — 39,2. Keine Krankheitserscheinungen. Bleibt dauernd gesund und wird am 18. X. entlassen.

Kaninchen 9, weiß, 1565 g.

16. VII. Tracheale Infektion und 1 Stunde später subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE. Temp. 39,2 — 39,0 — 38,9. Starkes Röcheln.
17. VII. Temp. 38,8 — 38,8 — 39,1. Leichtes Röcheln.
18. VII. Temp. 39,4 — 39,0 — 39,2. Keine Krankheitserscheinungen. Tier am 30. VIII. gesund entlassen.

Kaninchen 10, aschgrau, 1570 g (Kontrolle).

16. VII. Tracheale Infektion, Temp. 40,1 — 39,8 — 39,0. Starkes Röcheln, Atemnot.
17. VII. Temp. 37,0; sehr starkes Röcheln, Mittags †. An der Impfstelle eine 4 cm lange Pseudomembran. Die übrige Schleimhaut stark gerötet. Bronchien mit fibrinösem Exsudat erfüllt. Lunge stark hyperämisch. Sonst keine abnormen Befunde. Diphtheriebazillen in der Pseudomembran und auf der Bronchialschleimhaut mikroskopisch nachweisbar.

Kaninchen 11, grau, 1845 g (Kontrolle).

- 20. X. Tracheale Infektion mit Diphtheriestamm „1282“.
- 21. X. Temp. 40,3 — 40,8 — 40,2. Sehr starkes Röcheln.
- 22. X. † In der Trachea schleimiges Sekret. An der Impfstelle ausgedehnte Pseudomembranen, vom Kehlkopf bis zu den Bronchien reichend. Lungen stark hyperämisch. In den Bronchien schaumig-blutiges Sekret, jedoch keine Membranbildung. Diphtheriebazillen in den Membranen nachgewiesen.

Kaninchen 12, schwarz, 2060 g (Kontrolle).

- 20. X. Infektion wie Kaninchen No. 11.
- 21. X. Temp. 40,8 — 40,1 — 39,9. Starkes Röcheln, Atemnot.
- 22. X. Temp. 37,5. Mittags †. An der Impfstelle ausgedehnte Membranbildung. Die übrigen Teile der Trachealschleimhaut zeigen zahlreiche Ekchymosen. Bronchien hyperämisch. An der Impfstelle und in weiterer Umgebung im Trachealschleim Diphtheriebazillen nachgewiesen.

Kaninchen 13, schwarz, 1635 g.

- 20. X. Tracheale Infektion. Hierauf sofort Injektion von 1 cem Diphtherieserum = 250 AE.
- 21. X. Temp. 39,3 — 39,4 — 39,5. Leichtes Röcheln.
- 22. X. Temp. 39,2 — 39,1 — 39,2. „ „
- 23. X. Temp. 39,9 — 39,2 — 39,1. Keine Krankheitserscheinungen. Bleibt am Leben.

Kaninchen 14, schwarz, 1720 g.

- 20. X. Tracheale Infektion. Nach 1 Stunde Injektion von 1 cem Diphtherieserum = 250 AE.
- 21. X. Temp. 39,4 — 39,0 — 39,0. Ziemlich starkes Röcheln.
- 22. X. Temp. 38,9 — 39,0 — 39,3. Leichtes Röcheln.
- 23. X. Temp. 39,5 — 39,4 — 39,3. „ „
- 24. X. Temp. 39,3 — 39,2 — 39,5. „ „
- 25. X. Temp. 39,5 — 39,3. „ „
- 27. X. Keine Krankheitserscheinungen. Bleibt am Leben.

Versuch III. Wirkung von Diphtherieserum und normalem Pferdeserum auf die Trachealinfektion. Seruminjektion subkutan.

Kaninchen 18, schwarzweiß, 2105 g.

- 29. X. Tracheale Infektion. Sofort subkutane Injektion von 1 cem Normalpferdeserum.
- 30. X. Temp. 40,2 — 40,5. Starkes Röcheln.
- 31. X. Temp. 39,7 — 39,5. Kein Röcheln mehr. Keine Krankheitserscheinungen.
- 1. XI. Temp. 40,0 — 39,5. Kein Röcheln mehr. Keine Krankheitserscheinungen.

4. XI. Temp. 39,6 — 39,7. Tier munter, ohne Erscheinungen.
 13. XI. †. Wunde vereitert. Unterer Teil der Trachea stark gerötet. Keine Pseudomembranen. Bronchien hyperämisch, mit schleimig-eitrigem Sekret erfüllt. In den Lungen: lobäre Infiltration mit Eiterherden (lobäre Pneumonie).

Kaninchen 19, schwarzweiß, 2845 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 1 Stunde subkutane Injektion von 1 ccm Normalserum.
 30. X. Temp. 39,8 — 40,2. Starkes Röcheln.
 31. X. Temp. 39,5 — 39,2. Atembeschwerden.
 1. XI. Temp. 39,7. Atembeschwerden.
 3. XI. Temp. 37,6 — 36,6. Starkes Röcheln, Cyanose.
 4. XI. Temp. 36,0. Starkes Röcheln, Cyanose.
 7. XI. †. Wunde wenig verändert. An der Impfstelle geringe Membranbildung, Trachea und Bronchien mit schleimig-eitrigem Sekret gefüllt, die Schleimhaut stark hyperämisch. Lungen hyperämisch mit pneumonischen Herden. Diphtheriebazillen in der Wunde nachgewiesen.

Kaninchen 20, weißgelb, 1535 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 2 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE.
 30. X. Temp. 39,0 — 39,2. Starkes Röcheln.
 31. X. Temp. 38,7 — 39,0. Keine Krankheitserscheinungen.
 1. XI. Temp. 38,5 — 38,5. Ziemlich starkes Röcheln.
 3. XI. Temp. 38,5 — 38,7. Leichtes Röcheln.
 4. XI. Temp. 39,0. Keine Krankheitserscheinungen.
 Bleibt am Leben.

Kaninchen 21, weißgelb, 1645 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 2 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Normalserum.
 30. X. Temp. 39,0 — 38,3. Ziemlich starkes Röcheln.
 31. X. Temp. 38,0 — 39,0. " " "
 1. XI. Temp. 37,7 — 37,8. " " "
 3. XI. Temp. 39,2 — 39,0. " " "
 11. XI. †. Wunde stark vereitert. Trachea und Bronchien mit schleimig-eitrigem Sekret gefüllt, die Schleimhaut stark gerötet. In der Lunge lobäre Infiltration. Pneumonie. Diphtheriebazillen nirgends nachweisbar.

Kaninchen 22, braun, 2960 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 4 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE.
 30. X. Temp. 39,9 — 39,7. Ziemlich starkes Röcheln.
 31. X. Temp. 39,9 — 39,4. Keine Krankheitserscheinungen.

1. XI. Temp. 39,7 — 39,5. Keine Krankheitserscheinungen.
Bleibt am Leben.

Kaninchen 23, braun, 2125 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 4 Stunden subkutane Injektion von
1 ccm Normalserum.
30. X. Temp. 39,3 — 39,8. Starkes Röcheln.
31. X. Temp. 39,7 — 39,6. " "
1. XI. Temp. 39,6 — 39,3. Ziemlich starkes Röcheln.
3. XI. Temp. 39,6 — 39,4. Keine Krankheitserscheinungen.
4. XI. Temp. 39,0 — 39,4. " "
Bleibt am Leben.

Kaninchen 24, braun, 2115 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 8 Stunden subkutane Injektion von
1 ccm Diphtherieserum = 250 AE.
30. X. Temp. 39,3 — 39,6. Starkes Röcheln.
31. X. Temp. 39,4 — 39,6. " "
1. XI. Temp. 39,5 — 39,3. Keine Krankheitserscheinungen.
3. XI. Temp. 40,0 — 40,0. " "
Bleibt am Leben.

Kaninchen 25, braun, 1955 g.

29. X. Tracheale Infektion. Nach 8 Stunden subkutane Injektion von
1 ccm Normalserum.
30. X. Temp. 39,3 — 39,5. Starkes Röcheln.
31. X. Temp. 39,6 — 39,7. " "
1. XI. Temp. 40,0 — 39,1. Keine Krankheitserscheinungen.
3. XI. Temp. 39,0 — 39,2. " "
Bleibt am Leben.

Kaninchen 26, bräunlich-gelb, 1660 (Kontrolle).

29. X. Tracheale Infektion.
30. X. Temp. 39,5 — 39,5. Sehr starkes Röcheln.
31. X. Temp. 38,1 — 37,6. Leichteres Röcheln, Atemnot.
1. XI. Temp. 35,7. Kein Röcheln. Mittags †. Wunde geschlossen.
An der Impfstelle dicke Membranen, die bis zu den Bronchien
reichen; die Schleimhaut stark hyperämisch. In den Bronchien
schleimig-eitriges Sekret; Schleimhaut gerötet. Lungen hyper-
ämisch. In der Wunde kulturell Diphtheriebazillen nachgewiesen.

Kaninchen 27, bräunlich-gelb, 1920 (Kontrolle).

29. X. Tracheale Infektion.
30. X. Temp. 39,7 — 39,7 — 39,5. Starkes Röcheln.
31. X. Temp. 38,3 — 38,1 — 37,7. " "
1. XI. Temp. 36,5. Kein Röcheln, Atemnot. Mittags †. Die Impf-
stelle mit dicken, 4 cm langen Membranen bedeckt. Schleim-

haut gerötet. In den Bronchien schleimiges Sekret, Schleimhaut hyperämisch. In der Wunde und in der Trachealschleimhaut Diphtheriebazillen nachgewiesen.

Versuch VI. Wiederholung von Versuch III, Seruminjektionen bis zu 24 Stunden nach der Infektion.

Kaninchen 36, bräunlich, 2250 g.

11. XII. Tracheale Infektion. Nach 6 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE.
12. XII. Temp. 39,0 — 38,8. Leichtes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,0 — 39,2. Starkes Röcheln.
15. XII. Temp. 39,2 — 39,1. „ „ Subk. Emphysem.
16. XII. Temp. 39,3 — 39,6. „ „ „ „
17. XII. Temp. 39,0 — 39,2. „ „ Das Emphysem breitet sich über den ganzen Körper aus.
18. XII. Temp. 39,2 — 39,3. Keine Krankheitserscheinungen; nur das Emphysem besteht fort.
28. XII. †. Wunde stark vereitert. In der Trachea eitriges Sekret, keine Membranen. In den Lungen lobäre Infiltration mit Eiterherden. Pleuritis, Diphtheriebazillen nirgends nachweisbar.

Kaninchen 37, grauschwarz, 1500 g.

11. XII. Tracheale Infektion. Nach 6 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Normalserum.
12. XII. Temp. 39,6 — 39,0. Ziemlich starkes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,0 — 39,0. Leichtes Röcheln.
14. XII. †. An der Impfstelle dünne, 1,5 cm lange Pseudomembran. Die Schleimhaut der Trachea stark gerötet. Sonst keine Veränderungen. Diphtheriebazillen in der Wunde, der Trachealschleimhaut und in den Lungen kulturell nachgewiesen.

Kaninchen 38, schwarz, 2050 g.

11. XII. Tracheale Infektion. Nach 14 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE.
12. XII. Temp. 40,4 — 39,9. Starkes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,4 — 38,8. „ „
15. XII. Temp. 39,0 — 38,8. Ziemlich starkes Röcheln.
16. XII. Temp. 38,8 — 37,7. „ „
17. XII. †. An der Impfstelle keine Pseudomembran. In der Trachea schleimig eitriges Sekret, die Schleimhaut gerötet. Bronchien zeigen die gleichen Erscheinungen wie die Trachea. Sonst keine Veränderungen. Darmschleimhaut stark gerötet, flüssiger Darminhalt. Diphtheriebazillen nirgends nachweisbar.

Kaninchen 39, schwarz, 1470 g.

11. XII. Tracheale Infektion. Nach 14 Std. subkutane Injektion von 1 ccm Normalpferdeserum.

12. XII. Temp. 40,0 — 39,8. Starkes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,5 — 39,4. „ „
15. XII. Temp. 38,8 — 39,0. „ „
16. XII. Temp. 38,8 — 39,4. Weniger Röcheln. Dyspnoe.
17. XII. Temp. 39,0 — 39,2. „ „ „
19. XII. †. Wunde etwas vereitert. Stellenweise Pseudomembranen. Die Trachealschleimhaut gerötet. In den Bronchien schleimiges Sekret. In den Lungen lobäre Infiltration. Diphtheriebazillen nirgends nachweisbar.

Kaninchen 40, grauschwarz, 2090 g.

11. XII. Tracheale Infektion. Nach 24 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 250 AE.
12. XII. Temp. 40,0 — 35,5. Starkes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,0 — 39,3. „ „
15. XII. Temp. 39,2 — 39,2. „ „ Diarrhoe.
16. XII. Temp. 39,3 — 39,1. Leichtes Röcheln, starke Diarrhoe.
17. XII. †. Wunde etwas eitrig. Schwach entwickelte Pseudomembran. In der Trachea schleimig-eitriges Sekret, Schleimhaut stark gerötet. Diphtheriebazillen in der Wunde nachgewiesen.

Kaninchen 41, schwarz, 2080 g.

11. XII. Tracheale Infektion. Nach 24 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Normalpferdeserum.
12. XII. Temp. 39,0 — 39,8. Starkes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,2 — 38,9. „ „
15. XII. Temp. 39,0 — 39,1. Ziemlich starkes Röcheln, Atembeschwerden.
16. XII. Temp. 37,3 — 37,4. Starkes Röcheln, Dyspnoe.
17. XII. †. Wunde zeigt keine Entzündungserscheinungen. An der Impfstelle eine ca. 2 cm lange Pseudomembran. Tracheal-Schleimhaut stark gerötet. In den Bronchien schleimiges Sekret, Schleimhaut hyperämisch. Diphtheriebazillen in der Wunde kulturell nachgewiesen.

Kaninchen 42, weiß, 1310 g (Kontrolle).

11. XII. Tracheale Infektion.
12. XII. Temp. 39,5 — 39,6. Starkes Röcheln.
13. XII. Temp. 39,5 — 38,6. Sehr starkes Röcheln.
18. XII. Temp. 38,9. †. Wunde nicht verändert. Pseudomembran. In der Trachea schleimig eitriges Sekret, Schleimhaut wenig gerötet. In den Bronchien schleimiges Sekret, Schleimhaut etwas hyperämisch. Im oberen Lappen beider Lungen lobäre Infiltrationen und Eiterherde verschiedener Größe, Diphtheriebazillen in der Wunde nachgewiesen.

Kaninchen 43, weiß, 1400 g (Kontrolle).

11. XII. Tracheale Infektion.
12. XII. Temp. 39,4 — 40,3. Starkes Röcheln, Dyspnoe.

13. XII. †. An der Impfstelle eine 1 cm lange Pseudomembran. Schleimhaut der Trachea im untern Teil stark gerötet. Sonst nichts Besonderes. Diphtheriebazillen in der Wunde und auf der Trachealschleimhaut kulturell nachgewiesen.

Kaninchen 44, schwarz, 1820 g.

20. IV. Tracheale Infektion. Nach 4 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 200 AE.
 23. IV. Temp. 39,3 — 39,2. Gesund.
 26. IV. Temp. 39,2. Gesund.
 Bleibt am Leben.

Kaninchen 45, schwarz, 1560 g.

20. IV. Tracheale Infektion. Nach 4 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Normalpferdeserum.
 23. IV. Temp. 40,0 — 39,8. Starkes Röcheln.
 24. IV. Temp. 39,4. Ziemlich starkes Röcheln.
 26. IV. Temp. 39,8 — 39,6. Etwas Röcheln.
 28. IV. †. Wunde vereitert. Keine Pseudomembranen. Diphtheriebazillen nirgends nachweisbar.

Kaninchen 46, bräunlich, 1480 g.

20. IV. Tracheale Infektion. Nach 8 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 200 AE.
 23. IV. Temp. 39,2 — 39,3. Keine Krankheitserscheinungen.
 24. IV. Temp. 39,5. Bleibt am Leben.

Versuch V. Versuchsanordnung ähnlich wie in Versuch IV.

Kaninchen 52, braun, 1845 g.

4. V. Tracheale Infektion. Nach 4 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 200 AE.
 5. V. Temp. 38,8. Leichtes Röcheln.
 6. V. Temp. 39,3. Keine Krankheitserscheinungen.
 7. V. Temp. 39,1. „ „
 Bleibt am Leben.

Kaninchen 53, gelb, 1920 g.

4. V. Tracheale Infektion. Nach 4 Stunden subkutane Injektion von 1 ccm Normalpferdeserum.
 5. V. Temp. 38,6. Starkes Röcheln.
 6. V. Temp. 38,6. Ziemlich starkes Röcheln.
 7. V. Temp. 39,2. Leichtes Röcheln.
 8. V. Temp. 39,8. „ „
 Bleibt am Leben.

Kaninchen 54, schwarz, 1672 g.

4. V. Tracheale Infektion. Nach 8 Stunden, subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherieserum = 200 AE.

7. V. † Wunde normal. An der Impfstelle eine dicke Pseudomembran, die sich bis zu den Bronchien erstreckt. Daneben fibrinöses Sekret, die Schleimhaut stark gerötet. Diphtheriebazillen im Wundsekret kulturell nachgewiesen.

Kaninchen 59, schwarz, 1670 g (Kontrolle).

4. V. Tracheale Infektion.
 5. V. Temp. 39,6. Starkes Röcheln.
 6. V. Temp. 39,4. Erschwertes Atmen.
 7. V. Temp. 36. Dyspnoe.
 9. V. † Wunde normal. An der Impfstelle eine dicke Pseudomembran. Bronchien etwas gerötet. Diphtheriebazillen in Membran und Bronchien nachgewiesen.

Versuch VI. Starke Infektion (2 Oesen). Heilversuch mit großen Antitoxinmengen (1200—3600 AE.) sowie intravenöser und intramuskulärer Seruminjektion. Kontrollen mit normalem Pferdeserum und ohne jede Behandlung.

Kaninchen 81, schwarz, 1650 g.

22. III. Tracheale Infektion mit 2 Oesen Kultur. Nach 12 Std. Injektion teils intravenös, teils intramuskulär von 3 ccm Diphtherieserum (400-fach) = 1200 AE.
 23. III. Temp. 38,8 — 38,9. Leichtes Röcheln; sonst munter.
 24. III. Temp. 38,8 — 39,3. Keine Krankheitserscheinungen. Bleibt am Leben.

Kaninchen 82, schwarz, 1730 g.

22. III. Tracheale Infektion wie No. 81. Nach 12 Std. teils intravenöse, teils intramuskuläre Injektion von 3 ccm Diphtherieserum = 1200 AE.
 23. III. Temp. 39,2 — 39,2. Leichtes Röcheln. Munter.
 24. III. Temp. 40,1 — 39,6. Ziemlich starkes Röcheln, sonst munter.
 25. III. Temp. 39,5. Ziemlich starkes Röcheln, sonst munter.
 27. III. † Wunde geschlossen. An der Impfstelle eine ca. 1 cm lange Pseudomembran. Tracheal- und Bronchialschleimhaut stark gerötet. In den Lungen ausgedehnte lobäre Infiltrationen. Diphtheriebazillen in der Wunde nachgewiesen.

Kaninchen 83, braun, 2300 g.

22. III. Tracheale Infektion. Nach 12, 24 und 36 Std. intramuskuläre und intravenöse Injektion von je 3 ccm Diphtherieserum, zusammen 9 ccm = 3600 AE.
 23. III. Temp. 38,2 — 39,0. Leichtes Röcheln.
 24. III. Temp. 39,0 — 39,2. Keine Krankheitserscheinungen.
 25. III. Temp. 39,1. Keine Krankheitserscheinungen. Bleibt am Leben.

Kaninchen 84, braun, 2200 g.

- 22. III. Tracheale Infektion. Nach 12, 24, und 36 Std. intravenöse und intramuskuläre Injektion von je 3 ccm Diphtherieserum, zusammen 9 ccm = 3600 AE. (wie No. 83).
- 23. III. Temp. 39,7 — 39,4. Leichtes Röcheln.
- 24. III. Temp. 39,1 — 39,3. Munter.
- 25. III. Temp. 39,2. Munter. Bleibt am Leben.

Kaninchen 85, schwarz, 1630 g.

- 22. III. Tracheale Infektion. Nach 12 Std. intravenöse und intramuskuläre Injektion von 6 ccm Diphtherieserum = 2400 AE.
- 23. III. Temp. 40,0 — 39,8. Keine Krankheitserscheinungen.
- 24. III. Temp. 40,0 — 39,6. „ „
- 25. III. Temp. 39,7. „ „
- 28. III. Starke Atembeschwerden.
- 29. III. † Wunde vereitert. In der Trachea eitriges Sekret. Keine Pseudomembranen. Oberer und mittlerer Teil der Schleimhaut stark gerötet. In der Lunge lobäre Infiltrationen. In der Pleurahöhle 6 ccm gelblichklare Flüssigkeit. Diphtheriebazillen nicht mit Sicherheit nachzuweisen.

Kaninchen 86, weiß, 1800 g.

- 22. III. Tracheale Infektion. Serumbehandlung wie No. 85.
- 23. III. Temp. 40,0 — 39,5. Leichtes Röcheln.
- 24. III. Temp. 39,7 — 39,2. Keine Krankheitserscheinungen.
- 35. III. Temp. 39,4. Keine Krankheitserscheinungen. Bleibt am Leben.

Kaninchen 87, braun, 2450 g.

- 22. III. Tracheale Infektion. Nach 12 Std. intravenöse und intramuskuläre Injektion von 6 ccm Normalferdeserum.
- 23. III. Temp. 39,5 — 39,7. Starkes Röcheln, Atembeschwerden.
- 24. III. Temp. 40,5 — 39,3. Ziemlich starkes Röcheln, Atembeschwerden.
- 25. III. Temp. 38,9 — 39,4. „ „ „ „
- 26. III. Temp. 37,3. † Wunde stark vereitert. In der Trachea eine 2 cm lange dünne Pseudomembran. Schleimhaut stark gerötet. In den Bronchien schleimig-eitriges Sekret. In der Pseudomembran und im Wundsekret Diphtheriebazillen nachgewiesen.

Kaninchen 88, silbergrau, 1770 g.

- 22. III. Tracheale Infektion. Nach 12 Std. Normalserum (6 ccm) wie No. 87.
- 23. III. Temp. 39,2 — 39,3. Starkes Röcheln.
- 24. III. Temp. 37,5 — 37,0. Dyspnoe.
- 25. III. † Subkutanes Oedem in weiterer Umgebung der Schnittwunde, die selbst eitriges Sekret zeigt. In der Trachea eine 4 cm lange, dicke Pseudomembran, Schleimhaut stark gerötet. Bronchialschleimhaut gerötet. Diphtheriebazillen im Wundsekret, in den Pseudomembranen und in den Bronchien nachgewiesen.

Kaninchen 89, weiß, 1350 g (Kontrolle).

- 22. III. Tracheale Infektion.
- 23. III. Temp. 39,8 — 39,5. Starkes Röcheln.
- 24. III. Temp. 38,8 — 38,9. " "
- 25. III. Temp. 39,2. Starkes Röcheln, Atembeschwerden.
- 26. III. Temp. 39,2. Röcheln, Atembeschwerden.
- 28. III. † Wunde stark vereitert. In der Trachea geringer fibrinöser Belag. Schleimhaut stark gerötet. In den Bronchien schleimig-fibrinöses Exsudat. Lungen, rechter und linker Oberlappen stark infiltriert. Diphtheriebazillen im Wundsekret und in der Pseudomembran nachgewiesen.

Kaninchen 90, schwarz, 1420 g (Kontrolle).

- 22. III. Tracheale Infektion.
- 23. III. Temp. 40,1 — 39,8. Starkes Röcheln, Atembeschwerden.
- 24. III. Temp. 38,2 — 38,8. " "
- 26. III. † Wunde etwas eitrig. In der Trachea ausgedehnte Pseudomembran. Sonst keine besonderen Veränderungen. Diphtheriebazillen im Wundsekret, in der Pseudomembran und in den Bronchien nachgewiesen.

Versuch VII. Anordnung ähnlich wie in Versuch VI.

Kaninchen 91, grau, 1770 g.

- 17. V. Tracheale Infektion mit 2 Oesen Diphtheriekultur. Nach 8 Std. teils intravenöse, teils intramuskuläre Injektion von 3 ccm Diphtherieserum = 1200 AE.
- 18. V. Temp. 39,0 — 38,9. Ziemlich starkes Röcheln. Bleibt am Leben.

Kaninchen 92, grau, 2040 g.

- 17. V. Infektion und Behandlung wie Kaninchen 91.
- 18. V. Temp. 39,0 — 39,0. Ziemlich starkes Röcheln.
- 19. V. Status idem.
- 20. V. Fast keine Erscheinungen.
- 22. V. Atembeschwerden.
- 23. V. † Wunde etwas vereitert. Der obere Teil der Trachealschleimhaut zeigt einen schmutzig fibrinösen Belag, der untere Teil ist stark gerötet. Die Bronchien mit fibrinösem Sekret gefüllt. In den Lungen lobäre Infiltration mit Eiterherden. Im Peritoneum ziemlich viel Exsudat. Diphtheriebazillen im Wundsekret und in der Trachea kulturell nachgewiesen.

Kaninchen 93, braun, 2500 g.

- 17. V. Tracheale Infektion. Nach 8, 24 und 36 Std. teils subkutane, teils intravenöse Injektion von je 3 ccm Diphtherieserum = 3600 AE.
- 18. V. Temp. 39,0 — 39,0. Keine Erscheinungen. Bleibt am Leben.

Kaninchen 94, grau, 2000 g.

- 17. V. Infektion und Behandlung wie Kaninchen 93.
- 18. V. Temp. 38,9 — 39,3. Keine Erscheinungen. Bleibt am Leben.

Kaninchen 95, grau, 2410 g.

- 17. V. Tracheale Infektion. Nach 8 Std. teils intravenöse, teils subkutane Injektion von 6 ccm Diphtherieserum = 2400 AE.
- 18. V. Temp. 38,8 — 39,0. Starkes Röcheln, erschwertes Atmen.
- 19. V. † An der hinteren Wand der Trachea eine schmale, ca. 2 cm lange, spindelförmige Pseudomembran; die Schleimhaut ziemlich stark gerötet. In den Bronchien fibrinöses Sekret. Diphtheriebazillen im Wundsekret und in den Bronchien nachgewiesen.

Kaninchen 96, gelbgrau, 2060 g.

- 17. V. Infektion und Behandlung wie No. 95.
- 18. V. Temp. 38,8 — 39,5. Ziemlich starkes Röcheln.
- 19. V. Leichtes Röcheln.
- 20. V. Keine Erscheinungen.
- 22. V. Erschwerte Atmung. Ausfluß aus der Nase.
- 23. V. † Wundränder gerötet und verdickt; eitriges Sekret, Muskulatur etwas ödematös. In der Trachea eitriges Sekret; keine Pseudomembran. In den Bronchien und in der Lunge Eiterherde. Diphtheriebazillen im Wundsekret nicht nachweisbar.

Kaninchen 97, grau, 1850 g.

- 17. V. Tracheale Infektion. Nach 8 Std. intravenöse und intramuskuläre Injektion von 6 ccm Normalpferdeserum.
- 18. V. Temp. 39,0 — 38,5. Starkes Röcheln.
- 19. V. † In der Trachea eine dicke, 4 cm lange Pseudomembran, die Schleimhaut stark gerötet. In den Bronchien fibrinöses Sekret, Schleimhaut gerötet. Nebennieren stark gerötet. In der Pleurahöhle eine kleinere Menge klarer Flüssigkeit. Diphtheriebazillen im Wundsekret und in der Trachea nachgewiesen.

Kaninchen 98, schwarz, 1850 g.

- 17. V. Infektion und Behandlung wie Kaninchen 97.
- 18. V. Temp. 38,6. Erschwerte Atmung. † In der Trachea eine dünne, ca. 5 cm lange Pseudomembran. In den Bronchien fibrinöses Exsudat, die Schleimhaut gerötet. Nebennieren stark gerötet. Diphtheriebazillen im Wundsekret und in der Trachea nachgewiesen.

Kaninchen 99, schwarz, 1800 g (Kontrolle).

- 17. V. Tracheale Infektion.
- 18. V. Temp. 38,0 — 38,0. Starkes Röcheln.
- 19. V. † In der Trachea an der Impfstelle weißlich-fibrinöser Belag und eine 4,5 cm lange Pseudomembran, die Schleimhaut stark gerötet.

In den Bronchien fibrinöses Sekret, Schleimhaut gerötet. In der Brusthöhle eine kleine Menge klarer Flüssigkeit. Nebennieren stark gerötet. Diphtheriebazillen im Wundsekret, in der Trachea und den Bronchien nachgewiesen.

Kaninchen 100, grau, 1850 g (Kontrolle).

- 17. V. Tracheale Infektion.
- 18. V. 39,2 — 38,6. Atemnot, schwer krank.
- 19. V. † Sektionsbefund wie bei Kaninchen 99. Diphtheriebazillen im Wundsekret und in der Trachea nachgewiesen.

Zusammenfassung.

Betrachten wir zum Schluß die Gesamtheit der hier berichteten Experimente, so konnte zunächst bestätigt werden, daß es mit Hilfe eines geeigneten Diphtheriestammes von ausreichender Virulenz gelingt, bei Kaninchen nach Ausführung der Tracheotomie und kräftiger Einreibung des Impfmateri als in die Schleimhaut einen diphtherischen Prozeß zu erzeugen, der mit den Veränderungen bei der menschlichen Diphtherie größte Aehnlichkeit besitzt. Die Krankheitserscheinungen erinnern an das Bild der menschlichen Diphtherie und vor allem kommt es im Anschluß an die Infektion so gut wie regelmäßig zu einer Membranbildung, die durch die Tendenz zum Fortschreiten ausgezeichnet ist und in histologischer Beziehung sich von den diphtherischen Pseudomembranen des Menschen in der Regel nur wenig unterscheidet. Den Befunden einer geringeren Fibrinbildung, wie man sie gelegentlich erheben kann, stehen auf der anderen Seite Fälle gegenüber, wo große Massen eines dichten Fibrinnetzes festzustellen sind. Auch die Ansiedlung der Löfflerschen Bazillen ist in manchen Fällen ebenso massenhaft, die Anordnung zu größeren Haufen in den Pseudomembranen ebenso charakteristisch wie mitunter bei der menschlichen Diphtherie. Nur scheint es, als gingen die Diphtheriebazillen relativ rasch zugrunde. So kann es vorkommen, daß sich bei Tieren, die im akuten Stadium unter typischen Erscheinungen zugrunde gehen, Diphtheriebazillen sich nur spärlich finden und erst durch das Kulturverfahren nachgewiesen werden können.

Unter 23 Kaninchen sind 20 der Infektion in der eben geschilderten Weise erlegen, meist innerhalb der ersten 3 bis 4 Tage, einzelne etwas später. Bei 2 Tieren, die erst in der zweiten und dritten Woche eingingen, war der Befund nicht eindeutig, und nur 1 Tier hat die Infektion überstanden. Die tracheale Schleimhautinfektion der Kaninchen stellt also an und für sich einen ausreichend sicheren Infektionsmodus dar, um Experimente über die Wirkung von Heilmitteln speziell serotherapeutischer Art anstellen zu können.

Wenn nach den umfangreichen Untersuchungen, die von Dietrich angestellt worden sind, dieser Autor zu dem Schluß gelangt ist, daß eine eigentliche Heilung der Kaninchen-diphtherie durch das Diphtherieserum überhaupt nicht möglich sei, daß vielmehr auch durch größere Antitoxindosen immer nur ein Immunisierungseffekt zustande käme, so haben meine eigenen Experimente doch ein wesentlich günstigeres Resultat ergeben. Nach Dietrich soll es, wie schon früher erwähnt, nur möglich sein, die Tiere bis zu 6 Std. nach der Infektion zu retten. Er glaubt hierin aber keine Heilwirkung erblicken zu dürfen, weil durch seine Kontrollversuche an getöteten Tieren erwiesen wurde, daß zu diesem Zeitpunkt eine Membranbildung noch nicht nachweisbar ist. Er nimmt also an, daß die Wirkung des Diphtherieserums beschränkt sei auf das Inkubationsstadium, und betrachtet sie in der Hauptsache nur als eine prophylaktische, eine immunisierende. Die Erklärung für unsere abweichenden Resultate liegt nahe und ist wohl in der Art und Weise der Applikation des Diphtherieserums zu suchen. Ich nehme wenigstens an, daß es sich bei Dietrich um subkutane Seruminjektionen gehandelt hat, da er nichts Besonderes darüber vermerkt. So habe ich ja auch erst nach Anwendung intravenöser und intramuskulärer Injektionen und vor allem nach Einspritzung sehr großer Antitoxinmengen gute Resultate erhalten. Wenn es auf diese Weise gelungen ist, die infizierten Tiere noch nach 8 und 12 Std. zu retten, so wird man dies gewiß nicht mehr als eine immunisierende, noch in das Inkubationsstadium fallende Wirkung betrachten können, sondern als wirklichen Heileffekt zu bezeichnen haben. Hierzu ist man um so mehr

berechtigt, als die Kontrolltiere in den gleichen Versuchsreihen zum Teil schon nach $1\frac{1}{4}$ und $1\frac{1}{2}$ Tagen unter den charakteristischen Erscheinungen des Diphtherietodes zugrunde gegangen sind.

Die Wirkung des Diphtherieserums ist nicht in allen Fällen so durchschlagend zum Ausdruck gelangt, daß die behandelten Tiere mit dem Leben davorkamen. In einer ganzen Reihe von Versuchen sind auch die mit Diphtherieserum gespritzten Kaninchen eingegangen. Aber auch hier wurde ein spezifisch heilender Einfluß angenommen, sobald der Tod der Tiere erheblich später als der der Kontrolltiere erfolgte und vor allen Dingen bei der Sektion ein sicherer Anhalt für den Diphtherietod der Tiere fehlte. Oft war weder von einer Pseudomembran noch von Diphtheriebazillen etwas zu entdecken; es fand sich gewöhnlich nur eine eitrig Bronchitis und Pneumonie, zum Teil auch Vereiterung der Trachealwunde, und es war dann das Nächstliegende, als Todesursache eine Sekundärinfektion anzunehmen. Hierfür sprach auch die Tatsache, daß die Tiere sich von den anfänglichen Beschwerden der Atemstörung erholten und erst nach einem Stadium der scheinbaren Genesung von neuem erkrankten. Es kommt hinzu, daß ähnliche Erkrankungen und Todesfälle auch bei normalen Tieren als Folge einer Stallinfektion eine Zeitlang von uns beobachtet werden konnten. Sollte man aber diese Erscheinungen, wie es z. B. auch Dietrich tut, wenigstens in einem Teil der Fälle, doch noch als direkte Folge der Diphtherieinfektion ansehen und als Todesfälle nach subakutem oder chronischem Verlaufe ansprechen wollen, so dürfte eben hierfür auch das Diphtherieserum verantwortlich zu machen sein. Das Antitoxin hätte dann den Krankheitsprozeß gemildert, ihn aus einem akuten zu einem chronischen gemacht und die Membranbildung verhütet bzw. die schon entstandene Membran zur Heilung gebracht. Die Schwierigkeit einer völlig eindeutigen Verwertung des Kaninchenexperiments liegt darin, daß die Folgen der einfachen Tracheotomie als solcher nicht immer klar zu übersehen und auszuschließen sind. Trotz aller Vorsicht und strengster Asepsis ließ sich eine Infektion der Trachealwunde nicht in allen Fällen vermeiden.

Es kann jedenfalls nach den mitgeteilten Versuchen keinem Zweifel unterliegen, daß sich die tracheale Diphtherie des Kaninchens durch das Diphtherieserum heilen läßt. Bei starker Infektion und in vorgeschrittenem Stadium (nach 8—12 Stunden) sind für diesen Zweck nach meinen Beobachtungen Mengen von 1200—3600 AE. erforderlich, wobei der Heilerfolg durch Einverleibung des Serums in Form intravenöser und intramuskulärer Injektionen wesentlich unterstützt wird. Bei subkutaner Einspritzung ist die Heilkraft des Diphtherieserums anscheinend weniger gut zur Geltung zu bringen. Daß es sich dabei in der Tat um eine spezifische Wirkung des Antitoxins handelt, ergibt sich einmal daraus, daß bei geeigneter Versuchsanordnung das normale Pferdeserum unter den gleichen Bedingungen vollkommen versagt. Es wird aber ferner auch dadurch bewiesen, daß mit Verminderung der Antitoxinmenge zugleich die Sicherheit und zeitliche Grenze einer Heilungsmöglichkeit wesentlich eingeschränkt wird.

Wenn sich gezeigt hat, daß erst unerwartet große Antitoxindosen eine zuverlässige spezifische Heilwirkung gewährleisten, so könnte das durch die früher erörterten Besonderheiten des Kaninchenexperiments allein bedingt sein. Es wäre aber auch möglich, daß der tracheale Infektionsmodus überhaupt einer serotherapeutischen Beeinflussung weniger zugänglich ist als andere Formen der experimentellen Infektion. Bei dieser Annahme würden also die im Kaninchenexperiment gewonnenen Ergebnisse sich nicht auf diese Tierart beschränken, sondern allgemeinere Gültigkeit besitzen. Wenn wir aber einen solchen Schluß ziehen, so würde sich daraus weiterhin ergeben, daß vielleicht die Antitoxinmengen, zu deren Anwendung bei der menschlichen Diphtherie man auf rechnerischem und empirischem Wege gelangt ist, oft noch viel zu gering sind. Bei Umrechnung der in unseren Versuchen bei der experimentellen Kaninchendiphtherie wirksam gefundenen Antitoxinwerte auf das Körpergewicht des Menschen würde man zu Antitoxinmengen gelangen, wie sie wohl bisher noch gar nicht versucht worden sind.

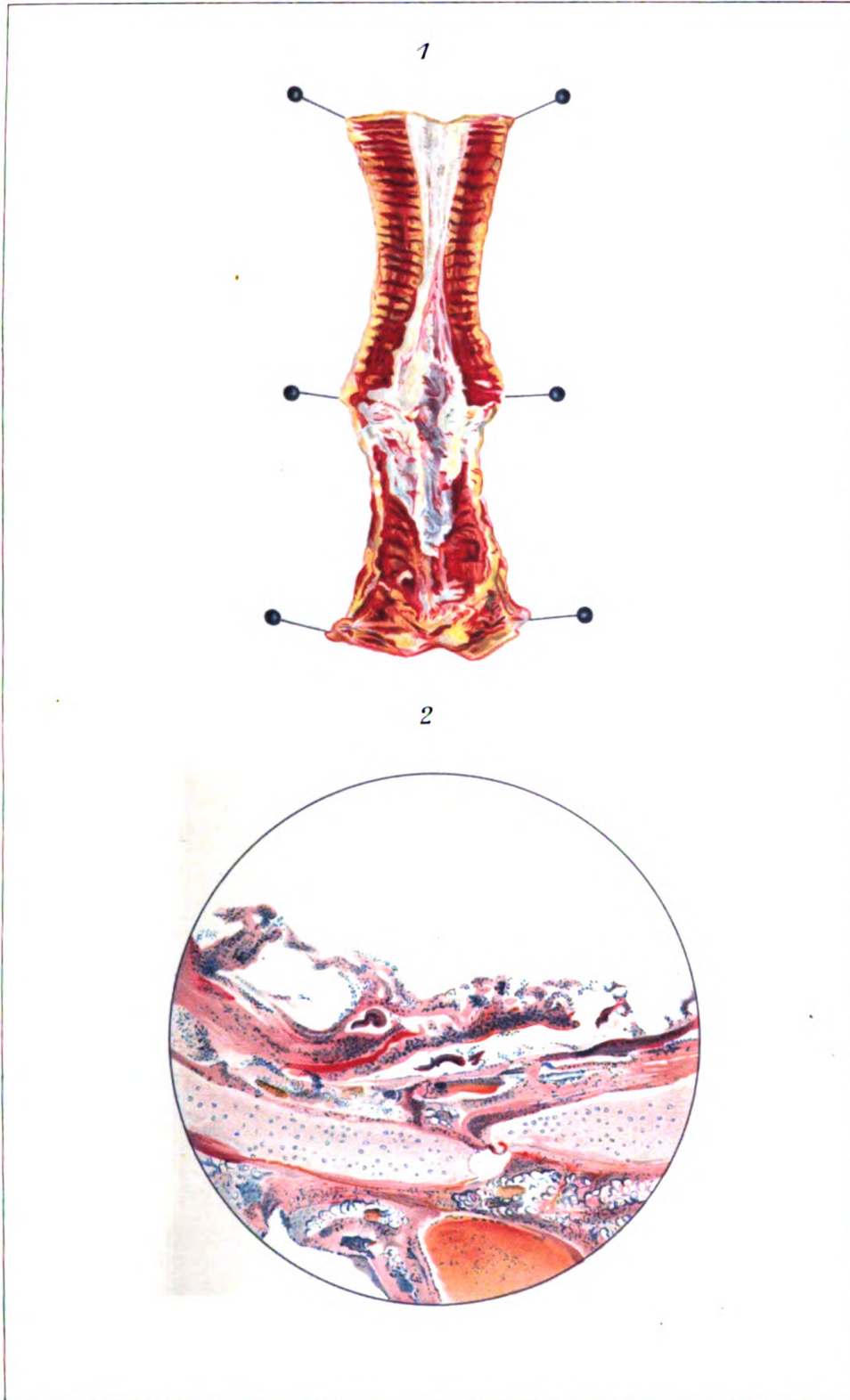
Schlußsätze.

Es wird durch eine große Zahl von Tierversuchen gezeigt, daß die experimentelle Kaninchendiphtherie, wie sie sich auf der Trachealschleimhaut hervorrufen läßt, durch das Diphtherieserum geheilt werden kann. Noch 8 und 12 Stunden nach der Infektion gelingt die Heilung sicher, wogegen normales Pferdeserum unter den gleichen Bedingungen versagt. Die intravenöse und intramuskuläre Einspritzung des Diphtherieserums in Mengen von mindestens 1200—3600 AE. ist hierzu erforderlich. Geringe Antitoxinmengen von 200—250 AE. leisten nicht wesentlich mehr als leeres Pferdeserum und äußern nur bescheidene Heilkraft.

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 aufrichtigen Dank auszusprechen. Auch Herrn Privatdozent Dr. Loewenthal und den anderen Herren, die in dem Institut meiner Arbeit vielfach Hilfe und Erleichterung gewährten, möchte ich meine herzlichste Dankbarkeit ausdrücken.

Literatur.

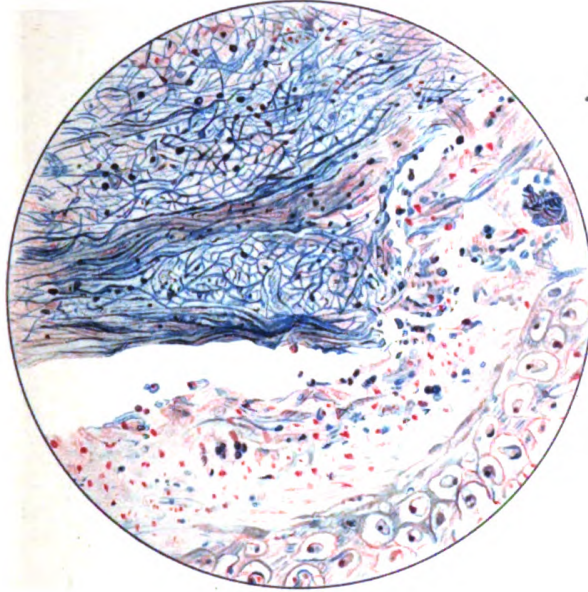
- Beck, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 8, 1890.
 Brieger und C. Fraenkel, Berliner klin. Wochenschr., 1890.
 Brückner, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 698.
 Dietrich, Arb. a. d. pathol. Inst. zu Tübingen, Bd. 3, 1902.
 Dorn, Berliner klin. Wochenschr., 1919.
 Faroy und Loiseau, Ann. Pasteur, 1913.
 Feer, Münch. med. Wochenschr., 1919.
 Flexner und Anderson, J. Hopkins Hosp. Bull., 1898.
 Fraenkel, C., Deutsche med. Wochenschr., 1895.
 Friedberger, Berliner klin. Wochenschr., 1919.
 Henke, Virchows Arch., Bd. 154, 1898.
 — Arb. a. d. Pathol. Inst. zu Tübingen, Bd. 2, 1894/99.
 Herzfeld, Münch. med. Wochenschr., 1919, p. 954.
 Hilbert, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 59, 1898.
 Karger, Deutsche med. Wochenschr., 1919.
 Klotz, Berliner klin. Wochenschr., 1919.
 Kolle und Schloßberger, Med. Klinik, 1919.



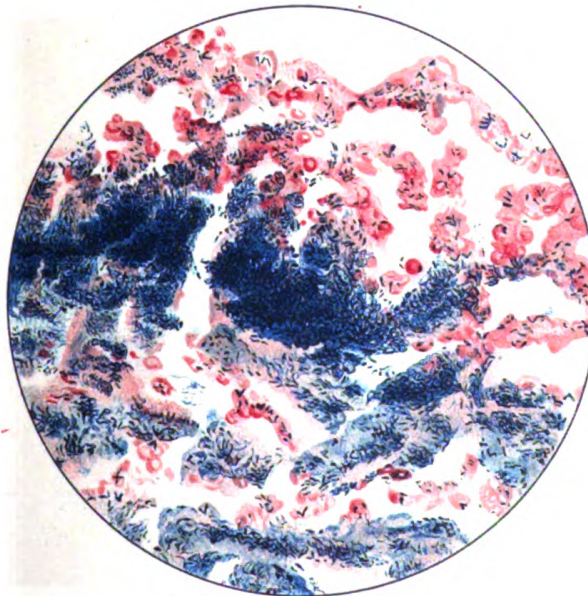
Verlag von **Gustav Fischer** in Jena

P. Weise, Lith., Jena

3



4



Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

- Löffler, *Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt*, Bd. 2, 1884.
Meyer, S., *Münch. med. Wochenschr.*, 1919.
Meyer, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1920.
Morax und Elmassian, *Ann. Pasteur*, 1898.
Paltauf, *Münch. med. Wochenschr.*, 1895, p. 109.
Roger und Bayeux, *Compt. rend. Soc. Biol.*, T. 4, 1897.
Roux und Martin, *Ann. Pasteur*, 1894.
Roux und Yersin, *Ann. Pasteur*, 1888.
Schwenkenbecher, *Berliner klin. Wochenschr.*, 1921.
Spronck, *Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat.*, Bd. 1, 1890.
v. Starck, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1921, No. 9. Ver. Ber.
Stecksén, *Arb. a. d. Pathol. Inst. zu Tübingen*, Bd. 3, 1902.
Tangl, *Arb. a. d. Pathol. Inst. zu Tübingen*, Bd. 1, 1891.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I.

Fig. 1. Trachealschleimhaut eines intratracheal infizierten und nach 2 Tagen eingegangenen Kaninchens. Stark entwickelte Pseudomembran.

Fig. 2. Schnitt durch die Trachea eines tracheal infizierten Kaninchens. Gram-Färbung. Uebersichtsbild. (Ok. 1, Obj. 2, Leitz.) Membran, darunter das Epithel fehlend.

Tafel II.

Fig. 3. Desgl., Fibrinfärbung. Ein dichtes Fibrinnetz in der zum Teil abgestoßenen Pseudomembran. (Ok. 1, Obj. 6.)

Fig. 4. Desgl., Gram-Färbung. Massenhaft Diphtheriebazillen, teils einzeln oder in Gruppen, teils in dicken Haufen. (Komp.-Ok. 4, Apochrom. Immers. 2 mm, 1,30.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität von Sassari (Direktor: Prof. Dr. P. Rondoni).]

Polarimetrische Serumuntersuchungen und ihre Beziehungen zur Wassermannschen Reaktion.

Von **P. Rondoni.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. April 1922.)

Im 5. Band des Abderhaldenschen „Handbuches der biochemischen Arbeitsmethoden“ finden wir einen geistvollen Aufsatz (p. 575) von Abderhalden selbst, in dem der Verfasser die Verwendung der optischen (polarimetrischen) Methode bei verschiedenen biologischen Fragestellungen illustriert. Nachdem er die recht zahlreichen Fälle dargestellt hat, in denen die hier in Betracht kommende optische Methode gute Dienste leisten kann, führt er aus: Schon die Feststellung des Drehungsvermögens des Plasmas unter verschiedenartigen Verhältnissen muß zu bestimmten Resultaten führen. Verfasser denkt hier an die verschiedenartigsten Infektionskrankheiten, an Stoffwechselstörungen, speziell an Diabetes usw. Er hebt weiter die Bedeutung der Methode als Pfadfinderin hervor, indem sie den Boden zu exakteren, mit anderen Methoden in Angriff zu nehmenden Fragestellungen geben könnte. Abderhalden selbst hatte bis damals (1912) in dieser Richtung die Pneumonie und den Rotz eingehend studiert. Er hat dann mit Weil das Drehungsvermögen der Sera verschiedener Tierarten (ohne besondere Zusätze) bestimmt und sehr nahestehende Werte der Pferde-, Ochsen-, Schafe-, Schweine- und Menschensera gefunden; kleiner waren die Werte des Meer-schweinchenserums, und noch kleiner die des Hühnerserums. Bei Tuberkulose sei das Drehungsvermögen der Menschensera hoch und verschiedenartig, ebenso bei Pferden mit perniziöser Anämie. Das Neugeborenen Serum habe niedrigere Drehungswerte als das Mutterserum.

Es scheint mir nicht, daß die seitherige Untersuchung der Sera mit dem Polarimeter in dem Maße und mit der Sorg-

falt unternommen worden ist, die den Abderhaldenschen Forderungen entsprechen dürften. Es liegt zwar eine große Reihe von Arbeiten vor, die sich mit den sogenannten Abderhaldenschen Abwehrfermenten im Plasma oder im Serum beschäftigen; dann eine Reihe von Arbeiten, die die autolytischen Vorgänge im Serum nach Zusatz von Adsorbentien studieren und die Bedeutung der Abderhaldenschen Befunde zu beschränken scheinen: darauf werde ich später bei Darlegung anderer, sich noch im Gange befindenden Versuche zurückkommen. Man hat aber meines Erachtens den einfachen Drehungswerten der Sera bei verschiedenen Menschen- und Tierkrankheiten zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt, obwohl diese Werte so schnell und bequem abzulesen sind, wenn man einen guten Apparat und die nötige Uebung besitzt.

Im folgenden möchte ich eine kurze Reihe von Befunden mitteilen, die ich bei menschlichen Seris mit Berücksichtigung der Reaktionsfähigkeit bei der Wassermannschen Syphilisreaktion erhoben habe. Es ist mir nicht gelungen, bei der sorgfältigen Durchsicht der neuesten umfangreichen Literatur über die WaR. genaue Angaben über polarimetrische Werte der W.-positiven und W.-negativen Sera zu finden; ich schließe aber nicht aus, daß solche doch existieren und mir angesichts der heutigen Fülle der wissenschaftlichen Weltproduktion und bei der Verteilung derselben auf so viele Zeitschriften entgangen sind; in diesem Falle wären die folgenden Angaben als Kontrolluntersuchungen zu betrachten.

Die Sera wurden mir in dankenswerter Weise von den hiesigen dermatologischen und medizinischen Kliniken und von der hiesigen Irrenanstalt geliefert. Ihre Anzahl (30) ist nicht hoch; syphilitische Sera (unbehandelte Fälle) sind hier nicht leicht zu erhalten.

Sämtliche Sera wurden möglichst frisch und in aktivem Zustande verwendet; sie wurden stets mit physiologischer Kochsalzlösung 1:3 verdünnt, um eine Abschwächung der natürlichen Serumfarbe zu erzielen und die polarimetrische Bestimmung besser ausführen zu können. Ein großer Polarisationsapparat nach Landolt der Firma Schmidt und Haensch (No. 55 des Kataloges Ia, Juni 1913), der dem hiesigen (zurzeit mir selbst unterstellten) Physiologischen Institute gehört, wurde stets benutzt, nach üblichen Regeln. Die zu beobachtende Serumverdünnung wurde in, nach Abderhalden angefertigten kurzen (20 mm Länge, weniger als 2,5 ccm Inhalt) Röhren mit Wasserumspülungsmantel eingegossen; es wurde für ein Beibehalten der Temperatur von 35–40° während der Ablesungszeit

gesorgt. Ich nahm besondere Rücksicht darauf, daß die Sera ganz klar, ohne Beimengung von Blutkörperchen und hämoglobinfrei wären (eventuell lange Zentrifugierung).

Der ausgezeichnete Apparat, der zur Verfügung stand, erlaubte die genaue Bestimmung des Drehungsvermögens der dreifachen Serumverdünnungen bis zu den Gradhundertsteln; für jedes Serum wurden wenigstens 12—15 rasch nacheinander folgende Ablesungen, und zwar abwechselnd von den beiden Seiten des Halbschattens, gemacht und endgültig der Mittelwert davon genommen. Bei der Berechnung dieser Mittelwerte wurden die Brüche des Gradhundertstels bis 5 oder 10 abgerundet. Es wurde stets $s = 10$ genommen. Im übrigen siehe die den Apparaten beigegebene Gebrauchsanweisung und die Ausführungen von Biehringer im 1. Band des Handb. d. bioch. Arbeitmethoden.

Die nebenstehende Tabelle gibt nun die gefundenen Werte für die 30 Sera (14 sicher W.-positiv, 16 sicher W.-negativ).

Die Drehung ist bei den Seren stets nach links, das sei ein- für allemal bemerkt.

Eine Durchsicht der Tabelle I zeigt, daß die W.-positiven Sera im allgemeinen einen etwas höheren polarimetrischen Wert als die W.-negativen aufweisen; wenn wir nämlich den Mittelwert der 14 W.-positiven Sera berechnen, finden wir $0,340^\circ$ als Ausdruck der linksseitigen Drehung dieser dreifach verdünnten Sera, d. h. das unverdünnte Serum würde durchschnittlich um einen Grad nach links die Polarisationssebene drehen; wenn wir dagegen den Mittelwert aus den 16 W.-negativen Seren berechnen, bekommen wir als durchschnittliches Drehungsvermögen dieser ebenfalls 1:3 verdünnten Sera $0,260^\circ$, d. h. das unverdünnte Serum würde hier weniger als $\frac{1}{5}$ Grad drehen.

Der Unterschied ist sicherlich nicht groß; er ist aber doch bemerkbar, wenn man über einen guten Apparat verfügt und eine gewisse Übung besitzt. Man erkennt also auch mit dieser optischen Methode, daß im syphilitischen Serum strukturelle Abweichungen dem nichtluetischen gegenüber existieren. Die geringe Anzahl der Beobachtungen verkleinert zwar die Bedeutung dieser Feststellung; ich darf aber der Hoffnung Ausdruck geben, daß diese Methode öfters und systematisch in Anwendung gebracht werde, und daß diejenigen, die über eine große Anzahl Sera verfügen, diese Beobachtungen zu kontrollieren und zu erweitern versuchen möchten.

Tabelle I.

Polarimetrische Werte der mit physiologischer Kochsalzlösung dreifach verdünnten Sera, nach Ausfall der WaR. geteilt.

| No. der Sera | Polarimetrische Werte | Klinische Diagnose | Beobachtungen. Verhalten der WaR. |
|--------------|-----------------------|---|--|
| 1 | 0,410° | Lues | WaR. + |
| 2 | 0,320° | Progressive Paralyse | WaR. + |
| 3 | 0,345° | Progressive Paralyse | WaR. + |
| 4 | 0,350° | Lues im II. Stadium | Ganz unbehandelt. WaR. + |
| 5 | 0,290° | Aortitis luetica | WaR. + |
| 6 | 0,335° | Lues | Behandlung kaum angefangen. WaR. + |
| 7 | 0,315° | Lues | WaR. + |
| 8 | 0,325° | Lues cerebri oder progr. Par. | WaR. + |
| 9 | 0,320° | Lues cerebri oder progr. Par. | WaR. + |
| 10 | 0,320° | Aortitis luetica | WaR. + |
| 11 | 0,400° | ?? | WaR. + Serum etwas hämoglobin-gefärbt |
| 12 | 0,340° | Lues | WaR. + |
| 13 | 0,310° | Lues | WaR. + |
| 14 | 0,370° | Lues | WaR. + |
| 15 | 0,270° | Typhus abdom. | WaR. — |
| 16 | 0,220° | Atherosclerosis | WaR. — |
| 17 | 0,310° | Ulcus duodeni | WaR. — |
| 18 | 0,260° | Typhus abdom. | WaR. — |
| 19 | 0,280° | Malaria | WaR. — |
| 20 | 0,260° | Poliarthritis rheumatica | WaR. — |
| 21 | 0,275° | Poliarthritis rheumatica | WaR. — |
| 22 | 0,270° | Sklerose der Seitenstränge (?) | WaR. — |
| 23 | 0,255° | Neuritis optica (unklare Aetiologie) | WaR. — |
| 24 | 0,270° | Hysterie | WaR. — |
| 25 | 0,225° | Gastropathisch (?) | WaR. — |
| 26 | 0,225° | Gastropathisch: Verdacht auf Magenkrebs | WaR. — |
| 27 | 0,330° | Leberechinococcus | WaR. — |
| 28 | 0,250° | Lebercirrhose | WaR. — |
| 29 | 0,280° | Normal | WaR. — |
| 30 | 0,250° | Melitensisinfektion | WaR. — |

Ich möchte hier nicht auf die Ursache dieser Erscheinung, d. h. des höheren Drehungsvermögens der W.-positiven Sera eingehen; im Serum sind verschiedene Stoffe, die eine optische Aktivität besitzen, und ein großer Teil der gesamten Serumwirkung gegenüber dem polarisierten Lichte ist sicherlich auf das Serumweiß zu beziehen. Die Eiweißkörper drehen in wässriger Lösung das polarisierte Licht nach links; nur das Hämoglobin und die Nukleoproteide sind rechtsdrehend. Von

den Serumproteinen hat Serumalbumin $[\alpha]_D = -61^\circ$ oder nach anderen Bestimmungen $[\alpha]_D = -47,47^\circ$ (Angaben bei Samuely in Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Bd. 1, 1909); Serumglobulin hat $[\alpha]_D = -47,8^\circ$. Verschiedene Abbauprodukte der Eiweißkörper, bis zu den Aminosäuren, der Zucker und andere Kohlehydrate (Glukuronsäuren), viele Lipide (Cholesterin, Lecithin usw.) haben außerdem eine mehr oder weniger ausgesprochene optische Aktivität; es läßt sich gar nicht vermuten, auf welche Bestandteile die Unterschiede in der optischen Aktivität der verschiedenen Sera sich zurückführen lassen, um so weniger als die Wirkung auf das polarisierte Licht eines jeden Stoffes durch die Beimengungen mit den anderen, durch die Konzentration, durch die Gegenwart von Salzen usw. in ganz unberechenbarer Weise beeinflusst wird.

In den syphilitischen Seren scheint eine quantitative wohl definierte und konstante Veränderung der in Betracht kommenden Stoffe nicht nachgewiesen zu sein; so sind nach den neuesten Untersuchungen von Weißbach die Globuline in toto quantitativ gleich in den syphilitischen und nicht-syphilitischen Seris, obwohl qualitative Veränderungen und Verschiebungen der einzelnen Globulinfractionen (die wohl das Drehungsvermögen beeinflussen könnten) gefunden worden sind. Die Lipide und das Cholesterin sind besonders untersucht worden, weil man dachte (und H. Sachs schließt sich dieser Meinung an), daß eine Veränderung des Lipoidspiegels im Blute einen Teil des Wesens der WaR. darstellen würde. Graetz will neulich kein konstantes Verhalten des Cholesterins gefunden haben; Kundson, Ordway und Ferguson wollen die Cholesterinester zwar vermindert in den syphilitischen Seren, das freie Cholesterin aber unverändert gefunden haben. Mahlo behauptet, daß in den syphilitischen Seren abiuretische Abbauprodukte (also wohl optisch aktive Stoffe) in solcher Menge vorhanden seien, daß die enteiweißten Sera eine positive Ninhydrinreaktion geben; und Much und Schmidt wollen eine positive Wassermannsche Reaktion bei Kaninchen durch Injektion von Lipoidextrakten oder von Aminosäuren hervorgerufen haben. Bachmann, der diese Angaben nachprüfte, schätzt zwar die Bedeutung der Serum-

aminosäuren für die Entstehung der WaR. nicht hoch ein, findet aber selbst einen gewissen Parallelismus zwischen dem Ausfall der Ninhydrinreaktion (im enteiweißten Serum) und dem Ausfall der WaR.

Die schon von Embden und Much angenommene Zunahme von Aminosäuren (oder anderen Proteinabbauprodukten) in den syphilitischen Seris, die noch nicht endgültig widerlegt zu sein scheint, wäre also bei der hier in Frage kommenden physischen (optischen) Veränderung (insofern diese sich bestätigen läßt) zu diskutieren, mit dem Hinweis darauf, daß die Aminosäuren und die anderen eventuell spezifischen Abbauprodukte (auch lipoidalen Ursprungs?) im nativen Serum an den Eiweißteilchen teilweise adsorbiert sein könnten und in den Enteiweißungsvorgängen mit den Eiweißkörpern wohl mitgerissen sein und sich dem chemischen Nachweise entziehen könnten. Schon vor einigen Jahren hat Jacoby auf die labile Kuppelung der Aminosäuren mit den Serumproteinen hingewiesen, und v. Slyke und Meyer haben eine mechanische Adsorptionsbindung oder eine labile chemische Bindung zwischen verschiedenen Organproteinen und Aminosäuren angenommen. Die Eiweißteilchen der syphilitischen Sera, wenn sie mit besonderen Abbauprodukten beladen sind (und auch die neuen Ausführungen von Herzfeld und Klinger scheinen diese physikalisch-chemische Struktur des Blutserums zu bestätigen: Kolloidteilchen, mit Abbauprodukten als Lösungsvermittlern umgeben), könnten wohl andere optische Eigenschaften erwerben.

Ich wollte wenigstens einen Versuch machen, um zu entscheiden, ob die optische Veränderung mehr die Globulinfraction oder die anderen Serumbestandteile betreffe; in dieser Richtung sind die Forschungsmöglichkeiten durch die Notwendigkeit begrenzt, die Sera nicht zu sehr zu verdünnen, um brauchbare polarimetrische Werte zu bekommen; außerdem durch die wohl mögliche Beeinflußbarkeit des Drehungsvermögens durch die hierzu nötigen Zusätze verschiedener Reagentien. Die Fragestellung wäre also folgende: Ist die polarimetrisch wahrnehmbare Veränderung an die Globuline oder an die anderen Eiweißkomponenten bzw. Nichteiweißkomponenten gebunden? Im ersteren Falle hätten wir eine

Bestätigung der qualitativen Globulinveränderung (und die Arbeiten von H. Sachs, Weißbach, Sahlmann, Kapsenberg usw. unter den neuesten heben die Bedeutung dieser Eiweißfraktion bei der WaR. hervor); im zweiten Falle, wenn z. B. die globulinfreien syphilitischen Sera noch die höheren Drehungswerte im Vergleich mit den ebenfalls globulinfreien nichtsyphilitischen Seren zeigten, hätten wir einen Grund, anzunehmen, daß die syphilitischen Sera entweder auch in bezug auf die Albumine oder auf die nicht koagulablen N-haltigen Stoffe oder auch die nicht N-haltigen, optisch aktiven Stoffe von den normalen differieren.

Zu diesem Zwecke wurde (wenn die überreichte Serummenge ausreichte) eine Halbsättigung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ vorgenommen in der Weise, daß die Endverdünnung des Serums 1:3 resultierte. Wenn z. B. 2 ccm Serum zur Verfügung standen, wurde diese Serummenge mit 1 ccm destillierten Wassers gemischt und dann mit 3 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung (es wurde stets bei Zimmertemperatur gearbeitet); man bekam so eine dreifache Verdünnung des Serums; nach mehreren Stunden (20—24) wurde abfiltriert und die klare, globulinfrei gemachte Serumverdünnung im Polarimeter untersucht. Ich kann nicht verhehlen, daß die Genauigkeit des wohl einfachen Verfahrens nicht einwandfrei war; es wurde aber peinlich dafür gesorgt, daß alle darauf untersuchten Sera in derselben Weise, sogar mit demselben Filtrierpapier und mit denselben Trichtern, mit derselben Ammonsulfatlösung usw. behandelt wurden, so daß ein bescheidener Vergleich erlaubt zu sein scheint.

Nebenstehende Tabelle II gibt die gefundenen Werte des Drehungsvermögens der mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bis $\frac{1}{2}$ -Sättigung behandelten 19 Sera wieder.

Die Durchschnittswerte sind bei den W.-positiven Seren ungefähr $0,185^\circ$ Linksdrehung, bei den W.-negativen nur $0,130^\circ$. Man beobachtet, daß kein strenger Parallelismus zwischen Vollwerten (Tabelle I) und Restwerten besteht; mit der größten Zurückhaltung darf ich aber die Befunde in dem Sinne verwerten, daß die W.-positiven Sera vielleicht etwas Besonderes auch nach Abzug der Globuline aufweisen, d. h. etwas, das die polarimetrischen Werte des Rückstandes (in dreifacher Ver-

Tabelle II.

Polarimetrische Werte der Restflüssigkeit nach Ammonsulfatfällung der Globuline. Endverdünnung der Sera 1:3.

| No. der Sera (WaR. +) | Polarimetrische Werte | No. der Sera (WaR. -) | Polarimetrische Werte |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 2 | 0,210° | 20 | 0,105° |
| 3 | 0,210° | 22 | 0,185° |
| 4 | 0,160° | 23 | 0,145° |
| 5 | 0,120° | 24 | 0,175° |
| 6 | 0,220° | 25 | 0,100° |
| 9 | 0,180° | 26 | 0,100° |
| 10 | 0,220° | 28 | 0,140° |
| 12 | 0,180° | 29 | 0,140° |
| 13 | 0,170° | 30 | 0,120° |
| 14 | 0,190° | | |

dünnung und in Gegenwart von Ammonsulfat) im allgemeinen ein wenig höher gestaltet.

Versuche in anderen Richtungen mit den kleinen, zur Verfügung stehenden Serummengen und -anzahl konnten kaum angestellt werden. Bei einigen W.-positiven Seren schien es, als ob eine dreifache Verdünnung mit destilliertem Wasser (nach Entfernung durch Zentrifugierung der teilweise präzipitierten labilsten Globulinfraktionen), längere Zeit bei 37° belassen, eine Veränderung des Drehvermögens aufwies, die auf fermentative (autolytische) Abbauvorgänge hindeuten dürfte, im Gegensatz zur Unveränderlichkeit anderer normaler Sera; das kann aber nur ein Ausdruck der größeren physikalischen Labilität der syphilitischen Sera sein, die autolytischen Abbauvorgängen, wohl im Sinne der geistreichen Ausführungen von H. Sachs (b), die Bahn bricht.

Zusammenfassung.

Es scheint, daß die Wassermann-positiven Sera im allgemeinen einen höheren polarimetrischen Wert als die negativen besitzen, und daß die diesbezügliche Serumqualität, wenigstens teilweise, die Restflüssigkeit der Sera betreffe, die nach $\frac{1}{2}$ -Ammonsulfatsättigung zurückbleibt; daß also etwas, außer den Globulinen, in den Wassermann-positiven Seren abweichende Eigenschaften aufweist.

Literatur.

- Abderhalden und Weil, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 81, H. 3, p. 233.
Bachmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, H. 3.
Graetz, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, 1921, H. 4—5.
Jacoby, Biochem. Zeitschr., Bd. 9, 1908.
Kapsenberg, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, 1921, H. 4—5.
Kundson, Ordway and Ferguson, Proc. of the Soc. f. exper. Biol. and Med., Vol. 18, 1921, No. 8.
Sachs, Jahreskurse f. ärztl. Fortbildung, München, Lehmanns Verlag^g 1921 (Zusammenfassende Uebersicht).
— (b) Kolloid-Zeitschr., Bd. 24, 1919, H. 4.
Sahlmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, H. 2.
v. Slyke and Meyer, Journ. of biol. Chemie, Vol. 16, 1913, No. 2.
Weißbach, Wassermannsche Reaktion, Jena, G. Fischer, 1921.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim) und aus den wissenschaftlichen Laboratorien des Schweiz. Serum- und Impfinstituts in Bern.]

Ueber die Gewebsreaktion und Antitoxinbildung bei Pferden nach intrapulmonalen Injektionen von Diphtherietoxin.

Von Prof. Dr. **Renjiro Kaneko.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. April 1922.)

Einleitung.

Es ist bekannt, daß zur Gewinnung hochwertiger Immunsera neben anderen Faktoren die Applikationsweise des Antigens von wesentlicher Bedeutung ist. Bei sonst gleichen Bedingungen bezüglich der Tierart, des Individuums, der Dosis und Virulenz des Antigens, der Häufigkeit der Injektionen usw. bedingt der Infektionsmodus unter Umständen weitgehende Differenzen in der Produktion der spezifischen Antikörper. So hat sich speziell für die Darstellung eines hochwertigen Diphtherieserums bei Pferden die intramuskuläre und auch die subkutane Injektion des Diphtherietoxins besonders bewährt, weniger die Einverleibung auf intravenösem Wege.

Schon vor längerer Zeit wurde von Blumenthal gerade in diesem Falle auf die Vorzüge der intrapulmonalen Toxininjektion hingewiesen und dieses Verfahren zur raschen Erzielung hochwertiger Diphtheriesera

besonders empfohlen. Wie es scheint, hat man außer in dem Moskauer Institut des Autors sonst von dieser Methode wenig Gebrauch gemacht. Bei Versuchen, die in dem hiesigen Seruminstitut nach dieser Richtung hin vorgenommen worden sind, zeigte sich, daß es in der Tat in einigen Fällen gelang, den Serumtiter rasch in die Höhe zu bringen, auch da, wo andere Arten der Injektion nicht recht befriedigt hatten. Jedenfalls lehrten diese Beobachtungen, daß bisweilen durch die intrapulmonale Einverleibung des Toxins dem Organismus ein kräftiger Impuls zur Antikörperbildung erteilt wird.

Worauf beruht diese Wirkung? Blumenthal schreibt sie der spezifischen Tätigkeit der Orgazellen zu, indem das Toxin in den Lungen mit großen Zellmassen in Berührung gebracht wird, die dadurch zu gesteigerter Leistung, zu vermehrter Giftbindung und damit zur Produktion verhältnismäßig beträchtlicher Antitoxinmengen angeregt werden. Da die Lunge überdies als voluminöses Organ, sowie bei ihrem schwammigen Bau und ihrer festweichen Konsistenz die Fähigkeit besitzt, große Mengen von Toxin aufzunehmen, sind nach Ansicht des Autors die Bedingungen für die Antikörperbildung von vornherein sehr günstig. Nach dieser Auffassung würde also die Lunge selbst als antikörperbildendes Organ in Kraft treten und der Erfolg intrapulmonaler Toxininjektion darauf zurückzuführen sein, daß das Lungengewebe ganz besonders zur Toxinbindung und Antikörperbildung geeignet ist.

Weitere Erfahrungen dürften über dieses Immunisierungsprinzip in der Literatur nicht vorliegen, so daß es von Interesse schien, die Bedingungen der Antikörperbildung bei intrapulmonaler Toxininjektion etwas eingehender zu untersuchen. Ich habe mich dieser Aufgabe auf Anregung von Herrn Prof. Sobernheim gern unterzogen, mußte mich aber in Rücksicht auf die mir zur Verfügung stehende Zeit darauf beschränken, das Material der zur Entblutung gelangenden Pferde zu verarbeiten. Auf weitere Tierexperimente, die vielleicht zur Ergänzung der erhobenen Befunde von Wert gewesen wären, mußte ich einstweilen verzichten.

Der Untersuchungsplan erstreckte sich nach zwei Richtungen. Einmal sollten, ähnlich wie es bereits von Lurje geschehen, durch genaue histologische Untersuchung die Veränderungen festgestellt werden, die sich in der Lunge als Folge der Toxineinspritzungen nachweisen lassen, sodann wurde versucht, die Verteilung des Antitoxins auf die einzelnen Organe und das Blut zu ermitteln, insbesondere den Antitoxingehalt der Lunge im Vergleich zu dem anderer Organe zu bestimmen.

Das Material, über das ich verfügte, stammte von 8 Pferden. In 7 Fällen waren die Tiere mit intrapulmonaler Injektion behandelt, daneben z. T. auch subkutan und intramuskulär gespritzt worden, und 1 Pferd, das als Kontrolle dienen sollte, hatte nur subkutane Injektionen erhalten. Mit Ausnahme eines Pferdes, das sich als schlechter Antitoxinproduzent gezeigt und auf keine Art der Toxineinspritzung mit nennenswerter Antitoxinbildung reagiert hatte („Debitor“), lieferten die intrapulmonal gespritzten Tiere nach relativ kurzer Zeit ein 200–600faches Serum. Das nur subkutan behandelte Pferd wies in seinem Serum einen Antitoxingehalt von 200 AE. auf. Ich gebe diese Daten nur als Beleg für die Charakterisierung des von mir untersuchten Materials, nicht etwa, um die Leistungen der intrapulmonalen, intramuskulären und subkutanen Injektionsweise gegeneinander abzuwägen. Das liegt außerhalb des Rahmens meiner Untersuchungen und ist auch auf Grund meines Materials, das durch äußere Umstände und Zufall in dieser Auswahl zusammengekommen ist, nicht zu entscheiden.

I. Anatomisch-histologische Lungenbefunde.

Die anatomischen Veränderungen der Lungen bei der intrapulmonalen Immunisierung mit Diphtherietoxin äußern sich nach den Untersuchungen, die Lurje bei entbluteten Pferden angestellt hat, je nach dem Alter des Herdes in etwas verschiedener Weise. Bei der Palpation der Lungen sind ziemlich große Infiltrationsherde durchzufühlen. Die jungen Herde sind derb, luftleer, blutreich und zeigen bisweilen im Zentrum einen nekrotischen Herd, wie bei dem gewöhnlichen Infarkt. Bei älteren Herden treten Hämorrhagien und Nekrosen in den Hintergrund, statt dessen vollzieht sich die Organisation und Vernarbung des Infarktes und es entwickelt sich ein ziemlich derbes, blasses Bindegewebe. Mikroskopisch ist in dem frischen Herde eine Nekrose der Alveolarwände zu finden. Die Alveolen sind mit roten Blutkörperchen gefüllt und enthalten auch in geringer Zahl schlecht erhaltene Alveolarepithelien. Die Kapillaren der besser erhaltenen Alveolarsepten sind mit Blut überfüllt, ebenso die Hohlräume der Alveolen. In Herden älteren Ursprunges treten proliferierende

Prozesse in den Vordergrund. Die Alveolarwände sind hochgradig verdickt, die Lungenlumina verengt, ein zellreiches fibröses Gewebe tritt allmählich an die Stelle der Zwischenwände. Dieses Bindegewebe kann in manchen Herden die Struktur der Lunge vollkommen auslöschen, der Herd besteht dann nur noch aus Bindegewebe. In solchen alten Herden kann man nach Lurje recht oft eine Anhäufung von eosinophilen Zellen beobachten, wenn auch nicht regelmäßig.

Weitere Experimente, die Lurje dann noch an Hunden zur Klärung des Zusammenhangs und zwecks Studiums der frischen Veränderungen der Lunge nach Injektion von Diphtherietoxin angestellt hat, führten ihn zu Ergebnissen, welche die früheren Angaben von Homén über die verschiedene Wirkung großer Dosen unverdünnten und kleiner Dosen verdünnten Toxins bestätigten. Er kommt zu dem Schlusse, daß das Diphtherietoxin in großen Dosen und konzentriert auf das Gewebe als ein starkes Zellgift wirkt, sowie Nekrose und Blutung hervorruft. Demgegenüber verursacht es in kleinen Dosen oder in verdünntem Zustande entzündliche Erscheinungen (positive Chemotaxis) und eine lebhafte Proliferation der Zellelemente, die bald unter regressiven Veränderungen zur Vernarbung führt.

Mein eigenes Material, das ich für die histologische Untersuchung der Lungen verwendete, umfaßt 6 Fälle. Mit Ausnahme eines Falles, von dem mir das bereits eingebettete Material zur Verfügung gestellt wurde, habe ich selbst die frischen Organe gehärtet und eingebettet. Die Färbung der Schnitte wurde mit verschiedenen Methoden¹⁾ vorgenommen.

Die äußere Betrachtung der Organe ergab zunächst folgendes:

Die mit dem Toxin behandelte Lunge ist bedeutend voluminöser und schwerer als die andere. In der folgenden Tabelle (I) sind die Gewichte der beiden Lungen von 5 Fällen angegeben, wobei stets die rechte Lunge der behandelten Seite entspricht. Zur Kontrolle ist das Gewicht der Lungen des nur subkutan behandelten Pferdes („Droge“) mitangeführt. Wie man sieht, ist der Gewichtsunterschied sehr bedeutend und beträgt

1) Es wurden angewendet: 1) Hämatoxylin-Eosin-Färbung, 2) Weigertsche Fibrinfärbung, 3) van Giesonsche Färbung, 4) Unnasche polychrome Methylenblaumethode (für Plasmazellen).

400—1100 g zugunsten der gespritzten Lunge, wogegen bei dem Pferde, das nur subkutane Toxininjektionen erhalten hatte, die rechte Lunge zwar auch etwas schwerer war als die linke, aber nur unerheblich (62 g).

Das Brustfell zeigte sich stets stark verdickt, entsprechend der Injektionsstelle, oft fanden sich hier derbe, schwierige Verwachsungen. Die Konsistenz der Lunge hat im allgemeinen zugenommen und man fühlt meist in der Tiefe des Parenchyms an verschiedenen Stellen eine stärkere Resistenz. Die Schnittfläche zeigt an den betreffenden Stellen einen Herd der Gewebsverdichtung. Das Parenchym ist hier ziemlich hyperämisch, luftarm und derb anzufühlen. Oft sieht man viele diffuse oder relativ umschriebene, frische oder veraltete Blutungen. Von der verdickten Pleura strahlen viele grob-fibröse Züge in das Lungenparenchym hinein. Zirkumskripte nekrotische Herde, wie die gewöhnlichen Infarkte, waren nie zu konstatieren.

Tabelle I.
Gewicht der Lungen.

| Pferd | Rechte Lunge Gew. in g | Linke Lunge Gew. in g |
|----------|---------------------------|--------------------------|
| Debitor | 3610 | 2525 |
| Davos | 2915 | 2519 |
| Dolch | 2326 | 1847 |
| Diesbach | 2460 | 1980 |
| Dialyso | 2733 | 2213 |
| Droge | 2130 | 2068 |

Die mikroskopische Untersuchung ergab in allen meinen Fällen nur entzündlich-proliferierende Veränderungen. Das Bild war im großen und ganzen immer das gleiche:

Die subpleurale Schicht ist ganz atelektatisch, die normalen Alveolenfiguren sind ganz verschwunden. Man sieht dort eine große Menge von Bindegewebeelementen nebst den zum Teil gewucherten Alveolar- bzw. Bronchialepithelien und große Mengen von roten und weißen Blutzellen. Unter den letzteren bemerkt man häufig eine bedeutende Menge von Plasmazellen und eine Anhäufung der eosinophilen Leukozyten. Unter den anderen Leukozytenformen sind hauptsächlich die mononukleären, und zwar Lymphozyten vertreten. Polynukleäre Leukozyten sind sehr spärlich. Das interlobuläre Gewebe ist stark gewuchert und bildet mächtige Stränge, wie das Balkengewebe der Milz, indem es sich mit dem fibrös verdickten Pleuragewebe verbindet. Die so hochgradig veränderten Herde sind nicht umfangreich. Sie finden sich im Bereich der Toxininjektion, doch sind zwischen solchen Herden auch viele normal erscheinende Alveolensysteme, die Alveolen- und Arterienwände sind aber hier mehr oder weniger verdickt. Hier und da existieren große Ansammlungen von Leukozyten um die Arterien und Bronchien im gewucherten Bindegewebe zwischen den Läppchen. Die Bronchien und die Alveolen enthalten hier auch abge-

stoßene Epithelien, sowie rote und weiße Blutzellen in großer Menge. Die ganz fibröse umgewandelten Partien bestehen aus zellarmem, mit neugebildeten Blutgefäßen versehenem Bindegewebe. Doch sieht man darin ab und zu Anhäufungen von Leukozyten und Reste der Bronchialelemente. Diese Partie geht allmählich in das verdickte Gewebe der Pleura oder in dessen Fortsetzung über.

Kurz gefaßt, man konstatiert hauptsächlich eine etwas abgelaufene, zum Teil vernarbende proliferierende Entzündung mit Blutungen, die oft ziemlich stark sind. Akute und degenerative Veränderungen, wie Nekrose, konnte ich nicht feststellen. Natürlich finden sich in den Herden immer einige Zellen in nekrotischem Zustande, aber ausgedehntere Nekrosen waren nicht vorhanden. Die spezifische Fibrinfärbung ist durchweg negativ ausgefallen. Wenn Lurje nicht nur bei Hunden, sondern auch bei Pferden nach intrapulmonaler Toxininjektion starke Blutungen und Nekrosen als erste Reaktion des Gewebes gegen Diphtherietoxin gefunden hat, so lagen bei ihm doch andere Versuchsbedingungen vor. Er hat gerade die frischen Veränderungen studiert, die sich im Anschluß an die Injektion entwickelten, wogegen ich bei der Entblutung der Pferde, ca. 14 Tage nach der letzten Einspritzung, fast nur ältere Prozesse zu sehen bekam. Es sind also in meinen Fällen die Reaktionen des Gewebes erst in einem vorgeschritteneren Stadium untersucht worden, wobei sich vorwiegend die entzündlichen proliferierenden Veränderungen fanden, wie sie Lurje primär bei der Injektion kleiner Toxinmengen oder verdünnten Toxins beobachtet hat. Da die von mir untersuchten Serumpferde sämtlich mit größeren Mengen unverdünnten Toxins gespritzt worden waren, ist es wohl wahrscheinlich, daß auch hier zunächst eine nekrotisierende Wirkung eingetreten ist, die aber bei der Entblutung der Pferde bereits überwunden war, und daß die proliferierende Entzündung und Bindegewebswucherung dem späteren Stadium eines Vernarbungsprozesses entsprachen. Für die älteren Injektionsherde, deren Entstehung viele Wochen zurücklag, ist dies ohne weiteres klar, aber auch für die letzten Einspritzungen ist eine solche Annahme wohl zulässig. Es könnte überdies auch sein, daß das von Lurje benutzte Diphtheriegift besonders starke nekrotisierende Eigen-

schaften besessen hat, was ja der eigentlichen Toxinwirkung nicht parallel zu gehen braucht. Das hier verwendete Toxin verfügte jedenfalls über ausreichende Stärke; die † 4. Dosis für Meerschweinchen von 250 g lag zwischen 0,005 und 0,01 ccm.

II. Bestimmung des Antitoxingehalts im arteriellen und venösen Blut und in den Organen.

Es sind bereits viele Untersuchungen angestellt worden über den Antikörpergehalt der Organe bei künstlich immunisierten Tieren. Dies geschah einerseits zur Erforschung der Bildungsstätte der Antikörper, andererseits zwecks serotherapeutischer Verwendung von Organextrakten.

So haben bekanntlich Pfeiffer und Marx (Bakteriolyisin, Agglutinin), Achard und Bensaude (Agglutinin), Courmont (Agglutinin), Arloing (Agglutinin), Widal und Sicard (Agglutinin), Fodor und Rigler (Agglutinin), v. Emden (Agglutinin), Castellani (Agglutinin, Bakteriolyisin), Deutsch (Bakteriolyisin, Agglutinin), Jatta (Agglutinin), Wassermann (Bakteriolyisin), Sick (Agglutinin), Kraus und Schiffmann (Präzipitin, Agglutinin), Cantacuzène (Präzipitin), Weil und Braun (Bakteriolyisin, Agglutinin, Präzipitin) u. a. die inneren Organe nach der erstgenannten Richtung, also hinsichtlich ihrer Beteiligung an der Erzeugung der spezifischen Antikörper untersucht. Heim, Mallannah, Emmerich, Jez u. a. erstrebten die Gewinnung hochwertigen Organ-saftes und untersuchten aus diesem Grunde ebenfalls den Antikörpergehalt der Organextrakte, ohne aber auf den Antitoxingehalt des einzelnen Organes näher einzugehen. Alle diese Forscher beschäftigten sich zumeist mit den bakteriolytischen, agglutinierenden oder präzipitierenden Substanzen, aber nicht mit den Antitoxinen. Wenigstens konnte ich in der Literatur keine Untersuchungen über den Antitoxingehalt der Organe bei immunisierten Tieren, speziell Pferden finden. Deshalb war es von Interesse, diese Verhältnisse gerade auch nach der intrapulmonalen Injektion des Antigens zu studieren.

Untersuchungsmethode.

Was die Herstellung des Organextraktes angeht, so bereiteten Pfeiffer und Marx, sowie viele der oben genannten Forscher ihre Extrakte auf einfache Weise. Sie nahmen entbluteten Tieren die Organe heraus, wogen sie ab und setzten, nach der Verreibung mit sterilem Sand im Mörser, eine bestimmte Menge von Flüssigkeit (Bouillon oder isotonische Kochsalzlösung) hinzu; dann wurde nach dem Stehenlassen

während einer gewissen Zeit zentrifugiert oder filtriert. Hierbei blieb also der Wasser- bzw. Blutgehalt der Organe absichtlich unberücksichtigt, und aus dem Vergleiche des Antikörpergehalts der verschiedenen Organe mit dem des Bluteserums in den verschiedenen Stadien der Immunisierung wurden Schlüsse abgeleitet. Andere Methoden suchten den Blutgehalt der Organe auszuschneiden oder auf besondere Weise vorzugehen, so die gründliche Ausspülung des Organismus durch die Blutgefäße (Weil und Braun, Sick), die Trocknung der Organstückchen (Mallannah, Heim, Weil und Braun), die Fermentierung mit Verdauungsfermenten (Jez, Heim) und andere Manipulationen, z. B. Pressung bei hohem Druck usw. Ich habe nun folgendes Verfahren angewandt, um so gut wie irgendsmöglich die Organe von den Blutbestandteilen zu befreien, also den reinen Antitoxingehalt der Gewebe zu gewinnen, ohne aber das Antitoxin in den Organen zu schädigen oder Verluste zu erleiden.

Die Organe — die beiden Lungen, die Milz, die Leber, die Nieren und die Nebennieren — werden aus den entbluteten Tieren in toto herausgenommen und mit einer kohlenhaltigen (0,5-proz.) lauwarmen physiologischen Kochsalzlösung durch die Blutgefäße gründlich ausgewaschen. Dies erschien uns sehr wichtig, um die Blutbestandteile aus den Organen zu entfernen und die Antitoxinmenge, die in den Organzellen enthalten ist, eben für sich allein festzustellen. Um eine Auslaugung des Gewebsantitoxins zu vermeiden, wurde sorgfältig darauf geachtet, daß die Organe nicht angeschnitten waren und die Ausspülung lediglich durch das Blutgefäßsystem erfolgte. Dies bereitete freilich Schwierigkeiten, wie auch schon von Sick, Weil und Braun hervorgehoben worden ist. Am besten ließ sich die Niere durchspülen, und hier gelang es meist gut, den größten Teil des Blutes zu beseitigen. Weniger gut waren die Resultate bei den Lungen, obwohl auch dieses Organ sich noch leidlich vom Blut befreien ließ, und bei Leber, Milz, sowie namentlich Nebennieren war eine Entblutung nur ungleichmäßig und unvollkommen zu erzielen. Immerhin konnte auch aus diesen Organen ein größerer Teil des Blutes entfernt und damit der Fehler, der

durch den Antitoxingehalt des Blutes bedingt ist, bei der Bestimmung des Gewebsantitoxins doch erheblich eingeschränkt werden. Wir nahmen im übrigen diese Ungenauigkeit mit in den Kauf, da, wie sich zeigte, hierdurch der Gesamtbefund im Prinzip nicht weiter beeinflußt werden konnte.

Von jedem der so gewaschenen Organe wird dann ein Stück von 10 g herausgeschnitten; von der rechten Lunge stets eine Partie aus dem Injektionsbezirk. Das Stück wird mit sterilem Quarzsand im Mörser gründlich verrieben, alsdann mit 100 ccm karbolisierter (0,5-proz.) steriler physiologischer Kochsalzlösung versetzt und nun nochmals gut verrieben. Wir erhalten so also eine 10-proz. Organemulsion. Nach ein- oder zweitägigem Schütteln mittels Schüttelapparates wird die Emulsion durch Filtrierpapier filtriert und ist nun zur Untersuchung bereit. Um dem verschiedenen Flüssigkeitsgehalt der einzelnen Organe bei der Antitoxinbestimmung Rechnung zu tragen, wurde außerdem noch in jedem Falle ein Organstück bis zur Konstanz getrocknet und die Trockensubstanz festgestellt. Zur Kontrolle wurde endlich auch stets eine Bestimmung des Antitoxins im Blut vorgenommen, und zwar erfolgte die Untersuchung getrennt für arterielles und venöses Blut.

Als Methode der Antitoxinmessung habe ich die intrakutane Injektion von Toxin- und Antitoxinmischungen nach R ö m e r angewendet. Die Testdosis des Toxins war durch eine Reihe von Vorversuchen mittels eines Standard-Antitoxins ermittelt worden. Das Toxin wurde nun in der erforderlichen Verdünnung mit der gleichen Menge (je 0,5 ccm) Serum oder Organextrakt, und zwar in verschiedenen Konzentrationen, gemischt und 30 oder 60 Minuten bei Bruttemperatur gelassen. Dann wird 0,1 ccm der Mischung an der Seite der Bauchgegend einem Meerschweinchen intrakutan injiziert, nachdem das Tier 24 Stunden vor der Injektion mit U n n a s c h e m Depilatorium an der Bauchseite gründlich, aber vorsichtig enthaart worden ist. Die Reaktion (Rötung, Schwellung, Infiltration, Papel- und Krustenbildung) wird nach 1, 2, 3 und 4 Tagen kontrolliert. Ich habe eine nach 3 oder 4 Tagen noch eben bemerkbare leichte Krustenbildung als Maßstab der Neutralisierung gewählt.

Untersuchungsergebnisse.

In Tabelle II sind die ermittelten Antitoxinwerte zusammengestellt. Die Angabe in A.E. bezieht sich auf 1 ccm Serum oder 1 g Organ, die Zahl in Klammern gibt die Antitoxinmenge in 1 g Trockensubstanz an, wobei für das Serum diese letztere nicht besonders bestimmt, sondern rund mit 10 Proz. angenommen worden ist. Für die Organe wurde, wie bereits erwähnt, in jedem Fall die Trockensubstanz genau ermittelt¹⁾. Wenn auch schon die für das Serum und die frischen Organe gewonnenen Werte ein deutliches Bild von der Antitoxinverteilung geben, so sind die Zahlen für die Trockensubstanz natürlich die genaueren. Freilich sind auch hierin mehr oder minder erhebliche Ungenauigkeiten enthalten, weil eben eine vollständige Entblutung der Organe nicht immer zu erreichen war.

Die Pferde sind mit Ausnahme des zur Kontrolle herangezogenen „Droge“ durchweg mit regelmäßigen intrapulmonalen Injektionen behandelt worden und haben daneben einzelne intramuskuläre Einspritzungen erhalten. Zum Teil war eine Periode mit subkutaner Toxineinverleibung vorausgegangen.

Was bei Betrachtung der Tabelle in erster Linie in die Augen fällt, ist der wesentlich höhere Antitoxin Gehalt, den das Blut im Vergleich mit den verschiedenen Organen aufweist. Die Werte, die für die Organsubstanz ermittelt worden sind, erscheinen im allgemeinen nahezu verschwindend gegenüber dem antitoxischen Serum titer.

Weiterhin bemerkt man sodann, daß das venöse Blutserum durchweg viel reicher an Antitoxin ist, als das arterielle Serum. Wenn ich auch den Fall von „Droge“, bei dem nur subkutane Injektionen angewandt worden waren, in dieser Hinsicht leider nicht zum Vergleich benutzen konnte, da arterielles und venöses Blut in gemischtem Zustande aufgefangen worden waren, so ist doch der Befund sehr be-

1) Herrn Dr. Eckmann, der diese Bestimmungen ausgeführt hat, möchte ich auch hier für seine Freundlichkeit meinen besten Dank aussprechen.

Tabelle II.

Antitoxingehalt des Blutes und der Organe.
Bestimmung im Serum und in den Organextrakten, sowie Berechnung
auf die Trockensubstanz.

| Pferdenamen | Debitor | Davos | Dolch | Dies- bach | Dialyso | Diastol | Droge |
|--|---|----------------------|----------------------|----------------------|---|----------------------|--------------------------------|
| Applikations- weise des Antigens | zuerst subkutan, dann intra- pulmonal; einige Injektionen intramuskulär | | | | intrapulmo- nal; daneben 2 Injektionen intramuskulär | | nur sub- kutan injiziert |
| Art. Serum | AE. 65 (650) | AE. 450 (4500) | AE. 200 (2000) | AE. 200 (2000) | AE. 350 (3500) | AE. 350 (3500) | } 200 (2000) |
| Ven. Serum | 80 (800) | 600 (6000) | 400 (4000) | 300 (3000) | 450 (4500) | 500 (5000) | |
| R. Lunge | 10,0 (60,4) | 12,5 (109,7) | 30,0 (275,2) | 17,5 (157,0) | 60,0 (320,3) | — | 15,0 (78,2) |
| L. Lunge | 10,0 (60,4) | 7,5 (65,8) | 2,5 (22,9) | 12,5 (112,1) | 7,5 (63,0) | — | 15,0 (78,2) |
| Milz | 2,5—5,0 (19,5—39,0) | 15,0 (86,0) | 2,0 (14,1) | 7,5 (51,2) | 5,0 (34,7) | — | 17,5 (96,1) |
| Niere | 2,5—5,0 (14,9—29,9) | 5,0 (33,6) | 5,0 (32,1) | 5,0 (33,6) | 2,5 (20,3) | — | 15,0 (92,8) |
| Nebenniere | 7,5—10,0*) (21,5—23,7) | 20,0 (96,2) | 15,0 (72,1) | 20,0 (96,2) | — | — | 30,0*) (83,7) |
| Leber | 5,0 (14,2) | 10,0 (52,1) | 0,5 (2,3) | 2,5 (13,0) | 7,5 (38,9) | — | 10,0 (28,4) |

*) Nicht gewaschen.

merkwürdig. Ich werde später noch darauf zu sprechen kommen. Die sonst vorliegenden, auch speziell in dem hiesigen Institut gemachten Erfahrungen lehren jedenfalls, daß der Unterschied im Antitoxingehalt des venösen und arteriellen Blutes bei anderen Formen der Toxineinverleibung (subkutan, intravenös, intramuskulär) nicht beobachtet wird, also offenbar mit der intrapulmonalen Verimpfung des Antigens zusammenhängt. Ein Versuch, der bei dieser Gelegenheit von anderer Seite¹⁾ unternommen worden ist, hat denn auch bestätigt, daß arterielles und venöses Blut bei hochimmunisierten Tieren sonst in ihrem Antitoxingehalt ziemlich

1) Ich bin Herrn Dr. Krumbein, techn. Direktor des Serum-instituts, für die Ueberlassung dieses Materials, das eine Lücke in meinen Versuchen ausfüllt, zu besonderem Dank verpflichtet.

genau übereinstimmen: ein nur intramuskulär behandeltes Pferd lieferte für venöses und arterielles Blut gleiche Antitoxinwerte.

Was den Antitoxinwert der Organe angeht, so sind die Befunde etwas ungleichmäßig, gestatten aber doch ein gewisses Urteil. Die Schwankungen hängen offenbar wesentlich von dem Waschungsgrade der Organe ab. Wie bereits erwähnt, ist eine vollständige Ausspülung des Blutes aus den Organen sehr schwer und kaum möglich, die Auswaschung daher nicht immer nach Wunsch gelungen. In vereinzelt Ausnahmefällen mußte sogar aus äußeren Gründen überhaupt auf eine Durchspülung verzichtet werden. Außerdem habe ich zum Vergleich mehrfach den Antitoxingehalt des gewaschenen und des ungewaschenen Organs nebeneinander bestimmt. Folgende Tabelle (III) zeigt, wie groß der Einfluß der Blutbeimischung auf den Antitoxingehalt der Organe ist.

Tabelle III.

Antitoxingehalt der gewaschenen und nicht gewaschenen Organe.

| Pferdenamen | Davos | | Dolch | | Diesbach | | Droge | |
|-------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|
| | nicht ge- waschen | ge- waschen | nicht ge- waschen | ge- waschen | nicht ge- waschen | ge- waschen | nicht ge- waschen | ge- waschen |
| R. Lunge | 80,0 | 12,5 | 40,0 | 30,0 | 50,0 | 17,5 | — | — |
| L. Lunge | 60,0 | 7,5 | 40,0 | 2,5 | 40,0 | 12,5 | — | — |
| Milz | 40,0 | 15,0 | 12,5 | 2,0 | 15,0 | 7,5 | — | — |
| Niere | 40,0 | 5,0 | 20,0 | 5,0 | — | — | 50,0 | 15,0 |
| Leber | 30,0 | 10,0 | 10,0 | 0,5 | 17,5 | 2,5 | — | — |

Es ist daraus leicht ersichtlich, daß der größte Teil des Organantitoxins dem Blutgehalte zuzuschreiben ist und daß daher auch für die ausgewaschenen Organe immer der Waschungsgrad berücksichtigt werden muß. Im Falle „Dolch“ z. B., bei dem eine sehr gründliche Auswaschung gelungen war, haben die Organantitoxine hochgradig abgenommen, mit Ausnahme der injizierten rechten Lunge, wo starke diffuse Blutungen im Parenchym durch die Ausspülung nur unvollkommen beseitigt werden konnten. Man gewinnt fast den Eindruck, als sei das Antitoxin, daß sich in den Organen nachweisen läßt, dem Rest von Blutbestandteilen zuzuschreiben, der trotz sorgfältiger Durchspülung der Blut-

gefäße doch immer noch in den Organen haften bleibt. Ist es also vielleicht möglich, wie z. B. Weil und Braun angenommen haben, daß die Organe der künstlich immunisierten Tiere selbst überhaupt keine nachweisbaren wirksamen wasserlöslichen Antikörper in den eigenen Zellen enthalten und daß man in den Organen immer nur das Blutantitoxin bestimmt? Oder enthält das Gewebe doch auch Antitoxin? Diese Frage ist nach meinen Untersuchungsergebnissen schwer zu beantworten. Nach Pfeiffer und Marx, Wassermann, Jatta, v. Emden, Deutsch, Cantacuzène u. a. weisen die hämatopoëtischen Organe, besonders die Milz, in irgendeiner Phase der künstlichen Immunisierung eine viel größere Menge von Antikörpern auf als das Blut. Hiernach würde also das Gewebe selbst mehr oder weniger wirksame Antikörper enthalten. Hingegen gibt es aber auch viele Forscher, wie Achard und Bensaude, Castellani, Courmont, Fodor und Rigler, Arloing, Sick u. a., welche immer einen größeren Reichtum von Blutantikörpern im Vergleich mit den Organantikörpern angeben. Das Mengenverhältnis zwischen den Antikörpern in den Organen und im Blute ist offenbar je nach dem Stadium der Immunisierung und je nach der Art des Antikörpers verschieden. So z. B. scheinen nach vielen Forschern die bakteriolytischen Substanzen im Frühstadium der Immunisierung in der Milz reichhaltiger zu sein als in dem Blute. Dagegen sind in dieser Beziehung die positiven Befunde bei den agglutinierenden und anderen spezifischen Substanzen wenig zahlreich. Bei dem Diphtherieantitoxin ist das Verhältnis noch ganz unklar. Zur Lösung dieser Frage wäre es nötig, die Organe und das Blut in den verschiedenen Stadien, besonders im Frühstadium der Immunisierung, zu untersuchen. Wollte man folgern, daß irgendein Organ wirklich das Antitoxin in den eigenen Zellen enthält, so müßte man entweder beweisen, daß die untersuchten Organe von Blut und Blutbestandteilen absolut befreit sind, oder daß der Antikörpergehalt der Organe größer ist als der des Blutes. In meinen Fällen fehlten mir die beiden Beweise, so daß ich diese Frage offen lassen muß.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang höchstens die Tatsache, daß der Antikörpergehalt der Organe, wie ich

ihn bei den einzelnen Pferden ermittelt habe, keinen deutlichen Zusammenhang mit dem Antitoxinwert des Serums erkennen ließ. So ist z. B. im Falle „Davos“ der Antitoxingehalt des Serums siebenfach größer als der des Serums von „Debitor“, ohne daß der Antitoxingehalt der Organe hierzu in dem entsprechenden Verhältnis stände. Auch für andere Beispiele läßt sich das gleiche zeigen. Das kann immerhin wohl als Beweis dafür gelten, daß der Antitoxingehalt der Organe nicht allein vom Blute und den Blutbestandteilen bestimmt wird, die trotz der Auswaschung im Gewebe zurückgeblieben sind, sondern innerhalb gewisser Grenzen unabhängig ist von dem antitoxischen Titer des Serums.

Mit der Frage des Antikörpergehalts der Organe ist die Frage nach der Bildungsstätte der Antikörper eng verknüpft. Wie bereits gesagt, haben Pfeiffer und Marx, Wassermann, Castellani, Deutsch u. a. den hämatopoëtischen Organen als Bildungsstätte der schützenden Substanzen (Bakteriolysine) große Bedeutung beigemessen, indem sie gerade im Anfangsstadium der Immunisierung in diesen Organen einen größeren Antikörpergehalt als im Blute nachweisen konnten. Sie fanden also diese Anhäufung des Antikörpers in den Organen nur in einem bestimmten, vorübergehenden Zeitraum, und nahmen an, daß, wenn bei fortschreitender Immunisierung der Antikörpergehalt der Organe wieder geringer wird als der des Blutes, dies deshalb geschieht, weil der von den Organen sezernierte Antikörper sofort in das Blut übergeht. Nach Wassermann und Citron scheint es möglich zu sein, daß bei entsprechendem Infektionsmodus auch die Endothelzellen des Brust- und Bauchfells den schützenden Antikörper produzieren, die Antikörperbildung also lokal an der Injektionsstelle erfolgt, obwohl Paetsch, Hektoen u. a. dem widersprechen. Ueber die Bildung der Agglutinine gehen die Meinungen der Forscher sehr weit auseinander. So behaupten v. Emden, Jatta u. a. in Uebereinstimmung mit den Untersuchungen von Pfeiffer und Marx, daß die Milz ein wichtiges Organ auch für die Agglutininbildung sei, viele andere Forscher hingegen, wie Rath, Castellani, Arloing, Fodor und Rigler, Deutsch, Sick, Courmont, Achard und Bensaude u. a. sind bei der Untersuchung der Organe und des Blutes gerade zum entgegengesetzten Resultate gelangt. Ueber die Entstehung anderer Arten von Antikörpern sind die Meinungen ebenfalls verschieden. Nach Cantacuzène spielt die Milz in der Entstehung der Präzipitine eine große Rolle; v. Dungern fand lokale Präzipitinbildung in der vorderen Augenkammer des Kaninchens nach Injektion von Majaserum; Römer meinte, daß Antiabrin lokal in der vorderen Augenkammer und nach der Resorption in Milz und Knochenmark gebildet werden kann. Die Leukozyten wurden für die verschiedenen Antikörper außer von Metschnikoff

und seinen Schülern auch von Gruber (Agglutinin), Kraus und Levaditi (Präzipitin), Jakuschewitsch (Hämolyse), Achard und Bensaude (Agglutinin) a. u. als die Quelle und Bildungsstätte angesehen. Auch die Läsionsstelle (Arloing, Agglutinin), das Blut selbst (Courmont, Agglutinin), das große Netz (Müller, Hämolyse), das vaskuläre System (Kraus und Schiffmann, Agglutinin und Präzipitin) u. v. a. wurden mit der Bildung des Antikörpers in Verbindung gebracht. Aus den Versuchen von Friedberger und Girgolaff mit transplantierten Organen vorbehandelter Tiere scheint hervorzugehen, daß die antikörperbildende Fähigkeit (Agglutination, Anaphylaxie) so gut wie allen Organen, am stärksten allerdings der Milz zukommt. Nach einer neuerdings von Sahli aufgestellten Theorie beteiligen sich sämtliche Zellen des Organismus, die das Blut „sezernieren“, damit auch an der Antikörperbildung.

Was nun das Diphtherietoxin im besonderen anlangt, so konnte ich, wie wir sahen, eine viel größere Menge von Antitoxin im Blute als in den Organen nachweisen. Namentlich ist der Antitoxingehalt der Milz bedeutend geringer als der des Blutes und sogar öfters geringer als der der anderen Organe. Höchstens im Falle „Davos“ war er etwas größer. Wenn die Milz wirklich eine Hauptbildungsstätte des Antitoxins wäre, so müßte man meiner Ansicht nach in diesem Organ doch eine größere Antitoxinmenge erwarten, selbst auf der Höhe der Immunisierung, wo der Titer des Blutantitoxins infolge oft wiederholter Injektionen fortwährend steigt und ein so blitzschneller Uebergang des Antitoxins der Milz in das Blut kaum denkbar ist. Inwieweit sich etwa im Anfangsstadium der künstlichen Immunisierung die Verhältnisse anders darstellen, kann ich an der Hand des von mir bearbeiteten Untersuchungsmaterials leider nicht entscheiden. Bei hochimmunisierten Tieren aber läßt sich aus meinen Befunden kaum ein Anhaltspunkt für eine bevorzugte Beteiligung der Milz an der Antikörperproduktion gewinnen. Ebensowenig liefern diese Befunde freilich Unterlagen zur Entscheidung der Frage, wo und in welchem Organ etwa sonst die fortschreitende Neubildung von Antikörpern erfolgen könnte. Die Niere und die Leber enthalten fast durchweg nur eine geringe Antitoxinmenge, und der Antitoxingehalt der Nebenniere ist im Vergleich mit dem der anderen Organe zwar relativ groß, doch hängt dies wohl in der Hauptsache mit den Schwierigkeiten der gründlichen Auswaschung zusammen. Das Interesse wendet sich in dieser Hinsicht an erster Stelle den Lungen

zu. Denn das war ja der Ausgangspunkt und der Grundgedanke des Verfahrens der intrapulmonalen Toxininjektionen, daß vielleicht die Lungen eine Prädilektionsstelle für Antitoxinerzeugung sein könnten. Die gespritzte Lunge, besonders im Umkreis der Injektionsstelle, enthält denn auch tatsächlich im Vergleich mit den anderen Organen meist eine relativ große Antitoxinmenge. Bei den Pferden „Dolch“ und „Dialyso“ ist das in ausgesprochenem Maße der Fall, aber auch bei „Davos“, „Diesbach“ und selbst „Debitor“ ist es einigermaßen deutlich erkennbar. Dabei erscheint ferner namentlich der Unterschied im Antitoxingehalt der linken, nicht gespritzten und rechten gespritzten Lunge bemerkenswert, insofern als die letztere, mit Ausnahme eines einzigen Falles („Debitor“), stets antitoxinreicher war. Der Unterschied zugunsten der rechten Lunge war zum Teil ein sehr bedeutender. Alles dies bezieht sich auf die intrapulmonal vorbehandelten Pferde. Das einzige nur subkutan gespritzte Tier lieferte demgegenüber abweichende Ergebnisse. Hier war der Antitoxingehalt der rechten und der linken Lunge genau der gleiche und keineswegs höher, sondern zum Teil sogar geringer als der der übrigen, von mir untersuchten Organe. Auf den ersten Blick könnte man in diesen Befunden einen Hinweis auf die Rolle der Lunge als Ort der gesteigerten Antikörperproduktion erblicken. Dennoch läßt sich ein solcher Schluß auf die lokale Entstehung des Antitoxins in der Lunge nicht ziehen. Schon Pfeiffer und Marx (Bakteriolysin) und Deutsch (Agglutinin) haben eine relativ große Menge von Antikörpern in der Lunge nachgewiesen, ohne daß sie dieses Organ nun aber als die Bildungsstätte betrachteten. Vielmehr haben sie die größere Menge des Lungenantitoxins dem reichen Blutgehalt dieses Organs zugeschrieben. In den von mir untersuchten Fällen wurden die Organe zwar gründlich ausgewaschen, doch war das Gewebe im Bereich der Injektionsstelle, wie erwähnt, immer stark hyperämisch und zeigte sogar ausgedehnte diffuse Blutungen, in besonders erheblichem Maße in den Fällen „Dolch“ und „Dialyso“. Das in das Parenchym diffundierte Blut ist aber sehr schwer auszuwaschen. Man wird daher nicht fehlgehen, wenn man den hohen Antitoxinwert der gespritzten Lunge nur auf den Blutreichtum

des betreffenden Organs zurückführt. Dafür spricht z. B. auch der Umstand, daß die Lungen der beiden Pferde (Dolch, Dialyso), welche die höchsten Antitoxinwerte lieferten, auch am stärksten von Blutungen durchsetzt waren. Aber es kommt noch etwas anderes hinzu. Das ist der merkwürdige Befund, daß nach intrapulmonalen Toxininjektionen der Antitoxingehalt im venösen Blut immer viel größer ist, als im arteriellen. Dies spricht wohl unzweifelhaft gegen die Bedeutung der lokalen Antitoxinbildung in der Lunge. Wäre wirklich die Lunge eine Hauptbildungsstätte des Antikörpers, so müßte der Antitoxingehalt im ausführenden arteriellen Blute größer sein, als im zuführenden venösen Blut, höchstens gleichwertig, aber niemals dürfte das Gegenteil zutreffen. Wenn das Blut beim Passieren der Lungen Einbuße an Antitoxin leidet, und zwar in einigen Fällen sehr erheblich, so sind die Lungen eben nicht Antitoxinbildner, sondern Antitoxinverzehrer. Sie entziehen dem Blute Antitoxin, wobei es dahingestellt bleiben muß, in welcher Weise dies geschieht. Es liegt nahe, daran zu denken, daß das Antitoxin auf dem Wege der Adsorption zurückgehalten und abgelagert und dann vielleicht durch Oxydationswirkung verändert und seines Antitoxincharakters entkleidet wird. Daß etwa das in die Lunge injizierte Toxin daselbst das Antitoxin dem durchströmenden Blut entnimmt und bindet, könnte wohl nur für die erste, der Toxininjektion unmittelbar folgende Zeit gelten, nicht aber für das Stadium, in welchem die Entblutung der Tiere erfolgt ist. Die zehrende Wirkung auf den Antitoxingehalt des Blutes kann nach meinen Befunden natürlich nur von der gespritzten Lunge ausgehen, denn abgesehen davon, daß die andere Lunge hinsichtlich ihres Antitoxingehalts sich von den übrigen Organen kaum wesentlich unterschied, ist die Differenz zwischen venösem und arteriellem Blut offenbar nur nach intrapulmonaler Toxininjektion zu beobachten, nicht nach anderen Formen der Toxineinverleibung. Wenigstens hat der früher angeführte Kontrollversuch bei einem nur intramuskulär vorbehandelten Pferde für arterielles und venöses Blut den gleichen Antitoxintiter ergeben.

Die Verhältnisse bei der pulmonalen Immunisierung stellen sich demnach so dar, daß das venöse Blut mehr oder minder

große Mengen von Antitoxin mit sich führt, wovon ein Teil bei dem Weg durch die Lunge verloren geht. Wenn dann das antitoxinärmere arterielle Blut nach Durchströmen des gesamten Körpers als venöses Blut wieder einen größeren Antitoxingehalt aufweist, so sind vermutlich eine ganze Reihe von Organen, vielleicht alle, die Gelegenheit gehabt haben, das Toxin aufzunehmen und zu binden, an der Antikörpererzeugung beteiligt. Die Antitoxinwerte, die ich bei den von mir untersuchten Organen ermittelt habe, enthalten ja keinen Hinweis auf irgendein bestimmtes Organ als bevorzugte Bildungsstätte des Antitoxins.

Warum in manchen Fällen die intrapulmonale Injektion des Toxins bei Pferden einen günstigen Einfluß auf die Antitoxinbildung ausübt, ist zwar noch eine ungeklärte Frage, doch läßt sich aus meinen Untersuchungen wohl so viel entnehmen, daß nicht etwa die Lunge an sich ein zur Antikörperbildung hervorragend geeignetes Organ ist. Sie mag sich an diesem Prozeß ebenso wie andere Organe beteiligen, aber nicht mehr, und namentlich in späteren Stadien der Immunisierung überwiegt ihre antitoxinvermindernde Wirkung. Man könnte sich also vielleicht vorstellen, daß durch die Einspritzung des Toxins in die Lungen das Antigen zum Teil auf raschestem Wege direkt in die Lungenvenen gelangt und so den Organen besonders schnell unbeeinflußt zugeführt wird, vielleicht aber auch umgekehrt, daß ähnlich wie bei der intramuskulären Injektion ein Toxindepot geschaffen wird, das immer von neuem kleine Mengen an das Blut abgibt und so fortlaufend den Reiz zur Antikörpererzeugung den Organen übermittelt. In beiderlei Hinsicht dürfte die sehr voluminöse, schwammige Beschaffenheit des Organs aber auch insofern von Vorteil sein, als hierdurch auf einmal recht beträchtliche Mengen von Antigen aufgenommen werden können.

Zusammenfassung.

1) Die Lungenveränderungen, die infolge wiederholter Toxininjektionen bei Pferden hervorgerufen werden, bestehen hauptsächlich in chronisch-proliferierender Entzündung, begleitet von mehr oder weniger starken Blutungen. Diese Veränderungen entsprechen, nach den Untersuchungen

von Lurje und im Sinne von Homén, der Reaktion des Lungengewebes auf ein nicht hochvirulentes Toxin. Die starken degenerativen Veränderungen, welche nach diesen Autoren die Reaktion des Gewebes auf hochkonzentriertes Toxin kennzeichnen sollen, konnte ich bei meinen Untersuchungen nicht konstatieren. Es ist aber wohl möglich, daß während der langdauernden Immunisierung der Pferde die nekrotischen Herde der früheren Injektionsstellen schon vernarbt waren und deshalb nicht mehr wahrgenommen werden konnten. Das verwendete Toxin war sehr wirksam.

2) Der Antitoxingehalt der inneren Organe (Lungen, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren) ist bei den intrapulmonal hochimmunisierten Pferden immer geringer als der des Blutserums und von dem Blutgehalt der Organe sehr abhängig.

3) Die Antitoxinmenge im Blutserum der hochimmunisierten Pferde ist im venösen Blut viel größer als im arteriellen. Dies gilt nur für den Fall intrapulmonaler Toxininjektionen.

4) Die Läsionsstelle der Lunge enthält oft bedeutend größere Mengen von Antitoxin als die anderen Organe, auch als die andere, nicht gespritzte Lunge, zum Teil infolge der enorm ausgedehnten Blutungen, die, trotz des Auswaschens der Lunge durch die Blutgefäße, als Blutaustritt und infolge der bindegewebigen Wucherungen im Parenchym haften bleiben.

5) Die Milz, die meist als Bildungsstätte der verschiedenen Antikörper angesehen wird, enthält in diesem Stadium der Immunisierung nur eine sehr kleine Menge von Antitoxin, oft weniger als andere Organe. Ihre bevorzugte Beteiligung an der Antitoxinproduktion ließ sich auf diesem Wege nicht erweisen.

6) Die Verbreitung des Antitoxins in den Organen und im Serum, wie sie sich nach meinen Befunden darstellt, bietet keine Anhaltspunkte dafür, daß die Lunge nach intrapulmonaler Toxininjektion eine Hauptbildungsstätte des Antitoxins sei. Viel näher liegt die Deutung, daß die Antitoxinbildung eine Funktion des gesamten Organismus ist. Die durch Toxininjektion geschädigte Lunge entzieht sogar dem Blute Antitoxin, indem sie es speichert und dann, wohl auf dem Wege der Oxydation (?), verändert.

Literatur.

- Achard et Bensaude, Arch. de méd. expérim., 1896.
 Arloing, Sem. méd., 1897.
 Blumenthal, Ph., Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 26.
 Cantacuzène, Annal. Pasteur, 1908.
 Courmont, Sem. méd., 1897.
 Castellani, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 1901.
 Deutsch, Annal. Pasteur, 1899, und Centralbl. f. Bakt., 1900.
 v. Dungern, Die Antikörper, Jena 1909.
 v. Emden, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 30, 1899.
 Emmerich, zit. nach Heim.
 Fodor und Rigler, Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 1898.
 Friedberger und Girgolaff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911.
 Girgolaff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912.
 Gruber, Wiener klin. Wochenschr., 1896.
 Heim, Münch. med. Wochenschr., 1909.
 Hektoen, Journ. of inf. diseases, 1911.
 Jakuschewitsch, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, 1904.
 Jatta, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33, 1900.
 Jez, Wiener klin. Wochenschr., 1901, und Wiener med. Wochenschr., 1899.
 Kraus und Levaditi, Compt. rend. de l'acad. des sciences, 1904.
 — — Handbuch der Technik u. Methodik der Immunitätsf., 1911.
 — und Schiffmann, Annal. Pasteur, 1906.
 Kolle-Wassermann, Handbuch der Mikroorganismen, 2. Aufl.
 Lurje, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.
 Mallannah, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, 1906.
 Müller, Compt. rend. soc. de biol., T. 83, 1920.
 Nicolle, Annal. Pasteur, 1898.
 Paetsch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 1911.
 Pfeiffer und Marx, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, 1898.
 Rath, Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, 1899.
 Römer, Arch. f. Ophthalm., 1901.
 Sahli, Schweiz. med. Wochenschr., 1921.
 Sick, Deutsches Arch. f. klin. Med., 1904.
 Wassermann, Berl. klin. Wochenschr., 1898.
 — und Citron, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, 1905.
 Weil und Braun, Biochem. Zeitschr., Bd. 17, 1909.
 Widal et Sicard, Annal. Pasteur, 1897.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten Bern
(Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Beitrag zur Biologie der männlichen Geschlechtszellen.

Von Dr. Isematsu Tsukahara.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. April 1922.)

Es ist zur Genüge bekannt, daß die Geschlechtszellen in dem Organismus eine biologische Sonderstellung einnehmen. Schon die zuerst durch Metschnikoff und Landsteiner nachgewiesene Möglichkeit, gegen die Samenzellen ein spezifisches Antitoxin zu erzeugen, in Verbindung mit der Tatsache, daß das Spermotoxin nicht nur gegen fremdartige Spermatozoen, sondern auch gegen die der gleichen Tierart und sogar des gleichen Tieres wirksam ist, zeigte diese Sonderstellung an. Weiterhin ist dann aber namentlich durch Dunbar bei Pflanzen und Fischen der Beweis für die serobiologische Eigenart der Geschlechtszellen erbracht worden, und eine Reihe von Autoren (Gräfenberg und Thies, Graetz, Schenk u. v. a.) haben auch bei Warmblütern dieses wichtige Gebiet zum Gegenstand eingehender experimenteller Untersuchungen gemacht. Dabei zeigte sich übereinstimmend der spezifische Charakter der Geschlechtszellen, der ihre Differenzierung von dem übrigen Körpereiweiß ermöglichte. Ganz ähnlich wie das Linseneiweiß, dessen organspezifischer Charakter durch Uhlenhuth entdeckt worden ist, entbehren auch die Geschlechtszellen zum Teil des artspezifischen Charakters und stellen für den Körper artfremdes Eiweiß dar. Die Geschlechtszellen verschiedener Tierarten liefern vielfach ein biologisch gleichartiges Eiweiß. Vgl. hierzu auch Uhlenhuth und Weidanz.

Die Versuche sind meist mit Hilfe der Präzipitation, der Komplementbindung und der anaphylaktischen Reaktion ausgeführt worden. Aber noch in anderer Weise äußerte sich die Wirkung der Geschlechtszellen. Es ließ sich zeigen, daß die Injektion dieses Materials, insbesondere die intravenöse

Zufuhr von Hodenmaterial bei Versuchstieren schwere Vergiftungserscheinungen und den Tod hervorzurufen vermag, ähnlich wie viele andere Organe (Milz, Leber, Niere, Lunge, usw.) bekanntermaßen bei gleicher Injektionsweise Giftwirkung äußern. Nur scheinen die Tiere auf die Einverleibung von Hodenmaterial je nach dem Geschlecht in zum Teil sehr verschiedener Weise zu reagieren. Im allgemeinen läßt sich auf Grund der Beobachtungen von Gräfenberg und Thies, v. Dungern und Hirschfeld, Izar und Fagioli u. a. sagen, daß männliche Tiere wohl empfindlicher gegen das Gift der Hodensubstanz sind als normale weibliche Tiere, trüchtige Tiere dagegen eine gesteigerte Empfindlichkeit besitzen, die weit über die der übrigen Tiere hinausgeht. Wenigstens scheint dies für Meerschweinchen und zum Teil auch für Kaninchen zuzutreffen. Dabei ist nach einigen Autoren ein wesentlicher Unterschied zwischen der Hodensubstanz der eigenen oder einer fremden Tierart kaum vorhanden; fremdartiges Material ist sogar eher etwas weniger giftig. Wie v. Dungern und Hirschfeld fanden, äußern auch die Hodenantisera bemerkenswerterweise Giftwirkung, die ebenfalls je nach dem Geschlecht der Tiere stärker oder schwächer zutage tritt.

Bei der organspezifischen Eigenart und biologischen Sonderstellung des Hodengewebes drängt sich naturgemäß die Frage auf, inwieweit etwa der Organismus normalerweise hiergegen Antikörper erzeugt. So wie es gelingt, auf immunisatorischem Wege Tiere zur Antikörperbildung gegen Hodensubstanz zu veranlassen, wäre es ja denkbar, daß sich im Körper männlicher Individuen diese Antikörper schon als physiologische Blutbestandteile finden, und man könnte sich auch weiterhin vorstellen, daß im Körper weiblicher Individuen nach der Befruchtung spezifische Hodenantikörper gebildet werden, etwa ähnlich wie in der Gravidität im Blute der Frauen Substanzen auftreten, die mit plazentarem Eiweiß eine spezifische Reaktion geben. Die Anwesenheit oder das Fehlen jener Antikörper würde möglicherweise auch für die verschiedene Empfindlichkeit der Geschlechter gegenüber dem Hodengift eine Erklärung abgeben können. Untersuchungen dieser Art wurden besonders

von Waldstein und Ekler aufgenommen, die von dem Gedanken ausgingen, daß weibliche Tiere nach der Befruchtung Antikörper gegen Hodensubstanz bilden müßten. Sie haben ihre Versuche an Kaninchen angestellt und zunächst zur Orientierung bei normalen männlichen und weiblichen Tieren das Blutserum mittels der *Abderhaldenschen* Reaktion gegenüber Hodensubstanz geprüft. Sie erhielten hierbei fast durchweg negative Resultate, und nur in 3 Fällen gab das Serum von Kaninchenweibchen einen positiven Ausschlag, 2 mal schwach, einmal deutlich. Dagegen reagierten sämtliche Sera von belegten Weibchen 24 Stunden nach der Kohabitation positiv und ebenso ergab sich bei graviden Tieren in 9 von 10 Fällen eine positive *Abderhaldensche* Reaktion. Aus den Versuchen *Dunbars* geht hervor, daß normales Kaninchen- serum mit Roggenpollen weder Präzipitation noch Komplement- bindung gibt, dagegen mit Fischrogen und Fischsperma im Komplementbindungsversuch positiv reagiert; die Präzipitation versagt auch hier. Nach Adler besitzen normale Meer- schweinchen in ihrem Blutserum kein Spermotoxin für Meer- schweinchenspermatozoen.

Auf Anregung von Herrn Prof. Sobernheim habe ich es unternommen, bei Pferden die Wirkung des Serums auf Hodensubstanz zu untersuchen, und zwar unter Berücksichtigung des Geschlechts der Pferde. Es sollten also die Sera von Hengsten, Wallachen und Stuten geprüft werden. Daneben wurde in besonderen Versuchsreihen, die gewissermaßen als orientierende Vorversuche bezüglich der Wirksamkeit der dargestellten Substrate dienten, auch die Giftigkeit von Hodenextrakten für Meerschweinchen und Kaninchen untersucht.

Als Material wurden Hengst- und Stierhoden gewählt. Um über die Giftigkeit der hieraus gewonnenen Extrakte und über die etwa in dem Blutserum vom Pferd (und Rind) vorhandenen Antikörper Aufschluß zu erlangen, habe ich eine Prüfung in folgenden Versuchsreihen vorgenommen:

- 1) Feststellung der Giftigkeit des Hodenextraktes für männliche, weibliche, trächtige Kaninchen und Meerschweinchen bei intravenöser Injektion.

- 2) Komplementbindung mit dem Serum von Hengst, Stute, Wallach, Stier.
- 3) Präzipitation mit den gleichen Sera.
- 4) Abderhaldensches Dialysierverfahren mit den gleichen Sera.

1. Toxizitätsprüfung des Hodenextraktes.

Hinsichtlich der Technik sei kurz folgendes bemerkt:

Die Organe — Hoden eines Hengstes und eines Stieres — wurden frisch zerschnitten und, nach Auswaschen des Blutes, mit sterilem Quarzsand unter langsamem Zusetzen von 10 bis 20 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung im Mörser zerrieben. Der Organbrei wurde 12 Stunden geschüttelt, durch ein sterilisiertes Tuch filtriert und dann noch leicht zentrifugiert. In allen Fällen erhält man so einen von gröberen Partikeln freien Extrakt. Diese Hodenextrakte wurden dann weiterhin durch Vermischung teils mit der doppelten (1:2), teils mit der zehnfachen (1:10) Gewichtsmenge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Für die Toxizitätsprüfung haben wir intravenöse Injektionen an Kaninchen (Ohrvene) und Meerschweinchen (V. jugularis) angewendet.

Die Ergebnisse sind in Tabelle I und II zusammengestellt.

Tabelle I.
Toxizität des Hengsthodenextraktes (1:2).

| No. | Tiere | Geschlecht | Gewicht in g | Injizierte Hodenmenge | | Resultat |
|-----|--------------|------------|--------------|-----------------------|--------------------|----------|
| | | | | in ccm | pro kg Tier in ccm | |
| 1 | Kaninchen | männlich | 1500 | 12 | 8,0 | lebt |
| 2 | | „ | 1700 | 17 | 10,0 | tot |
| 3 | | weiblich | 1800 | 18 | 10,0 | lebt |
| 4 | | „ | 1700 | 20 | 11,8 | tot |
| 5 | | trächtig | 3000 | 20 | 6,6 | lebt |
| 6 | | „ | 2800 | 20 | 7,1 | tot |
| 7 | Meerschwein. | männlich | 240 | 8 | 33,3 | lebt |
| 8 | | „ | 250 | 9 | 36,0 | tot |
| 9 | | weiblich | 240 | 9 | 37,5 | lebt |
| 10 | | „ | 250 | 11 | 44,0 | tot |
| 11 | | trächtig | 550 | 10 | 18,1 | lebt |
| 12 | | „ | 600 | 12 | 20,0 | tot |

30*

Tabelle II.
Toxizität des Stierhodenextraktes (1:2).

| No. | Tiere | Geschlecht | Gewicht in g | Injizierte Hodenmenge | | Resultat |
|-----|--------------|------------|-----------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| | | | | in ccm | pro kg Tier in ccm | |
| 13 | Kaninchen | männlich | 1800 | 18 | 10,0 | lebt |
| 14 | " | " | 2000 | 25 | 12,5 | tot |
| 15 | " | weiblich | 1600 | 20 | 12,5 | lebt |
| 16 | " | " | 1800 | 27 | 15,0 | tot |
| 17 | " | trächtig | 2800 | 21 | 7,5 | lebt |
| 18 | " | " | 2600 | 22 | 8,5 | tot |
| 19 | Meerschwein. | männlich | 220 | 8 | 36,4 | lebt |
| 20 | " | " | 240 | 10 | 41,7 | tot |
| 21 | " | weiblich | 240 | 10 | 41,7 | lebt |
| 22 | " | " | 250 | 12 | 48,0 | tot |
| 23 | " | trächtig | 600 | 12 | 20,0 | lebt |
| 24 | " | " | 660 | 16 | 24,2 | tot |

Es geht daraus, in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen anderer Autoren, die Giftigkeit der Extrakte in gewissen Dosen hervor, wobei sich der Hengsthodenextrakt als etwas stärker wirksam erwies. Von dem Stierhodenextrakt waren sowohl für Kaninchen als auch für Meerschweinchen stets größere Dosen erforderlich, um den akuten Tod der Tiere herbeizuführen. Ferner zeigte sich, daß die Empfindlichkeit der Kaninchen die der Meerschweinchen erheblich übertraf, so daß gewöhnlich also erst die 3—4fache Menge der für Kaninchen tödlichen Dosis, auf das Körpergewicht berechnet, bei Meerschweinchen den gleichen Erfolg hatte. Endlich trat aber auch deutlich der Unterschied in der Empfindlichkeit männlicher, weiblicher und trächtiger Tiere hervor. In gleicher Weise wurde dies für Kaninchen und Meerschweinchen und ebenso für Hengst- und Stierhodenextrakt festgestellt. Am widerstandsfähigsten zeigten sich in jedem Falle normale weibliche Tiere, Kaninchen wie Meerschweinchen, am empfindlichsten trächtige Tiere, und etwa in der Mitte standen männliche Tiere. Es ist schon von Gräfenberg und Thies darauf aufmerksam gemacht worden, daß bei der Gewichts-berechnung trächtiger Tiere das Gewicht des Muttertieres allein nicht exakt bestimmt werden kann, also immer etwas zu hoch angegeben wird, wodurch wieder die tödliche Extrakt-dosis zu niedrig erscheint. Immerhin sind die Unterschiede

bei den von uns ermittelten Dosen so deutlich, daß wir ebenfalls den Schluß für berechtigt halten, eine erhöhte Empfindlichkeit der Tiere während des trächtigen Zustandes anzunehmen. Betont sei übrigens noch, daß der Einfluß des Geschlechts auf die Empfindlichkeit der Tiere von den eben genannten Autoren nur bei Meerschweinchen, nicht bei Kaninchen gegenüber Hodenextrakt vom Stier festgestellt werden konnte, wogegen in meinen Versuchen offenbar auch das Kaninchen die gleichen Differenzen zu erkennen gab. Die Zahl meiner Versuchstiere ist zwar keine sehr große, andererseits aber waren die Resultate ganz eindeutig und fielen auch für Hengsthodenextrakt in gleichem Sinne aus, sodaß bei Kaninchen eine größere Widerstandsfähigkeit normaler weiblicher Tiere im Vergleich mit Kaninchenböcken gegenüber dem Organgift von Hengst- und Stierhoden in der Tat vorhanden sein dürfte.

Der Tod der Tiere trat immer unter Streckkrämpfen ein, meist innerhalb weniger Minuten, oft schon nach 1 Minute. Bei der Sektion fand sich bei Meerschweinchen in der Regel ausgesprochene Lungenblähung, bei Kaninchen war sie selten deutlich erkennbar; sonst konnten irgendwelche charakteristische Veränderungen nicht verzeichnet werden. Die Tiere, welche die Einspritzung überlebten, zeigten zum Teil auch Krampferscheinungen, von denen sie sich aber erholten; die trächtigen Tiere abortierten stets.

2. Komplementbindung.

Für die Komplementbindungsversuche bediente ich mich der gleichen Extrakte wie für die Toxizitätsprüfung; sie waren zum Zwecke der Haltbarmachung mit 0,5 Proz. Phenol versetzt worden. Die Technik, die zur Anwendung gelangte, war die übliche. Von den Extrakten wurde zunächst in einem Vorversuch die allein nicht mehr hemmende Dosis bestimmt. Die Hälfte dieser Dosis war dann die Gebrauchsdosis für alle weiteren Versuche, sie betrug sowohl für Hengst- als auch für Stierhodenextrakt 0,5 ccm der Extraktverdünnung 1:10. Die verschiedenen Sera, inaktiviert, wurden gegenüber den beiden Extrakten in einer Reihe von Verdünnungen geprüft, gewöhnlich 1:2, 1:5, 1:10 usw. bis 1:100.

Die Sera, die mir zur Verfügung standen, waren fast ausschließlich Pferdesera. Sie stammten von Tieren, die für die Serumgewinnung dienten und mit verschiedenen Bakterienarten und Toxinen (Diphtherie, Typhus, Streptokokken usw.) vorbehandelt worden waren. Nur 4 Sera waren von neuen Pferden (Hengsten) genommen worden. Im ganzen konnte ich 29 Pferdesera untersuchen, und zwar 4 Hengstsera, 8 Stutensera und 17 Wallachensera. Die systematische Untersuchung von Rindersera, die ebenfalls von mir in Aussicht genommen war, mußte ich aus äußeren Gründen auf 2 Stiersera beschränken, so daß ich zusammen 31 Sera im Komplementbindungsversuch geprüft habe.

Das Resultat war durchweg negativ. In keinem einzigen Falle gab das Serum mit Hodenextrakt Komplementbindung.

3. Präzipitation.

Auch über diese Art der Prüfung ist nur wenig zu bemerken. Die klar zentrifugierten Extrakte, und zwar in der Verdünnung 1:10, bildeten das Reagens. Sie wurden mit dem zu untersuchenden Serum unterschichtet, wobei unverdünntes und verdünntes Serum verwendet wurde. Geprüft wurden die gleichen Sera wie früher.

Niemals konnte Präzipitation festgestellt werden, alle Sera reagierten negativ.

4. Dialysiermethode (Abderhalden).

Hierbei haben wir uns streng an die Vorschriften Abderhaldens gehalten. Da eindeutige Resultate bei dieser Methode überhaupt nur erwartet werden können, wenn in der peinlichsten Weise alle Vorsichtsmaßregeln befolgt werden, sei über die Technik, wie wir sie anwendeten, das Wichtigste kurz hervorgehoben.

Die Dialysierhülsen wurden zunächst geaicht, indem einerseits die Undurchlässigkeit für Eiweiß (Eiereiweiß), andererseits die gleichmäßige Durchlässigkeit für die Eiweißabbauprodukte, geprüft mittels einer 1-proz. Seidenpeptonlösung, festgestellt wurde. Nur einwandfreie Hülsen, die diesen Anforderungen genau entsprachen, gelangten zur Verwendung.

Mit besonderer Sorgfalt wurde sodann die Gewinnung des Substrates gehandhabt. Von dem Hoden wurde Kapsel und Bindegewebe entfernt, der Hoden in kleine Stücke geschnitten, dieses Material dann in fließendem Leitungswasser ausgewaschen und jedes einzelne Stück mit der Hand ausgedrückt. Das schließlich erhaltene absolut blutfreie, schweeweiße Gewebe wurde nun in siedendes destilliertes Wasser, das mit einigen Tropfen Eisessig angesäuert war, hineingeworfen, 10 Minuten lang gekocht, das Kochwasser abgegossen, das Hodenmaterial 5 Minuten lang gründlich in destilliertem Wasser gespült und dann noch mehrere Male mit kochendem Wasser behandelt. Das Material galt nur dann als einwandfrei, wenn das Kochwasser mit Ninhydrin keine Spur von Reaktion mehr gab. Nur solches Material benutzte ich zu meinen Versuchen. Vor jedem Versuche wurde daher zur Kontrolle so verfahren, daß eine dem Versuchsquantum entsprechende Menge des Gewebes mit höchstens der fünffachen Menge Aqua destillata im Reagenzglas 5 Minuten lang gekocht wurde. Das Kochwasser, durch ein gehärtetes Filter filtriert, durfte bei Zusatz von 1-proz. Ninhydrinlösung (1 ccm auf 5 ccm Filtrat) und 1 Minute langem Kochen keine Färbung zeigen.

Zur Anstellung der Reaktion wurden die Hülsen mit ca. $\frac{1}{2}$ g des Hodenmaterials und 1,5 ccm Serum beschickt. Nur vollkommen frisches, hämoglobinfreies Serum wurde benutzt. Nach gründlichem Abspülen der Hülsen brachte ich sie dann in Erlenmeyerkölbchen, die mit 20 ccm sterilen destillierten Wassers gefüllt waren. Uberschichten der Flüssigkeit mit Toluol und Aufbewahrung der Kölbchen bei 37° bildete den Beschluß. Nach ca. 18 Stunden wurde dann das Dialysat durch Zusatz von 0,2 ccm der Ninhydrinlösung zu 10 ccm Dialysat und 1 Minute langes Kochen geprüft. Ablesung des Resultats nach einer halben Stunde.

Die Wiedergabe der technischen Einzelheiten hielt ich deshalb für nötig, weil, um es gleich zu sagen, sämtliche Sera eine positive Reaktion gegeben haben. Dieses Resultat darf als einwandfrei angesehen werden, da alle Kontrollen, wie ich sie soeben dargelegt habe, schon für die Richtigkeit bürgen, dann aber auch noch die in jedem

einzelnen Versuche mit dem Serum und mit dem Substrat (Hoden) für sich allein angestellten Kontrollen niemals ein positiv reagierendes Dialysat lieferten. In Tabelle III sind die Versuchsergebnisse übersichtlich geordnet.

Tabelle III.

| Serum | Reaktion mit | | Serum | Reaktion mit | |
|-----------|--------------|------------|------------|--------------|------------|
| | Hengsthoden | Stierhoden | | Hengsthoden | Stierhoden |
| Hengst 1 | ++ | ++ | Wallach 4 | +++ | ++(+) |
| Hengst 2 | ++ | +(+) | Wallach 5 | +++ | +++ |
| Hengst 3 | ++++ | +++(+) | Wallach 6 | ++ | +(+) |
| Hengst 4 | + | + | Wallach 7 | ++ | + |
| Stute 1 | ++ | + | Wallach 8 | ++ | +(+) |
| Stute 2 | ++ | ++ | Wallach 9 | ++ | ++ |
| Stute 3 | ++ | ++ | Wallach 10 | +++(+) | + |
| Stute 4 | ++ | +(+) | Wallach 11 | +++ | ++ |
| Stute 5 | +++ | +++ | Wallach 12 | +++ | ++ |
| Stute 6 | +++ | ++ | Wallach 13 | ++ | ++ |
| Stute 7 | +++ | ++(+) | Wallach 14 | ++ | ++ |
| Stute 8 | ++ | ++ | Wallach 15 | +++ | ++ |
| Wallach 1 | ++ | ++ | Wallach 16 | +++ | +++(+) |
| Wallach 2 | +++ | +++ | Wallach 17 | +++ | + |
| Wallach 3 | ++ | ++ | Stier 1 | +++ | +++ |
| | | | Stier 2 | ++ | + |

Es zeigt sich also dabei, daß ein Unterschied zwischen den Sera von Hengsten, Stuten und Wallachen nicht besteht, daß sie vielmehr alle in der gleichen Weise Eiweißabbauprodukte liefern und daß auch die Herkunft des Substrates je nach der Tierart gleichgültig ist. Hengsthoden und Stierhoden bewährten sich als Reagens und führten zu übereinstimmenden Resultaten; das Eiweiß der gleichartigen und der fremdartigen Geschlechtsdrüse war biologisch nicht zu differenzieren. Daß die Reaktion mit Hengsthoden vielfach etwas stärker ausfiel, besonders deutlich in 2 Fällen (Wallach 10 und 17), beruht offenbar auf gewissen Zufälligkeiten in der Beschaffenheit der Substrate, nicht etwa auf spezifisch biologischen Zusammenhängen, denn auch das eine der beiden Stiersera, die ich geprüft habe, wirkte wie die Pferdesera mit Hengsthoden intensiver. Daß ich leider nicht mehr in der Lage war, auch von anderen Rindern Sera zur Prüfung heranzuziehen, habe ich bereits erwähnt. Ebenso wäre es

vielleicht interessant gewesen, noch Sera von trächtigen Stuten zu untersuchen. Die Stutensera, die in der Tabelle verzeichnet sind, stammen, soweit festzustellen war, durchweg von Tieren, die niemals getragen hatten.

Es haben sich somit durch die von mir angewendeten Methoden serologische Unterschiede bei männlichen und weiblichen Tieren, im Hinblick auf das Verhalten gegenüber Hodensubstanz, nicht nachweisen lassen. Das Serum von Pferden gibt mit Hodensubstanz entweder überhaupt keine spezifische biologische Reaktion (Komplementbindung, Präzipitation) oder es wirkt positiv gleichmäßig in jedem Falle (Abderhaldensche Reaktion), möge es von Hengsten, Wallachen oder Stuten stammen. Immerhin ist es von Interesse, daß in dem Blute normaler Tiere (Pferde, Rinder) „Abbaufemente“ für Hodensubstanz vorhanden sind, auch wenn ein Zusammenhang mit dem Geschlecht der Tiere zum mindesten für das Pferdeserum nicht besteht. Man muß sich hiernach wohl vorstellen, daß gegenüber dem artfremden Eiweiß der Geschlechtszellen schon physiologischerweise, also nicht infolge von Immunitätsreaktionen, im Blute der Pferde spezifisch wirkende Substanzen gebildet werden.

Zusammenfassung.

1) Nach intravenöser Injektion größerer Mengen von Hodenextrakt (Hengst und Stier) wurden bei Kaninchen und Meerschweinchen die bekannten Vergiftungserscheinungen beobachtet. Hengsthoden war giftiger als Stierhoden.

2) Hinsichtlich der Empfindlichkeit der Tiere konnte, zum Teil ebenfalls in Bestätigung älterer Angaben, festgestellt werden:

Das Kaninchen ist empfindlicher als das Meerschweinchen.
Männliche Tiere sind empfindlicher als weibliche.
Trächtige Tiere sind anscheinend empfindlicher als nicht trächtige Weibchen.

Nach Injektion subletaler Dosen findet man bei trächtigen Tieren regelmäßig Unterbrechung der Schwangerschaft, wobei der Tod der Jungen eintritt.

Was die pathologischen Veränderungen des vergifteten Meerschweinchens anbetrifft, so ist die Lungenblähung vorherrschend; sie ist bei Kaninchen fast niemals zu finden und höchstens angedeutet.

3) Die Sera von 29 Pferden und 2 Rindern (Stieren) gaben mit Hodenextrakt von Hengst und Stier im Komplementbindungs- und Präzipitationsversuch stets ein negatives Resultat.

4) Die Abderhaldensche Reaktion fiel mit den gleichen Sera stets positiv aus. Hengst-, Wallach- und Stutenserum verhielten sich ganz gleich; Hengst- und Stierhoden, als Reagens dienend, lieferten im wesentlichen übereinstimmende Resultate.

Literatur.

- Adler, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 3, 1909.
Dunbar, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 4 und 7, 1910.
v. Dungern und Hirschfeld, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 4, 1910, und Bd. 8, 1911.
Gräfenberg und Thies, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 10, 1911, und Bd. 12, 1912.
Graetz, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 21, 1914.
Izar und Fagiuoli, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 13, 1912.
Landsteiner, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 25, 1899.
Metschnikoff, *Ann. Pasteur*, 1900.
Schenk, *Münch. med. Wochenschr.*, 1910.
Uhlenhuth, *Festschrift für Rob. Koch*, 1903.
Uhlenhuth und Weidanz, *Zeitschr. f. Morphol. u. Anthropol.*, Bd. 18, 1914.
Waldstein und Ekler, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1913.

Nachdruck verboten.

[Aus der II. medizinischen Universitäts-Klinik in Wien
(Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Norbert Ortner).]

Zur Kottmannschen Jodsilbermethode.

Von Dr. Ernst Lauda,
Aspirant der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. April 1922.)

Kottmann gelang es, mittels einer photochemischen Methode nachzuweisen, daß verschiedene Sera verschieden stark dispergierend auf kolloidales Jodsilber einwirken. Die Methode besteht darin, daß in dem zu untersuchenden Serum ein kolloidales Jodsilber erzeugt, dieses belichtet und durch Hydrochinonzusatz entwickelt wird, ein Vorgang, der uns von der Photographie her bekannt ist; aus der Intensität und der Geschwindigkeit des Auftretens der Bräunung des lichtempfindlichen Jodsilbers wird auf den Dispersitätsgrad desselben bzw. auf die dispergierende Kraft des Serums auf das Jodsilber geschlossen.

Die Technik der von Kottmann angegebenen Untersuchungsmethode sei kurz beschrieben: Zu 1 ccm Serum wird in der Dunkelkammer erst 0,25 ccm einer 0,5-proz. Jodkali-lösung und hierauf 0,3 ccm einer 0,5-proz. Silbernitratlösung zugefügt. Das hierbei im Serum entstandene Jodsilber wird durch eine 200-kerzige elektrische Glühlampe durch 20 Minuten belichtet und dann im Dunkeln durch Zusatz von 0,5 ccm einer 0,25-proz. Hydrochinonlösung entwickelt, wobei je nach der Lichtempfindlichkeit des Jodsilbers nach kürzerer oder längerer Zeit eine Bräunung auftritt. Die Sera müssen frisch untersucht, die Reagenzien analytisch gewogen und frisch bereitet sein.

Aus der Photographie wissen wir, daß die Lichtempfindlichkeit einer Platte hauptsächlich vom Dispersitätszustand des Silberhaloids abhängt; je größer dispers dieses ist, um so emp-

findlicher ist die Platte, wie z. B. die sogenannte „Reifung der photographischen Platten“ beweist, wobei sich durch längeres Liegen der kolloidale Zustand des im Bindemittel erzeugten Silberhaloids im Sinne einer Verschiebung vom Sol zum Gelzustand verändert. Die „gereifte“, gröber disperses Silberhaloid enthaltende Platte ist lichtempfindlicher. Kottmann kommt nun zu dem Schlusse, daß seine photochemische Reaktion direkt vom Dispersitätszustand des Jodsilbers und dieser wieder vom speziellen kolloidalen Zustand des Serums abhängt, und meint, daß ein Serum, in welchem bei Anwendung seiner Technik die Bräunung schneller und intensiver auftritt, gröber dispergierend auf das Jodsilber gewirkt hat.

Kottmann, der von der Fragestellung ausgegangen war, ob bei den verschiedenen Schilddrüsenerkrankungen eine derartige Verschiedenheit der Serumkolloide nachweisbar ist, daß ihr dispergierender Effekt auf jodhaltige Gele erkennbare Differenzen zeigt, konnte nun solche tatsächlich nachweisen. Er fand — auf die Befunde bei „Nervösen“ sei hier nicht eingegangen — hohes Dispergierungsvermögen bei Basedow-, geringes Dispergierungsvermögen bei Kropfkranken. Als Maß des Dispergierungsvermögens dient ihm der Vergleich des zeitlichen Auftretens der Bräunung im untersuchten und in einem Normalserum; eine kolorimetrische Vergleichsskala stellt er sich jeweils durch ein maximal entwickeltes Serum dar, das er mit Serumsätzen abgestuft verdünnt. Kottmann konnte ferner nachweisen, daß durch längerdauernde Jodtherapie das Dispergierungsvermögen des Serums zunimmt und daß dies insbesondere bei Kropffällen unter gleichzeitigem Rückgang der Struma in Erscheinung tritt.

Kottmann kommt auf Grund seiner Befunde hinsichtlich der Pathologie der genannten Schilddrüsenerkrankungen zu bemerkenswerten Schlußfolgerungen, auf die hier nur ganz kurz in einigen wichtigen Punkten eingegangen werden soll. Er meint, daß die Schilddrüse Strumöser wohl viel Jod beherberge, daß dieses Jod aber wegen der dickflüssigen, grobdispersen Beschaffenheit des Strumakolloids schwer gegen die Lymphbahnen mobilisiert werden kann, weshalb die Jodwirkung im Organismus eine ungenügende sein muß: das Jod

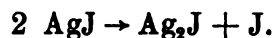
ist in der Struma funktionell latent, durch Jodtherapie hebt sich, wie seine Versuche zeigen, das Dispergierungsvermögen, das Strumakolloid wird feiner dispers, dünnflüssiger und die Bedingungen für einen leichten Abfluß sind gegeben, das Jod wird manifest. Kalziumtherapie hat entgegengesetzte Wirkung. Für die Kropfätiologie kommt all das in Betracht, was den Dispergierungsgrad des Serums herabsetzt: zu wenig Jod, zu viel Kalzium. Aehnliche Ueberlegungen wie für die Struma gelten auch — nur im entgegengesetzten Sinne — für den Basedow.

Später haben sich Bauer und Schur bei Studien über die hämoklastische Krise (Vidal) der Kottmannschen Untersuchungsmethode bedient in der Hoffnung, mit dieser Veränderungen des kolloidalen Zustandes des Serums während der Krise nachweisen zu können. Während nun diese Untersuchungen zu keinem eindeutigen Resultate führten, machten die genannten Autoren den beachtenswerten Befund, daß ein bei $55^{\circ} \frac{1}{2}$ Stunde inaktiviertes Serum im Kottmannschen Versuch die Bräunung viel rascher und intensiver gibt als das Aktivserum.

Die vorliegende Arbeit hat weniger eine Ueberprüfung der Kottmannschen Befunde bei Schilddrüsenerkrankungen als eine kritische Untersuchung seiner Methodik und der von Bauer und Schur behobenen Befunde, das differente Verhalten von Aktiv- und Inaktivserum betreffend, zum Ziele gehabt.

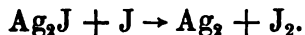
Bevor ich jedoch darauf näher eingehe, muß ich kurz das Wesen des photographischen Prozesses mit einigen Worten streifen.

Beim Belichten eines Silberhaloids — so nimmt die Lehre der Photographie mit größter Wahrscheinlichkeit an (Eder) — entsteht ein Silbersubhaloid, Silberphotohaloid genannt, welches hauptsächlich dadurch charakterisiert ist, daß es weniger Halogen enthält als das Silberhaloid. Wenn als Beispiel das Silberjodid gewählt sei, so spielt sich bei der Belichtung folgender Vorgang ab:



Das Silberjodid hat also bei der Belichtung etwas Jod abgegeben, wird so zum Photojodid und dieses spaltet sich dann

bei längerer Belichtung weiter in reines Silber und reines Jod, wobei folgende Reaktion abläuft:



Der Prozeß ist ein reversibler, im Dunkeln entsteht wieder das Silberjodid. Das Freiwerden des Jods bei der Belichtung ist beim Jodsilber speziell nicht nachweisbar, während der Nachweis des Entweichens von Chlor beim Belichten von Chlorsilber leicht gelingt. Die Gegenwart jodabsorbierender Substanzen (Silbernitrat, Tannin, arseniksaures Natron) macht das Jodsilber lichtempfindlich, sie fördert die Zersetzung des Jodsilbers im Licht sehr energisch, wahrscheinlich deshalb, weil das durch das Belichten freigewordene Jod den weiteren Zerfall des Jodsilbers im Photojodid und Jod hemmt. Inwieweit dem Vorhandensein von Sauerstoff eine Bedeutung zukommt (Scholl), ist nicht sichergestellt. Gewisse Substanzen fördern als Sensibilisatoren die Bildung von Photojodid, besonders bei ungerieftem Jodsilber, z. B. Silbernitrat, Kaliumnitrit, Ferrocyankalium. Die chemische Entwicklung des Silbersubhaloids, z. B. durch Hydrochrom, beruht auf der Eigenschaft der Silberphotohaloide, durch starke Reduktionsmittel viel rascher zu metallischen Silber reduziert zu werden als das nicht belichtete normale Silberhaloid. Der Reifungsprozeß und die dadurch bedingte höhere Lichtempfindlichkeit wurde oben schon kurz besprochen; es wurde darauf hingewiesen, daß dieser eine Vergrößerung des Silberhaloidkorns zugrunde liegt. Von größter Bedeutung für die Lichtempfindlichkeit des Silberhaloids ist schließlich das Bindemittel, in der es suspendiert ist, vielleicht deshalb, weil sich bei den verschiedenen Bindemitteln verschieden lichtempfindliche Modifikationen der Silberhaloidverbindungen ergeben, vielleicht auch deshalb, weil das chemische Verhalten des Bindemittels (Affinität zum abgespaltenen Jod usw.) eine Rolle spielt. Die Rolle des Bindemittels illustriert z. B. die Tatsache, daß eine Jodsilberemulsion, mit Gummi arabicum erzeugt, beim Hervorufungsprozeß 100mal lichtempfindlicher ist, als Jodsilber in Gelatine suspendiert (Lüppo-Cramer).

Fragen wir uns nun, welche Momente den Ausfall eines Kottmannschen Versuches zu beeinflussen vermögen, so sind dies folgende:

1) Die chemische Beschaffenheit (die Art der Modifikation) der Silberverbindung.

2) Das Bindemittel. Dieses kann die Lichtempfindlichkeit in mehrfacher Hinsicht beeinflussen. Es kann der dispergierende Effekt auf das Silberjodid ein verschiedener sein, es kann die Affinität zum aus dem Silberjodid bei der Entstehung des Photojodids abgespaltenen Jod wechseln und es kann schließlich Substanzen enthalten, welche als Sensibilisatoren im oben erwähnten Sinne wirken.

3) Der Ueberschuß von Silbernitrat.

4) Der Zutritt von Sauerstoff (nach Scholl).

5) Die Belichtungsintensität (die Dicke des verwendeten Reagenzröhrchens kann diese beeinflussen).

6) Die Belichtungsdauer.

7) Die Stärke und die Art des Entwicklers.

Von allen diesen genannten Faktoren kommen bei vergleichenden Untersuchungen mit der gleichen Methodik für die Beurteilung des Ausfalles der Reaktion die sub 3—7 genannten nicht in Betracht. Auf den Silbernitratüberschuß komme ich später zu sprechen. Die Art der Modifikation des Silberjodids kann auch nur vom Bindemittel abhängen, so daß nur dieses für unsere Betrachtung von Bedeutung sein kann. Da nun die Annahme von Sensibilisatoren in diesem nur eine, wie Kottmann schon betonte, ad hoc konstruierte Hypothese wäre, so werden wir wohl mit Recht auch diesen Faktor mit der Lichtempfindlichkeit nicht in ursächlichen Zusammenhang bringen dürfen, so zwar, daß wir für diese schließlich nur das Dispergierungsvermögen des Serums oder eventuell eine erhöhte Affinität desselben zum Jod, oder beides, heranziehen müssen. Die erhöhte Jodaffinität vermag uns auch nicht alle Phänomene zu erklären — z. B. die höhere Lichtempfindlichkeit des Silberjodids im inaktivierten Serum — weshalb dem Dispergierungsvermögen des Serums für Jodsilber die größte und vielleicht, wie Kottmann meinte, alleinige ursächliche Bedeutung für die in Rede stehende Frage zukommt.

Die Reaktion, d. h. die Bräunung, tritt in der Kottmannschen Versuchsanordnung ein, einerlei, in welchem Milieu sich das kolloidale Jodsilber befindet, sofern dasselbe

nur genügend Schutzkolloide enthält, um das Jodsilber vor Ausfällung zu bewahren. Die Reaktion kann daher sowohl im Serum als auch im Harn, Ascites, Pleuraexsudat usw. angestellt werden.

Ein Ueberschuß von Silbernitrat beschleunigt, worauf ich schon in den allgemeinen Ausführungen über Photographie hingewiesen habe, die Reaktion, überschüssiges Jodkali verlangsamt sie; das überschüssige Silbernitrat spielt die Rolle eines Sensibilisators. Folgender Versuch illustriert diese Verhältnisse. Setzt man in einer Reihe zu gleichen Serummengen gleichbleibende Mengen von Silbernitrat und aufsteigende Mengen von Jodkali, so erhält man Bräunung in den Röhren mit der geringen, keine Bräunung in denen mit der großen Jodkalimenge. Hält man sich für die Serum- und Silbernitratmengen an die Maße des Kottmannschen Versuches, so verläuft dieser folgendermaßen:

| Röhrchen No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|----------------------------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| Serum ccm | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| JK 0,5 % ccm | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 |
| AgNO ₃ 0,5 % ccm | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Belichtung und Hydrochinonzusatz | | | | | | | |
| Abgelesen nach | | | | | | | |
| 5 Minuten | br | br | lbr | ⊖ | ⊖ | ⊖ | ⊖ |
| 10 „ | br | br | br | lbr | ⊖ | ⊖ | ⊖ |
| 20 „ | br | br | br | br | ⊖ | ⊖ | ⊖ |

⊖ = keine Braunfärbung, lbr = lichtbraun, br = braun.

Die Röhren 5—7 zeigen auch bei weiterem mehrstündigen Stehen keine Reaktion, der Versuch verläuft bei Harn oder Ascites statt des Serums in analoger Weise, das zeitliche Auftreten kann aber hierbei, wie auch beim Vergleich verschiedener Sera untereinander, variieren.

Der besprochene Versuch zeigt auch, daß durch die von Kottmann in seiner Technik angegebenen Mengenverhältnisse von Serum, Jodkali und Silbernitrat optimale Bedingungen für die Beobachtung des zeitlichen Ablaufes der Reaktion gegeben sind. In den Röhren 1, 2 und 3 tritt

nach Hydrochinonzusatz sofort starke Braunfärbung auf, in Röhrchen 5, 6 und 7 überhaupt keine, wofür in den ersten Röhrchen das im Verhältnis zum Jodkali überschüssige Silbernitrat, in den anderen Röhrchen das im Verhältnis zur Silbernitratmenge überschüssige Jodkali verantwortlich zu machen ist. Anders liegen die Verhältnisse im Röhrchen No. 4, in dem die von Kottmann angegebenen Mengen von Jodkali und Silbernitrat zur Verwendung kommen; hier tritt die Reaktion eben noch, und zwar langsam ein. Da als Maß für die Lichtempfindlichkeit des Jodsilbers zwar auch die Intensität der Braunfärbung, als insbesondere aber die Geschwindigkeit des Eintretens derselben genommen wird, kann nur eine Versuchsanordnung wie in Röhrchen No. 4 mit den Kottmannschen Mengenverhältnissen als Methode in Betracht kommen.

Zu gleichen Resultaten und Schlußfolgerungen führen natürlich Versuche, in denen zu gleichen Mengen Jodkali, steigende Mengen von Silbernitrat zugesetzt werden.

Wenn es nun Bauer und Schur gelungen war, durch Hitzeinaktivieren der benutzten Sera das kolloidale Jodsilber bedeutend lichtempfindlicher zu machen, so mußte mit der Möglichkeit gerechnet werden, ob nicht bei Anstellung eines früher näher ausgeführten, aber mit inaktiviertem Serum angestellten Versuches ein höherer Wert für das Jodkali, bei dem eben noch Bräunung auftritt, ermittelt werden müßte, da vielleicht die Ueberempfindlichkeit des Jodsilbers, trotz der höheren überschüssigen Jodkalimenge noch eine Bräunung bedingen könnte. Dadurch hätte die Reaktion in der Jodkalimenge ein objektives, in Zahlen ausdrückbares Maß für die Empfindlichkeit des Jodsilbers gewonnen. In mehrfach dahin gemachten Untersuchungen hat sich die Unrichtigkeit der Annahme ergeben, Bräunung tritt auch im Inaktivserum nur beim genannten Mengenverhältnis von Jodkali und Silbernitrat ein.

Auch ohne Hydrochinonzusatz tritt nach langdauernder Belichtung Bräunung auf, worauf auch schon früher hingewiesen wurde. Aus dem Silberphotojodid fällt nach mehreren Stunden metallisches Silber aus. In der früheren Versuchsanordnung kommt es auch hierbei nur bis zum Röhrchen No. 4

zu positiver Reaktion, einerlei ob aktives oder hitzeinaktiviertes Serum zur Verwendung kam.

Hydrochinonzusatz zum Serum allein, ohne Silbernitrat und Jodkali bräunt am Lichte im Verlaufe von etwa einem Tage sämtliche untersuchten Flüssigkeiten, ein Umstand, der eventuell bei längerer Beobachtungsdauer eines Versuches mitberücksichtigt werden müßte.

Bis zu einem gewissen Grade hängt die Reaktion auch von der Temperatur ab. Stellt man mit dem gleichen inaktivierten Serum einen Versuch etwa im Wasserbad bei 60°, den anderen in der Kälte (Eiswasser) an, so kommt es bei ersterem fast regelmäßig zu schnellerer und intensiverer Bräunung.

Es erscheint schließlich selbstverständlich, daß die Belichtungsintensität des Jodsilbers die Schnelligkeit des Eintretens der Reaktion wesentlich beeinflußt. Wird der Kottmannsche Versuch z. B. in drei Röhrchen in der Weise angestellt, daß das eine Röhrchen durch 20 Minuten mit einer starken Lichtquelle, etwa der Bogenlampe des Dunkelfeldapparates belichtet, das andere schwach belichtet, ein drittes im Dunkeln gehalten wird, so bräunt sich das intensiv belichtete spontan oder sofort auf Hydrochinonzusatz, während sich das schwach belichtete langsam bräunt und das unbelichtete weiß bleibt. Für die Beurteilung der Reaktion ist eine nicht zu intensive Belichtung zweckentsprechender, weil die Reaktion langsam verläuft. Gelegentlich nun beobachtet man bei sehr starker Lichtquelle und langer Belichtungszeit die merkwürdige Tatsache, daß das intensiv belichtete Röhrchen viel weniger schnell und intensiv bräunt, als das weniger belichtete. Ich glaube dies als Solarisationsphänomen deuten zu müssen. Unter Solarisation versteht man die Erscheinung, daß eine Brom-, Jod- oder Chlorsilberplatte bei einer bedeutend verlängerten und insbesondere bei sehr starker Belichtung die Entwicklungsfähigkeit zum Teil oder gänzlich verliert. Anfangs nimmt das lichtempfindliche Substrat bei verlängerter Belichtung in immer höherem Grade die Eigenschaft an, sich im Entwickler zu schwärzen; nachdem diese Wirkung des Lichtes ihren Höhepunkt erreicht hat, wird sie allmählich wieder zerstört. Es handelt sich bei der Solarisation nicht um eine spezielle Wirkung des Sonnenlichtes, wie

man ursprünglich annahm. Von der Natur des Bindemittels ist sie unabhängig (Schaum).

Die zahlenmäßige Wertung der Intensität der Reaktion durch den Vergleich des untersuchten Serums mit der kalorimetrischen Vergleichsskala, wie sie Kottmann angab, erscheint mir ungenau. Vorläufig, solange nicht ein einwandfreies, objektives Maß in die Kottmannsche Methodik eingeführt ist, wird man sich wohl in manchen Fällen, insbesondere bei Vergleich einer größeren Anzahl von Untersuchungen, die an verschiedenen Tagen angestellt wurden, doch dieser Art der Wertung bedienen müssen. Ich habe jeweils die Bräunungsintensität mit der einer Kontrolle verglichen.

Es sei betont, daß geringe Differenzen in der Bräunung und dem zeitlichen Auftreten derselben für den Ausfall der Reaktion nicht verwertet werden dürfen, wie die Untersuchung eines Serums in einer Serie von Eprouvetten beweist. Man findet hierbei trotz genauester Technik manchmal Differenzen im Ausfall der Reaktion. Versuchsfehler können leicht unterlaufen. Eine nur um wenig höhere Silbernitratmenge gibt schon eine Beschleunigung der Reaktion. Eprouvetten, die noch von einem früheren Versuch einen Wandbeschlag aufweisen, dürfen nicht verwendet werden. Die Tatsache, daß der Farbton des ausfallenden Silbers bei Verwendung verschiedener Sera nicht immer der gleiche ist, kann Differenzen vortäuschen. Hämolytische Sera scheinen die Reaktion nicht zu beeinflussen, doch muß die Aenderung des Farbtones berücksichtigt werden.

Bauer und Schur hatten, wie gesagt, gezeigt, daß in der Kottmannschen Versuchsanordnung das Hitzeinaktivserum viel lichtempfindlicher ist, als das Aktivserum. Eine große Reihe gleichgerichteter Versuche führte zu dem gleichen Ergebnis; auf die Ausnahmen komme ich noch zurück. Es lag nun die Vermutung nahe, anzunehmen, daß Sera, welche nicht mit Hitze, sondern auf andere Weise inaktiviert worden waren, ebenso die beschleunigte Reaktion geben müßten, mit anderen Worten, daß der Komplementschwund seinen Ausdruck in der beschleunigten Reaktion findet. Diese Vermutung findet in den Befunden mehrerer Autoren (Müller u. a.) eine Stütze, welche nachwies, daß es in Tierversuchen nach Dar-

reichung von Schilddrüsen- und Jodpräparaten zur Anreicherung des Komplementes kommt. Da das komplementhaltige, aktive Serum im Kottmannschen Versuch langsamer reagiert, d. h. das in ihm erzeugte Jodsilber weniger lichtempfindlich ist als das entkomplementierte, so mußte das Serum nach Schilddrüsenverfütterung und Komplementanreicherung noch langsamer reagieren, ein Verhalten, welches sich mit den Kottmannschen Befunden beim Hyperthyreoidismus decken würde. Zur Klärung dieser Verhältnisse habe ich Sera in verschiedener Weise inaktiviert, mit den aktiven und inaktivierten Seren in Parallelversuchen die Komplementauswertung mit sensibilisierten roten Blutkörperchen und den Kottmannschen Versuch durchgeführt und die Ergebnisse beider Untersuchungen verglichen. An Inaktivierungsmethoden wurde Erhitzen auf 55° durch eine verschieden große Zeitspanne, ferner Digerieren des Serums in salzarmen Medien (Sachs und Terriuchi), Belichten der Sera nach Zusatz fluoreszierender Substanzen (Lichtwitz) und Komplementabsorption durch Kasein angewandt (Landsteiner und Stankovič).

Den Versuchen mit Digerieren des Serums mit salzarmen Medien — zum Teil auch denen mit Absorption durch Kasein — scheint der Nachteil anzuhängen, daß das Serum verdünnt wird und daß dann auch der Kottmannsche Versuch in dieser Verdünnung angestellt werden muß; eine größere Reihe von Versuchen an aktiven und hitzeinaktivierten Seren haben aber ergeben, daß auch die Serumverdünnungen mit Kochsalzlösung Ausschläge geben, wenn auch weniger deutlich wie die konzentrierten Sera, so daß die beiden genannten Methoden des Inaktivierens für unsere Zwecke doch mitangewandt werden konnten.

Es seien im folgenden zwei Versuche mit Paralleluntersuchungen des Komplementgehaltes mittels hämolytischem System und der Kottmannschen photochemischen Reaktion wiedergegeben. Uns interessiert hier lediglich, ob Komplementgehalt und Bräunung in der Kottmannschen Reaktion parallel gehen; von dem Umstande, daß in diesem speziellen Falle Aktiv- und Inaktivserum in der Belichtungsreaktion keinen Unterschied zeigten, möge vorläufig abgesehen werden.

Versuch 1.

Frisches, nüchtern entnommenes Serum des Pat. S. P., Vitium cordis.

Entkomplementieren des Serums mit salzarmem Medium (destilliertes Wasser).

Konzentriertes, 5fach und 10fach mit destilliertem Wasser verdünntes Serum wird 1 Stunde lang bei 37° gehalten; dann werden die ersten zwei Portionen mit destilliertem Wasser auf die Verdünnung 1:10 und schließlich durch Zusatz entsprechender Kochsalzmengen die drei Portionen auf Isotomie gebracht. Mit den drei Portionen wird nun einerseits die Komplementauswertung, andererseits der Kottmannsche Versuch vorgenommen.

Die Komplementauswertung.

Abfallende Mengen der drei zu untersuchenden Serumverdünnungen werden zu einem hämolytischen System zugesetzt.

| Serum- verdünnung ccm | Konzentriert | Digiert in der Verdünnung 1:5 | Digiert in der Verdünnung 1:10 |
|-----------------------------|--------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | st. | schw. | 0 |
| 0,63 | " | " | 0 |
| 0,4 | " | Sp. | 0 |
| 0,25 | schw. | 0 | 0 |
| 0,16 | Sp. | 0 | 0 |
| 0,1 | " | 0 | 0 |
| 0,04 | 0 | 0 | 0 |
| 0,01 | 0 | 0 | 0 |

st. = starke Hämolyse, schw. = schwache Hämolyse, Sp. = Spurhämolyse, 0 = keine Hämolyse.

Die Tabelle zeigt den allmählichen Komplementschwund mit der steigenden Verdünnung während des Digerierens.

Der Kottmannsche Versuch.

In je 1 ccm der auch zur Komplementbestimmung benutzten Serumverdünnung wird die Belichtungsreaktion vorgenommen.

| | Konzentriert | Digiert in der Verdünnung 1:5 | Digiert in der Verdünnung 1:10 |
|----------------|--------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Nach 2 Minuten | lichtbraun | lichtbraun | lichtbraun |
| " 5 " | braun | braun | braun |
| " 10 " | dunkelbraun | dunkelbraun | dunkelbraun |

Die Kottmannsche Reaktion gibt in den drei Proben keine Unterschiede.

Versuch 2.

Serum des gleichen Patienten.

Entkomplementieren des Serums durch verschieden langdauerndes Erhitzen auf 56°.

Die Komplementauswertung.

| Serum erhitzt 56° ccm | 0 Minuten | 2 Minuten | 10 Minuten | 30 Minuten |
|--------------------------|-----------|-----------|------------|------------|
| 0,1 | st. | st. | 0 | 0 |
| 0,63 | " | " | 0 | 0 |
| 0,4 | " | " | 0 | 0 |
| 0,25 | " | " | 0 | 0 |
| 0,16 | " | " | 0 | 0 |
| 0,1 | " | schw. | 0 | 0 |
| 0,063 | schw. | " | 0 | 0 |
| 0,04 | " | " | 0 | 0 |
| 0,025 | " | Sp. | 0 | 0 |
| 0,01 | Sp. | 0 | 0 | 0 |
| 0,001 | " | 0 | 0 | 0 |
| 0,001 | " | 0 | 0 | 0 |

Der Kottmannsche Versuch.

| Abgelesen nach | Nicht erhitzt | 2 Minuten erhitzt | 10 Minuten erhitzt | 30 Minuten erhitzt |
|----------------|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 2 Minuten | licht | licht | licht | licht |
| 5 " | lichtbraun | lichtbraun | lichtbraun | lichtbraun |
| 15 " | braun | braun | braun | braun |

Der Komplementauswertungsversuch zeigt das Abfallen des Komplementgehaltes, im Belichtungsversuch ergeben sich keine Unterschiede.

Aus beiden Versuchen geht hervor, daß der Ausfall der Kottmannschen Reaktion vom Komplementgehalt des Serums nicht abhängt. Trotz der erheblichen Unterschiede im Komplementgehalt finden sich keine Unterschiede im Belichtungsversuch. Auch andere gleichartig angestellte Versuche zeigten keinen Parallelismus zwischen Komplementgehalt des Serums und der Lichtempfindlichkeit im photochemischen Versuch. Zum gleichen Resultate führten Versuche nach Entkomplementieren des Serums mit fluoreszierender Substanz (Eosin). Von einer ausführlichen Beschreibung derselben sei abgesehen.

Noch eindeutiger scheinen Versuche zu sprechen, in welchen die Entkomplementierung des Serums durch Ab-

sorption der Komplemente durch Kasein vorgenommen wurde und in welchen das so entkomplementierte Serum im Belichtungsversuch eine schwächere Reaktion zeigte als das komplementhaltige. Ein Beispiel:

Serum des Patienten N. O., Ulcus ventriculi.

10 ccm des mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Serums werden mit 1 g Kasein (Merck-Hammarsten) versetzt, nochmals durchmischt, $\frac{1}{10}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen und hierauf durch ein dichtes Falterfilter filtriert. Zum Vergleich dient das ebenso verdünnte, nicht mit Kasein versetzte Serum.

Komplementauswertung.

| Serumverdünnung $\frac{1}{10}$ ccm | Ohne Behandlung | Mit Behandlung mit Kasein |
|---------------------------------------|--------------------|------------------------------|
| 1 | st. | schw. |
| 0,63 | " | Sp. |
| 0,4 | " | Sp.? |
| 0,25 | schw. | 0 |
| 0,16 | Sp. | 0 |
| 0,1 | Sp.? | 0 |
| 0,04 | 0 | 0 |
| 0,01 | 0 | 0 |

Belichtungsversuch.

| Abgelesen nach Minuten | Ohne Behandlung | Mit Behandlung mit Kasein |
|---------------------------|--------------------|------------------------------|
| 2 | 0 | 0 |
| 5 | Spur Bräunung | 0 |
| 15 | lichtbraun | 0 |
| 20 | braun | 0 |

Das komplementarme, mit Kasein vorbehandelte Serum gibt im Gegensatz zum komplementhaltigen nach 20 Minuten noch keine Braunfärbung. Das Umgekehrte wäre zu erwarten gewesen.

Die Reaktionshemmung durch Vorbehandeln des Serums mit Kasein ist ein konstanter Befund; Spuren von Kasein, die in das Filtrat übergehen, scheinen ihn zu bedingen. Schüttelt man nämlich destilliertes Wasser mit Kasein, filtriert und stellt mit dem Filtrat, welches übrigens mit Essigsäure keine Fällung gibt, die Kottmannsche Reaktion an, so kommt es hier viel langsamer zur Bräunung als in einer

Kontrolle, mit nicht vorbehandeltem destilliertem Wasser an- gestellt. Der Umstand, daß das Jodsilber alsbald ausflockt, hindert die Beobachtung dieser Verhältnisse nicht. Weitere Untersuchungen sollen diese Kaseinwirkung klären.

Geht schon aus diesen Versuchen mit Gewißheit hervor, daß der Ausfall der Kottmannschen Reaktion vom Kom- plementgehalt des Serums in keinerlei Weise abhängig ist, so läßt sich dies auch durch eine Komplementauswertung von frischen Seren, welche deutliche Unterschiede im Kottmannschen Versuche zeigen, zur Genüge erweisen. Verzögerte Bräunung geht keineswegs mit höherem Komplementgehalt einher. Im gleichen Sinne sprechen schließlich vergleichende Unter- suchungen von frischen und alten Seris, welche mehrere Wochen bei Zimmertemperatur gestanden waren. Alte Sera geben manchmal eine stark verlangsamte Reaktion. Und end- lich sei noch darauf hingewiesen — worauf ich später zu sprechen komme —, daß in nicht allzu seltenen Fällen frische, bei 56° $\frac{1}{2}$ Stunde hitzeinaktivierte Sera schwächer reagieren als das aktive Kontrollserum, entgegen den Angaben von Bauer und Schur.

Abgesehen von diesem Befunde der Irrelevanz des Kom- plements für die Belichtungsreaktion scheint mir durch diese Versuche auch erwiesen, daß Inaktivieren durch Hitze mit Entkomplementieren des Serums nicht gleichbedeutend ist, sondern daß neben der Vernichtung des Komplements der kolloidale Zustand des Serums bei den verschiedenen Seris jeweils in verschiedenem Maße im Sinne einer Dispergierungs- verminderung beeinflußt wird. Die kolloidale Zustandsände- rung mag den Komplementschwund bedingen; wie wenig aber das Komplement ursächlich mit dieser, im Kottmannschen Versuch nachweisbaren kolloidalen Zustandsänderung zu tun hat, beweisen z. B. Versuche, in denen alte, etwa 16 Tage bei Zimmertemperatur gestandene, also sicher komplementfreie Sera durch Hitze inaktiviert wurden und diese auch im Gegen- satz zur nicht erhitzten Kontrolle eine starke und beschleu- nigte Reaktion zeigten. Also beide Proben komplementfrei — und doch reagiert die erhitzte stärker.

Es ist klar, daß mir vor Klarlegung der Unabhängigkeit der Reaktion vom Komplement Versuche, in der Wasser-

mannschen Reaktion die Komplementbindung nicht durch sensibilisierte Blutkörperchen, sondern durch die Belichtungsreaktion nachzuweisen, mißlingen mußten. Ebenso führten Versuche, den positiven oder negativen Ausfall der Köhler-Lugerschen Modifikation der Meistagminreaktion von Ascoli und Izar mit der Kottmannschen Versuchstechnik nachzuweisen, zu keinem Ergebnis.

Ich muß nun auf einen Punkt zurückkommen, den ich schon gestreift habe: nicht alle Sera geben im hitzeinaktiven Zustande schnellere Bräunung. Die einen verhalten sich aktiv und inaktiv gleich, andere geben sogar inaktiv eine schwächere Reaktion.

Von 49 diesbezüglich untersuchten Seren reagierten 33 inaktiv deutlich stärker, 9 Sera verhielten sich aktiv und inaktiv gleich, 7 Sera gaben aktiv einen stärkeren Ausschlag. Von den erstgenannten, inaktiv stärker reagierenden Seren wurde eine größere Anzahl zum Teil frisch, zum Teil nach Stehenlassen durch mehrere Tage neuerdings untersucht, wobei sich ergab, daß die frisch wiederuntersuchten neuerdings inaktiv stärker reagierten, die gestandenen sich dagegen nicht selten im aktiven und inaktiven Zustande gleich verhielten. Eine weitere Untersuchung von 15 Seren, welche 3—57 Tage gelagert waren, ergab nun auch, daß nur 5 im aktiven, dagegen 4 im inaktiven Zustande, die restlichen aktiv und inaktiv gleich reagierten. Die Dauer des Lagerns ist dabei anscheinend für den Ausfall der Reaktion nicht maßgebend; gerade ein 55 und ein 57 Tage altes Serum reagierten inaktiv stärker.

Unter den 7 Seren, die sich aktiv stärker gebräunt hatten, befand sich 1 Diabetes, 2 Fälle von Hypertonie, 1 Myodegeneratio cordis und 3 Carcinome.

Die Ca-Sera verdienen eine eigene Besprechung. In jener Serie von 49 Seren wurden ihrer 6 untersucht. Nur eines davon reagierte inaktiv deutlich stärker, bei einem zweiten wurde wohl auch eine inaktiv stärkere Reaktion beobachtet, doch war der Unterschied so gering, daß er kaum verwertet werden dürfte. Ein Serum reagierte aktiv und inaktiv gleich, 3 Seren aktiv deutlich stärker. Wiederholungen der Reaktion

bei diesen Seren ergaben meist den gleichen Befund. Bei der verhältnismäßig geringen Anzahl von Nichtcarcinomseren, welche inaktiv den schwächeren Ausschlag gaben, muß dieser Befund bei den Ca-Seren auffallen. Die Untersuchungen diesbezüglich sind nicht abgeschlossen.

Daß inaktivierte Sera die Braunfärbung schneller und intensiver geben als aktive, war schon von vornherein zu erwarten, da sich beim Inaktivieren der Dispersitätszustand eines Serums im Sinne einer Verschiebung vom Sol- zum Gelzustand verändert, das Serum gröber dispers wird. Für die angeführten gegenteiligen Befunde, ebenso wie für den Umstand, daß gelagerte Sera, bei denen man ebenfalls eine Verschiebung zum Gelzustand erwarten würde, gelegentlich langsame Bräunung zeigen, vermag ich vorläufig keine Erklärung zu geben.

Was nun die Kottmannschen Befunde bei Schilddrüsenerkrankungen betrifft, so stand mir ein zu geringes Material entsprechender Fälle zur Verfügung, als daß ich diesbezüglich zu einem abschließenden Urteile gelangt wäre. Ich untersuchte einen Fall von Basedowoid und 4 Basedowfälle. Das Serum des Basedowoid gab im Kottmannschen Versuche die gleiche Reaktion wie 3 Normalsera (Ulcus, Lues, Gelenkrheumatismus). Unter den Basedowfällen reagierte einer, entgegen den Angaben Kottmanns, stärker als das Serum eines Tabikers und eines Emphysematikers, dagegen deutlich schwächer als eine Struma. In einem zweiten Fall bräunte sich das Serum eine Spur langsamer als im Kontrollserum (Lues). Im dritten Fall trat die Bräunung, konform den Angaben Kottmanns, langsamer auf als in einem normalen Kontrollserum; ein 2 und ein 8 Tage altes gelagertes Kontrollserum bräunte sich dagegen langsamer, ein Umstand, der aber gegen die Annahme eines höheren Dispergierungsvermögens des Basedowserums nicht sprechen müßte, da, wie wir oben gesehen haben, gelagerte Sera gelegentlich langsamer reagieren als frische. Ein viertes Basedowserum endlich zeigte eine sehr deutliche Verzögerung im Auftreten der Reaktion gegenüber den Kontrollen. Der Fall sei näher ausgeführt:

| Nach | Basedow | | Emphysem | | Bronchitis | |
|--------|----------|----------|-----------|---------|------------|-----------|
| | aktiv | inaktiv | aktiv | inaktiv | aktiv | inaktiv |
| 1 Min. | 0 | 0 | 0 | braun | 0 | braun |
| 3 " | 0 | 0 | Sp. | schw. | Sp. | " |
| 7 " | 0 | Sp. | dunkelbr. | . | " | " |
| 12 " | 0 | lichtbr. | " | . | braun | dunkelbr. |
| 20 " | lichtbr. | braun | schw. | . | " | " |

Das Basedowserum ist nach 20 Minuten erst lichtbraun gefärbt, während bei den Kontrollen die Bräunung bereits nach 3 Minuten einsetzt. Auch die inaktivierten Seren zeigen deutlich die prinzipiell gleiche Verschiedenheit, nur mit dem Unterschied, daß die Reaktionen bereits in kürzerer Zeit auftreten. Aus dem Versuch ist schließlich aber auch noch zu ersehen, daß auch Normalsera gelegentlich nicht unerhebliche Unterschiede in der Schnelligkeit des Auftretens der Reaktion geben können.

Von den 4 untersuchten Strumen gaben 2 den Angaben Kottmanns gerade entgegengesetzte Reaktionen. Im dritten Falle zeigte sich in der Reaktion des aktiven Serums gegenüber der aktiven Kontrolle kein Unterschied, wogegen sich das inaktivierte Strumaserum schneller und intensiver bräunte als das inaktive Kontrollserum. Im vierten Falle endlich zeigte das Serum deutlich die von Kottmann angegebene Beschleunigung der Reaktion gegenüber 3 Kontrollen.

Diese Befunde von Seris von Basedow- und Strumakranken sind wohl einerseits zu wenig eindeutig, um die Angabe Kottmanns stützen zu können, andererseits ist die Zahl der untersuchten Fälle aber auch viel zu gering, als daß die wenigen gegenteiligen Befunde die Kottmannsche Theorie zu erschüttern vermöchten. Immerhin aber glaube ich aus meinen Untersuchungen schließen zu dürfen, daß die Beschleunigung oder Verlangsamung des Auftretens der Reaktion bei den genannten Schilddrüsenerkrankungen keine konstante ist. Während eine Erklärung hierfür für die Basedowfälle schwer zu finden ist, so wäre dies bei Strumösen leichter verständlich. Strumen mit degenerativen Veränderungen, wie Cystenbildung, Bindegewebsinduration nach Blutungen oder Verkalkung usw., dürften sich funktionell wie

atrophische Schilddrüsen verhalten, und es ist nicht zu erwarten, daß in solchen Fällen die Kottmannsche Reaktion irgendwelche Ausschläge gibt.

Zusammenfassung.

Auf Grund meiner Untersuchungen komme ich somit zu dem Schlusse, daß die Kottmannsche Jodsilbermethode uns ein feines Maß für das Dispergierungsvermögen des Serums in die Hand gibt, daß die Methode jedoch, insbesondere hinsichtlich der zahlenmäßigen Wertung des Ausfalles der Reaktion, des Ausbaues bedarf. Die Angaben Bauers und Schurs, daß die inaktiven Sera stärker reagieren als die aktiven, kann ich im allgemeinen bestätigen, verweise aber auf die nicht unerhebliche Anzahl von Ausnahmen, unter diesen insbesondere auf die Carcinomsera. Eine Erklärung für diesen, manchmal beobachteten paradoxen Ausfall der Reaktion steht noch aus. Der Komplementgehalt des Serums ist für den Ausfall der Reaktion nicht maßgebend. Die Angaben Kottmanns bezüglich der Struma und Basedowseren bedürfen einer Nachprüfung an einem großen Material.

Literatur.

- Bauer und Schur, Sitz.-Ber. d. Ges. f. innere Med. u. Kinderheilk. in Wien, vom 20. Oktober 1921.
 Eder, Handb. d. Photographie, Halle 1906, 3. Aufl.
 Köhler und Luger, Wien. klin. Wochenschr., 1912, No. 29, 1913, No. 8.
 Kottmann, Schweiz. med. Wochenschr., 1920, No. 30, p. 644.
 Landsteiner und Stankovič, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, p. 353.
 Lichtwitz, Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 36, p. 1589.
 Lüppo-Cramer, Photograph. Korresp., 1905, p. 13.
 Müller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, 1911, p. 576.
 Sachs und Terriuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16.
 Schaum, zit. nach Eder.
 Scholl, zit. nach Eder.

**Zur Diskussion E. Wolffs in der Berliner mikrobiologischen
Gesellschaft (Sitzung vom 11. April).**

(Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 49, p. 1442.)¹⁾

Von **E. Weil** (Prag).

E. Wolff hat in der Diskussion zum Vortrag Friedberger die Behauptung aufgestellt, daß die Fleckfieberstämme 1 und 2, die wir rein von Kuczinski erhalten hatten, von uns „verschiedenartig bakteriell verunreinigt“ an K. zurückgesandt wurden. Es sei uns gestattet, zu diesem unsere Arbeitsweise herabsetzenden Vorwurf Stellung zu nehmen.

Am 30. Dez. 1919 hat Felix 4 Meerschweinchen (646, 649, 650, 652) nach Prag gebracht, die von K. am 27. Dez. mit dem Virus Virchow (von uns als Stamm 1 bezeichnet) infiziert worden waren). Der Stamm wurde von K. als rein bezeichnet, was auch durch die von Verf. und Felix durchgeführte Ueberimpfung auf weitere Tiere bestätigt werden konnte. Virus Reinickendorf (Stamm 2) wurde uns ebenfalls von K. übermittelt und wurde von ihm am 10. April 1920 auf 2 Meerschweinchen (975, 978) übertragen. Auf dem Begleitschreiben fand sich die Notiz: „Hier kann ich diesmal keine Gewähr für die Reinheit übernehmen.“ Kurz darauf teilte uns K. mit, daß dieser Stamm, da verunreinigt, zur Weiterimpfung ungeeignet sei. In der Tat wies auch M. 975 gleich am ersten Tage unserer Messung (am 13. April) Fieber auf, das bis zum 23. April, an welchem Tage das Tier starb, anhielt. Die Sektion ergab: „Leber und Milz von vielen großen Knoten durchsetzt (Pseudotuberkulose)“. Dahingegen zeigte das M. 978 eine fieberfreie Inkubation bis zum 15. April, wurde am 2. Fiebertage verblutet und das Gehirn auf weitere Tiere übertragen, die typische Fieberbewegungen aufwiesen. Die genau durchgeführte bakteriologische Untersuchung dieses Tieres ergab in Gehirn, Milz und Leber sterilen Befund. Es erwies sich sonach auch dieses Virus als rein, denn das an Pseudotuberkulose gestorbene Tier 975 war nicht durch das Virus, sondern schon von vornherein infiziert, ein Umstand, für den niemanden eine Verantwortung treffen kann.

Die Rücksendung der beiden Stämme an K. erfolgte am 27. Mai 1920 durch einen Kurier der deutschen Botschaft in Prag. Das Ausgangsmaterial des Stammes 1, mit dem die beiden an K. gesandten Meerschweinchen (125, 127, beide blau gefärbt) infiziert wurden, stammte vom

1) Mit Rücksicht darauf, daß die einschlägigen Arbeiten von Herrn Weil in dieser Zeitschrift erschienen sind, wurde die vorliegende kurze Mitteilung, die sich gegen Ausführungen von E. Wolff in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft richtet, in dieser Zeitschrift aufgenommen.

Gehirngemisch der Tiere 110, 111, 112, die am 26. Mai am 2. resp. 3. Fiebertage verblutet wurden, deren Leber und Milz sich kulturell steril erwiesen hatten. Gleichzeitig mit diesen beiden Tieren wurden zur Anstellung eines Kaninchenversuches 9 weitere Meerschweinchen (116–124) infiziert. Sämtliche Tiere wiesen eine 6-tägige völlig fieberfreie Inkubation auf. Bei 5 Tieren wurde die Entfieberung abgewartet, die nach 7 bis 8 Tagen eintrat; die im Fieberstadium getöteten Tiere hatten in Leber und Milz sterilen Befund. Die mit dem Gehirne dieser Meerschweinchen infizierten Kaninchen bildeten ausnahmslos Agglutinine gegen X 19.

Vom Stamme 2 (Reinickendorf) wurden ebenfalls 2 Meerschweinchen (229, 231, beide rot gefärbt) an demselben Tage an K. gesandt. Dieselben wurden nebst 3 anderen Meerschweinchen (230, 232, 233) am 26. Mai mit $\frac{1}{20}$ Gehirn von M. 227 infiziert, welches am 3. Fiebertage mit sterilem Milz- und Leberbefund verblutet wurde. Bei den M. 230, 232, 233 begann nach einem 6-tägigem, völlig fieberfreiem Intervall die Fieberperiode.

Wir haben zur damaligen Zeit die zur Uebertragung getöteten Tiere aus dem Grunde bakteriologisch untersucht, um uns vor einer Sekundärinfektion zu schützen, da wir den Literaturangaben, die dahin lauteten, daß die Fleckfieberinfektion Meerschweinchen besonders empfänglich für allerlei Sekundärinfektionen mache, Glauben schenkten. Andererseits hat Felix, um den X 19 in den Organen der infizierten Tiere zu finden, die subtilsten Methoden und die empfindlichsten Nährböden angewendet. Aber die Organe zeigten einen unheimlich negativen Befund.

Jeder mit Fleckfieberuntersuchungen vertraute Experimentator wird uns nach den vorangehenden Ausführungen zugestehen, daß wir unter allen nötigen und möglichen Kautelen die Impfung der an K. abgesandten Tiere vorgenommen haben, und jedermann wird es begreiflich finden, daß wir das Urteil von E. Wolff über den Zustand der beiden Fleckfieberstämme nicht als richtig anzuerkennen vermögen. Erst wenn uns E. Wolff darüber Aufschluß geben wird, ob er die bakteriellen Verunreinigungen bei den 4 von uns übersandten Tieren oder erst bei den von diesen ausgehenden Weiterimpfungen festgestellt, welche Bakterienarten er nachgewiesen hat — denn nur dann kann man sagen, ob es Keime gewesen sind, welche sich in den Organen halten und in den Passagen weiterschleppen — worin ferner das „atypische Fieber“ bestanden hat, ob es bei den originären Tieren oder erst bei den Uebertragungen aufgetreten ist und nach welchen Kriterien er schließlich die Reinheit eines Virus beurteilt, werden wir ersehen können, ob er nicht ungerechtfertigt den unsere Experimentierfähigkeit diskreditierenden Vorwurf erhoben hat. Die Bestätigung der Reinheit unserer Virusstämme durch Friedberger und Schiff bietet uns eine Genugtuung.

E. Wolff kann mir und meinem damaligen Mitarbeiter Felix schon zutrauen, daß wir eine bakteriologische Untersuchung durchführen, eine intraperitoneale Infektion und eine Temperaturmessung vornehmen können. Er kann überzeugt sein, daß auch wir atypische Temperaturen, deren Ursache meist nicht im Virus, sondern von vornherein im Tiere selbst

gelegen ist (siehe das von K. mit Pseudotuberkulose übersandte Meerschweinchen), erkannt hätten. Wir können E. Wolff die Versicherung geben, daß die beiden Stämme vom Anfang an bis zum heutigen Tage ohne Unterbrechung nur eindeutige Resultate ergeben haben, und wir können auf Grund von tausenden Temperaturmessungen, die wir eigenhändig vorgenommen haben und noch vornehmen, behaupten, daß dieselben rein und typisch sind und es in unseren Händen stets waren.

Bemerkung hierzu.

Von **E. Wolff**, Berlin.

Zu der nach Jahresfrist von Herrn Prof. E. Weil eröffneten Polemik bemerke ich kurz folgendes: Als Herr Friedberger in seinem Vortrage darauf hinwies, daß seine Fleckfieberstämme im allgemeinen wie auch im speziellen die ihm von Herrn Weil zur Verfügung gestellten und den letzten Untersuchungen zugrunde liegenden Stämme Unregelmäßigkeiten im Fieberverlauf zeigten, bemerkte ich in der Diskussion, daß unsere alten Fleckfieberstämme äußerst konstante und zuverlässige Fieberkurven aufwiesen, demnach das Verhalten der Friedbergerschen Stämme zum mindesten auffallend sei. Herr Weil wird diese Bedenken teilen müssen, da er ja selbst diese Bedeutung typischer Kurven hervorhebt und würde wohl auch selbst bei atypischem Fieberverlauf den Verdacht einer Mischinfektion geäußert haben. Diese Annahme lag in diesem Falle, wie ich dann weiter ausführte, um so näher, als uns die damals gleichzeitig von Herrn Weil freundlichst übersandten Fleckfieber-Meerschweinchen derselben Stämme nicht frei von bakteriellen Verunreinigungen waren. Jeder, der mit Meerschweinchen-Fleckfieber gearbeitet hat, weiß, wie ungemein häufig, besonders zu bestimmten Jahreszeiten, Mischinfektionen die Arbeit erschweren, hatten wir doch selbst monatelang darunter zu leiden (siehe u. a. auch die Angaben von Otto sowie von Oltzky), ohne daß daraus dem Experimentator auch nur der Schein eines Vorwurfs erwächst. Ich benutze gern die Gelegenheit zur öffentlichen Feststellung (nachdem wir in direktem Briefwechsel bereits demselben Gedanken Ausdruck gegeben haben), daß mir nichts ferner gelegen hat, als die allseitig anerkannte Autorität des Herrn Weil auf dem Gebiete der experimentellen Fleckfieberforschung damit irgendwie in Zweifel zu ziehen. Sachlich muß ich bemerken, daß gemäß unseren Protokollen von den vier Meerschweinchen, die uns übersandt wurden, zwei Stäbchen der Coligruppe aus den inneren Organen kultivieren ließen, während ein drittes an Pseudotuberkulose erkrankt war. Beim vierten zeigte sich erst in der Passage bakterielle Mischinfektion.

Schlußwort zu den voranstehenden Bemerkungen.

Von **E. Weil**.

Wir haben in unseren vorangehenden Ausführungen dargelegt, daß die von uns mit Fleckfiebervirus infizierten, an Kuczinsky abgesandten Meerschweinchen unter allen Vorsichtsmaßnahmen behandelt wurden und

haben, um über die Ursache der dort festgestellten Verunreinigungen zu gewinnen, an Wolff einige Fragen gerichtet. Leider hat uns Wolff nicht einmal mitgeteilt, mit welcher Methode er die Verunreinigungen nachgewiesen hat. Aber was wir aus seinen Darlegungen entnehmen, ist, daß von 4 Tieren 3 infiziert waren, 2 mit einem coliähnlichen Stäbchen und eines mit Pseudotuberkulose. Nachdem wir bereits auseinandergesetzt haben, daß die Organe der Tiere, von denen wir die Uebertragung vorgenommen haben, bei unserer Prüfung steril gewesen sind, nachdem unsere mit dem Gehirn dieser Tiere infizierten Meerschweinchen typische Reaktionen gezeigt haben, und nachdem auch uns auf der Platte eine Coliinfektion nicht entgangen wäre, so ist für uns die Frage, daß wir nicht mit Coli infizierte Tiere abgesandt haben, erledigt. Gibt doch Wolff selbst zu, daß beim 3. Tiere die bakterielle Infektion erst in der Passage aufgetreten ist, also von ihm hineingebracht wurde.

Wenn wir Herrn Wolff recht verstehen, so ist er der Ansicht, daß einem Autor nie ein Vorwurf daraus erwachsen kann, wenn er sein Virus sekundär verunreinigt, da dies für manche Jahreszeiten die Regel ist resp. „ungemein“ (?) häufig vorkommt. Es wäre um die experimentelle Fleckfieberforschung traurig bestellt, wenn es ein Experimentator nicht in der Hand hätte, sich vor Mischinfektionen, soweit sie durch die Infektion mit dem Virus bedingt sind, zu schützen. Wenn dies Wolff nicht gelingt, so können wir zu unserem größten Bedauern nicht umhin, ihm die Schuld daran beizumessen, ebensowenig als wir die von ihm als Gewährsmänner angeführten Otto und Oltitzky von dieser Schuld freisprechen können.

Sachliche Richtigstellung zu den Ausführungen von E. Wolff.

Von E. Friedberger.

Ohne in die vorliegende Polemik meinerseits noch einmal einzugreifen, zumal ich die Ausführungen des Herrn Wolff bereits in der Diskussion zu meinem Vortrag in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft vom 11. April 1921 (Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 49, p. 1443) zurückgewiesen habe, möchte ich heute nur folgende erneute sachliche Irrtümer des Herrn Wolff richtig stellen.

1) Wir haben nicht mit „Fleckfieberstämmen im allgemeinen wie auch im speziellen mit den von Herrn Weil zur Verfügung gestellten“ gearbeitet, sondern lediglich mit 2 Stämmen, die wir Weil verdanken.

2) Wir haben keine „Unregelmäßigkeiten im Fieberverlauf“ gesehen, sondern bis zum Abschluß unserer damaligen Versuche überhaupt nicht häufig genug eine derartige Temperaturerhöhung, daß wir geneigt waren, sie als Fieber zu deuten¹⁾. In unserem Vortrag (Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 13, p. 293) sprechen wir von der „unzuverlässigen und oft mangelnden Temperaturreaktion“ und keineswegs von „Unregelmäßigkeiten im Fieberverlauf“.

1) Ueber das spätere Verhalten unserer Tiere bezüglich der Temperaturreaktion sei auf eine demnächst erscheinende Arbeit verwiesen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Marburg
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Bonhoff).]

**Ueber Befreiung des Pockenimpfstoffes von
Begleitbakterien.**

Von **H. Krumbach.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. April. 1922.)

Der Pockenimpfstoff, wie er heute nach Zusatz von 80-proz. Glycerin und einmonatigem Lagern im Eisschrank gebrauchsfertig von den staatlichen Impfanstalten abgegeben wird, ist, wie die laufenden Untersuchungen am hiesigen Med. Untersuchungsamt erneut bestätigt haben, in den seltensten Fällen keimfrei, wenngleich in den seit Einführung der Kontrolluntersuchungen aller Lymphen (ab Juni 1921) eingegangenen 30—40 Proben bisher niemals pathogene Keime nach einem Monat Lagern gefunden wurden. Dem zurzeit geübten Verfahren der Lymphbereitung haften noch weitere Mängel an: einmal ist die Dauer der Behandlung des Impfstoffes, bis er verwendungsfähig ist — er soll weniger als 10000 Keime im ccm aufweisen — reichlich lange, da das Glycerin bei Eisschranktemperatur die Keime nur langsam abtötet; zum anderen sind die damit verknüpften Kosten recht hohe, da für gegebene Fälle immer ein größerer Vorrat lagern muß, der nach gewisser Zeit unbrauchbar wird. Das ausschlaggebende Moment in der Impffrage ist aber die Sicherheit des Volkes vor Seuchengefahr und bei Eintritt der Gefahr die unbedingte Bereitschaft zu Massenimpfungen. Heute ist nun das deutsche Volk mehr denn je der Gefahr einer Pockenepidemie ausgesetzt (durch Ausfallen der 2. Revakzination zu Beginn der Militärzeit, stärkere Volksbewegung aus dem stets verseuchten Osten, „offene Grenzen“ im Osten und Westen, ferner durch Zunahme der Impfgegner und Impfdrückeberger), und damit rückt die Frage der Beschaffungsmöglichkeit reich-

licher Mengen wirksamen Impfstoffes in kürzester Zeit mehr als früher in den Vordergrund. Für den Anhänger des Impfwzwanges teils belustigend, für jedermann aber äußerst belehrend sind die Mitteilungen, die Paul-Wien (1) und Malm-Christiania (2) über die Erfahrungen bei den Pockenepidemien der Jahre 1907 (Wien) und 1908 (Christiania) machten: die wildesten Impfgegner schwiegen vollkommen; unter Hintansetzung ihrer „Ueberzeugung“ ließen sie sich und ihre Kinder unauffällig impfen; bei dem schnell einsetzenden Mangel an Lymphe stieg die Panik stellenweise derart an, daß der Impfstoff, kaum dem Kalb entnommen, den Aerzten aus den Händen gerissen wurde.

Aus dem allgemein vorhandenen Bestreben heraus, den Pockenimpfstoff möglichst keimfrei und schnell verwendungsfähig zu gestalten, sind im Laufe der Zeit die verschiedensten Wege eingeschlagen worden. Rein mechanisch suchte man Zahl und Art der Keime schon zu beeinflussen durch Anlegen von Verbänden, die das Operationsfeld beim Kalbe gegen Infektion von außen schützen sollten. So hat Paul (3) in der Impfanstalt in Wien den Tegminverband erprobt und eingeführt. Die Tatsache aber, daß die Haut vor der Impfung niemals vollkommen sterilisierbar ist, da in den Tiefen der Porengänge immer Keime haften und virulent bleiben, gibt dieser Behandlungsart, insoweit dadurch eine Keimfreimachung der Lymphe erstrebt werden soll, nur beschränkte Bedeutung.

Weit früher schon, fast mit Beginn der Verwendung animaler Lymphe, ist man zur Anwendung chemisch wirkender Desinfizientien übergegangen und hat diese dem Impfstoff beigemischt.

Die gebräuchlichste Form ist die heute noch geübte Verreibung des Rohimpfstoffes mit Glycerinwasser (80-proz.). Die Wirkung des Glycerins, wie aller chemischer Desinfektionsmittel ist u. a. wesentlich abhängig von der Konzentration und der Temperatur, in der die Anwendung erfolgt. Da nun höhere Temperatur an sich schon das Pockenvirus schädigt, ferner die Wirkung des Glycerins in Temperaturen über 20° das Virus in kurzer Zeit vernichtet, ist man gezwungen, dieses Mittel im Eisschrank auf die Lymphe einwirken zu lassen, wodurch der gewünschte Erfolg, die Keimfreimachung, erst später (nach 1—4 Monaten, manchmal noch später) eintritt und die Kosten des Verfahrens sich erheblich steigern. Allerdings bleibt bei so geübter Desinfektion und Konservierungsmethode die Lymphe unter Umständen jahrelang impfkraftig.

Ein ähnliches Verfahren kommt mancherorts in den Tropen zur Anwendung. Colonel King (4) hat die Verminderung der Keimzahl in der Lymphe nach Verreibung des Rohmaterials mit Glycerin, mit Lanolin und Vaseline unter tropischen Verhältnissen geprüft. Danach sanken die Keimzahlen der Lanolinlymphe langsamer als die der Glycerinlymphe; der Keimgehalt der Vaselinelymphe blieb hoch, nahm wahrscheinlich zu. Die Lanolinlymphe hatte aber den Vorzug vor der Glycerinlymphe, daß sie in den Tropen länger virulent blieb. Dieserhalb ist Lanolinlymphe in den englischen Kolonien allenthalben im Gebrauch.

Der keineswegs ideale Desinfektionserfolg in der Glycerinemulsion hat zu Versuchen Veranlassung gegeben, die Wirkung des Glycerins zu steigern einmal durch physikalische Einflüsse, zum andern durch Zusatz weiterer desinfizierend wirkender Chemikalien. Im Jahre 1897 hat Lemoine (5) vorgeschlagen, die Glycerinlymphe 24—28 Stunden bei 37° im Brutschrank zu halten und dann in den Eisschrank zu bringen. Nachprüfungen dieses Verfahrens durch Negri, Frassi und Carini (6) haben aber ergeben, daß zwar nicht sofort, aber nach einigen Wochen eine Schwächung der Aktivität so behandelter Lymphe eintritt, was für die bei den Impfungen zu erstrebende Immunität keineswegs unbedenklich ist. In die Reihe der Angaben über Kombination von Glycerin mit anderen Desinfizientien gehören zunächst die Versuche von Blaxall, der 0,1-proz. Nelkenöl zu der 50-proz. Glycerinwasserlösung zusetzte. Auch hier liegen Nachprüfungen der über die Wirkung gemachten Angaben durch Meder-Köln (7) und Belin-Tours vor, die ergaben, daß nach 8 Tagen wohl eine wesentliche Keimverminderung, jedoch keine Keimfreiheit, diese auch nicht nach 2 Monaten erzielt war. Seiffert (8, 9) machte zur Glycerinemulsion einen Zusatz von Chinisol im Verhältnis von 3:1000, nach späteren Angaben von 1:1000, und erreichte so in 2—3 Wochen Keimfreiheit der Lymphe bei vollem Impfschnitterfolg. Chalybäus (7) hat das zur Lymphbereitung benutzte Glycerin dergestalt verdünnt, daß auf 6 Teile Glycerin 4 Teile Wasser und 0,1 Teil Karbolsäure kam (also 1-proz. Karbolsäurelösung). Die Lymphe blieb wirksam und die Nebenkeime verschwanden schneller. Nach Angaben von Möllers (10) hat Babes festgestellt, daß Pockenlymphe durch Zusatz von 0,5-proz. Karbolsäure nicht geschädigt wird, wohl aber durch 0,2-proz. Formalin.

Von einem anderen Gesichtspunkte ausgehend hat auch Heerwagen (11) schon Beiträge zur schwebenden Frage geliefert. Ihm lag daran, die Wirkung der gebräuchlichsten Desinfektionsmittel auf die Erreger der akuten Exantheme festzustellen, und dazu diente ihm Pockenlymphe als Testmaterial. Heerwagen zeigte, daß strömender Dampf das Vaccinevirus vollkommen abtötet. Einen Zusatz von 1:1000 Sublimat jedoch vertrug ein mit Glycerinwasser zur Emulsion verriebenes Lymphpulver ohne Schädigung des Virus; Kinder, die nach 6 Wochen mit solcher Lymphe geimpft wurden, zeigten vollen Impferfolg. Wurde jedoch der Sublimatgehalt gesteigert, so trat bald die Abtötung des Virus ein. Heerwagen konnte nachweisen, daß im ersten Falle das Hg des Sublimats

ganz an die organischen Substanzen der Lymphe als Quecksilberalbuminat gebunden war, während bei stärkeren Konzentrationen freies Sublimat in der Emulsion nachweisbar blieb, durch das die Abtötung des Virus eintrat. Demzufolge ist, wie auch spätere Untersuchungen von Geißler (12) und anderen erwiesen haben, Sublimat zur Lympfbereitung unbrauchbar; seine Wirkung schwankt zu sehr, je nach dem Gehalt der Lymphe an Eiweißkörpern. Karbolsäure wandte Heerwagen in der zur Desinfektion gebräuchlichen 5-proz. Verdünnung an. Lymphe, die nur wenige Stunden so behandelt war, erzeugte bei Kindern nur vereinzelt kümmerliche Pusteln. Leider fehlen zu den drei genannten Versuchsreihen die Angaben über Keimgehalt der Lymphe vor und nach der Einwirkung des Desinfektionsmittels.

Krumwiede (13) hat einen Zusatz von Brillantgrün zur Glycerinemulsion geprüft und für die Praxis empfohlen. Bei einer Verdünnung von 1:1000 dieses Anilinstoffes in der Lymphe ist diese nach 6-tägigem Einwirkenlassen bakterienfrei gewesen und soll im Tierversuch keine wesentliche Virulenzschwächung gezeigt haben. Bemerkenswert bleibt immerhin, daß der Lymphe beigemengte Tetanussporen auch nach 2 Monaten noch virulent waren. Ueber Impfversuche beim Menschen liegen keine Angaben vor.

Sodann hat Kirstein-Hannover (14), veranlaßt durch die mit den Derivaten der Chinaalkaloide in der Chirurgie erreichten Erfolge die Glycerinlymphe mit verschiedenen Abkömmlingen des Chinins versetzt und dabei recht günstige Ergebnisse sowohl hinsichtlich der Befreiung von Begleitbakterien wie auch der Erhaltung der Virulenz erzielt. Am brauchbarsten erwies sich ihm das Eucupinotoxinum hydrochloricum (Isoamylhydrocupreinatoxinbichlorhydrat), das in der Verdünnung 1:5000 die Lymphe in kurzer Zeit (etwa einer Woche) keimfrei machte, ohne daß eine Schädigung der Virulenz zu bemerken war. In den Arbeiten von Morgenroth und Tugendreich (15) war schon gezeigt worden, daß verschiedene Chinaalkaloide in ganz schwachen Konzentrationen imstande sind, in vitro die pathogenen Kokken bei 37° schnell abzutöten. Bier (16) und Klapp (16a) haben diese Beobachtungen zu praktischen Ergebnissen in der Wundversorgung ausgestaltet. Schaeffer (17) und Braun (18) haben die Wirkung verschiedener Chininderivate auf die Diphtheriebazillen geprüft und auch bei diesen Versuchen praktisch verwendbare Ergebnisse berichtet. Ferner ist durch Morgenroth und Bieling (19) die Beeinflussbarkeit des Gasbrandbazillus durch die genannten Präparate im Tierversuchen erwiesen worden. Endlich hat Morgenroth (20) selbst, den Gedanken Ehrlichs von der „Therapia sterilisans magna“ aufgreifend, die Chininderivate erforscht in ihrer Wirkung auf Trypanosomen und gefunden, daß manche Alkaloide auch dann noch eine abtötende Wirkung ausübten, wenn die Chininfestigkeit bei den Trypanosomen bereits eingetreten war, die Derivate also dem Ausgangsmaterial in der Wirkung wesentlich überlegen sind. Aus all diesen Befunden war herzuleiten, daß auch für die Keimfreimachung der Pockenlymphe die Chininderivate Be-

rücksichtigung finden konnten. Die Aussichten dieses Verfahrens werden im experimentellen Teil näher erörtert werden.

Außer den Bestrebungen, die Wirkung des Glycerins durch Beigabe eines zweiten Desinfektionsmittels zu steigern, kommen Versuche in Betracht, den Impfstoff ohne Glycerin sofort nach Abnahme vom Kalb oder Kaninchen durch andere Mittel keimfrei zu machen. Carini (6) verwandte zu dem Zwecke Toluol — das Mengenverhältnis ist nicht angegeben — und setzte nach erzielter Keimfreimachung Glycerin lediglich als Vehikel zu. Die Verimpfungen sollen keine Virulenzschädigungen ergeben haben. Green (21) leitete sterile Luft durch Chloroform und die entstehenden Chloroformdämpfe durch die Rohlymphe, die im Verhältnis 4:1 mit sterilem Wasser verdünnt war. Die Entfernung des Chloroforms geschah vermittels Durchleitens von steriler Luft; alsdann wurde Glycerin zugesetzt. Bei Nachprüfung des Greenschen Chloroformverfahrens, das heute noch in England im Gebrauch ist, durch Voigt (4) zeigte die Chloroformlymphe geringe Haftsicherheit, kürzere Dauer der Wirksamkeit und geringere Widerstandsfähigkeit gegen Einflüsse höherer Wärmegrade als die Glycerinlymphe. Auch Nijland (23) äußerte sich, daß die Chloroformlymphe wesentlich schwächere Wirkung als Glycerinlymphe habe, Camus (23) empfahl das Chloräthyl als besonders geeignet zur Herstellung eines keimfreien Kuhpockenimpfstoffes, da es sich wegen seines niederen Siedepunktes leicht aus dem Rohstoff wieder entfernen läßt. Nachprüfungen sind nicht mitgeteilt. Des weiteren hat Geißler (12) umfangreiche Versuche mit Wasserstoffsperoxyd angestellt. Durch 4tägiges Schütteln des mit dest. Wasser fein verriebenen Impfstoffes wird zunächst eine feinkörnige Emulsion geschaffen. Dann wird mit CO_2 , angesäuertes H_2O_2 zugesetzt und im Bruttofen bei 37° geschüttelt. Nach erfolgter Keimfreimachung wird die Kohlensäure durch Erwärmen ausgetrieben und das Wasserstoffsperoxyd durch Zusatz von Hepin in Wasser und Sauerstoff zerlegt, der Impfstoff also wieder von keimtötenden Beimengungen befreit. Die Lymphe soll virulent geblieben sein. Das Verfahren ist jedenfalls recht umständlich, kostspielig und nicht ungefährlich wegen des Auftriebes der Kohlensäure im Schüttelapparat.

In neuester Zeit hat Illert (24) Versuche mit Zusatz von 1 Proz. Trypaflavin zum Vakzinerohstoff mitgeteilt, aus denen hervorgeht, daß nach 24 Stunden bereits Keimfreiheit erreicht wurde. In der Virulenzprüfung nach 7 Wochen soll diese Lymphe der Glycerinlymphe ebenbürtig gewesen sein. Bei der Prüfung an idiotischen Kindern glaubt Illert feststellen zu können, daß diese Farbstofflymphe zusammen mit der Vakzination eine prophylaktische Wunddesinfektion ausübt.

Endlich hat Fornet (25 u. 26) in Verwertung einer von Fischer ausgesprochenen Idee ein Verfahren angegeben, die Rohlymphe durch Schütteln in Aether von ihren Begleitbakterien zu befreien und dann den Erreger unter anaëroben Verhältnissen weiter zu züchten. Rohlymphe im Mörser kurz verrieben, wird mit der 20-fachen Menge säurefreien Aethers im Schüttelapparat durchgeschüttelt; nach 20 Stunden war die Lymphe

vollkommen steril und nach Fornets Angaben im Tierversuch wie bei Verimpfung auf Menschen einwandfrei virulent. Die Aetherlymphe soll „monatelang, wahrscheinlich auch jahrelang vollkommen steril und impfkraftig bleiben“. Fernet behauptet, daß diese Aetherlymphe, mit steriler Bouillon übergossen, auch bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden könne und dabei gleich wirksam wie Glycerinlymphe bleibe. Selbst eine 120 Stunden dauernde Behandlung mit Aether soll das Vaccinevirus nicht abgetötet haben. Lymphhe, die nach Entziehung des Aethers längere Zeit in Bouillon bei 37° gehalten wurde, blieb im Tierversuch virulent. Allerdings wurde neben den Aetherlymphproben auf dem gleichen Versuchstier (Kalb noch Glycerinlymphe „zur Kontrolle“ verimpft, ein Verfahren, das hinsichtlich der Beweiskraft schon von Ponnendorf und Zöppritz (7) beanstandet wurde und sicherlich nicht unbedenklich ist. Fornets Angabe, daß bei Kindern eine in verschiedenen starken Verdünnungen auf den gleichen Arm verimpfte Lymphhe verschieden geartete Pusteln erzeugt, ist zu wenig nachgeprüft und braucht sich nicht ohne weiteres im Tierversuch analog zu gestalten. Nur bei einem Versuch betont Fernet, daß er ausschließlich Aetherlymphe bzw. Lymphkulturen verimpft habe, aber mehrere Sorten auf ein Tier.

Bei der Prüfung von Lymphhe, die nach obigem von Fernet als „Grundversuch“ bezeichneten Verfahren tatsächlich bakterienfrei geworden war, haben nach den vorliegenden Äußerungen bisher nur zwei Forscher, Paschen und Groth (7) regelmäßig volle Impferfolge erzielen können; das Alter der Lymphhe ist allerdings nicht angegeben. Gins (27) spricht sich nach anfänglich günstigen Erfolgen später auf Grund genauerer Prüfung der Aetherlymphe dahin aus, daß der von Fernet zur Entkeimung empfohlene Aether das Virus der Vakzine in mehr oder weniger kurzer Zeit regelmäßig schädigt, dasselbe mehrmals sogar innerhalb 24 Stunden abtötete. Ein gleichfalls ablehnendes Verhalten gegenüber dem Aetherverfahren nehmen noch verschiedene andere Forscher wegen der entstehenden Virulenzschädigung ein; genannt seien nur Seiffert (28) und Voigt, die in umfangreichen Versuchen nachprüften. Zu gleichem Ergebnis führte auch die Auswertung des Verfahrens durch das Reichsgesundheitsamt (30).

Um so merkwürdiger ist es, das Fernet angibt, auf dem Boden dieses „Grundversuches“ weiterbauend aus der bakterienfreien Aetherlymphe anaérobe Kulturen in Bouillon, Rinderserum und Gelatine angelegt und vermittels solcher den Erreger in Reinkultur weitergezüchtet zu haben dergestalt, daß in der 9. Passage die Verimpfung auf das Kalb Papeln erzeugt habe, die in der Weiterimpfung schöne Impfpusteln ergaben. Zum Beweise, daß es sich nicht um reine Uebertragung den Virus von der Oberfläche des Nährbodens aus einem Röhrchen in das andere handele, führt Fernet an, daß die Kulturen vor der Ueberimpfung immer reichlich geschüttelt wurden; daß ferner einzelne Passagen im Tierversuch negativ waren, während die nächsten Generationen positiven Erfolg zeigten; daß endlich bei jedesmaliger Uebertragung von einer Oese Lymphkultur in der

9. Passage 1:1000 Billionen des Ausgangsmaterials vorhanden sein mußte, eine Glycerinlymphe aber vergleichsweise in Verdünnung 1:1000 kaum noch Schnitterfolge aufweist. Demzufolge nimmt Fornet an, daß eine Vermehrung des Virus im Reagenzglas stattgefunden habe. Die Nachprüfungen der Fornetschen „Reinkulturen des Pockenerregers“ sind wenig aussichtsreich ausgefallen. Chalybäus, Jakobsthal, Groth und Gins (7) vermochten trotz wiederholter Versuche weder den Erreger weiter zu züchten, noch mit den überlassenen Reinkulturen Impferfolge zu erzielen. Nur Paschen (7) gelang es nach 5 vergeblichen Versuchen einmal aus einer Bouillonkultur auf Kaninchen am 4. Tage flache Papeln festzustellen, die in der Weiterimpfung regelrechte Lapine erzeugten.

Aus der Reihe vielseitiger Versuche, keimfreie Lymphe herzustellen, seien noch einige Methoden erwähnt. Friedberger und Mironescu (31) haben aus dem Erfolg, den die Einwirkung ultravioletter Strahlen auf die im Trinkwasser enthaltenen Keime ausübt, Veranlassung genommen, das gleiche Verfahren bei dem Pockenimpfstoff in Anwendung zu bringen. Vakzine- und Lapine-Rohstoff wurden in der Verdünnung 1:10 mit physiologischer NaCl-Lösung zu feiner Emulsion verrieben, durch Papier filtriert und das Filtrat $\frac{1}{4}$ Stunde lang ultravioletten Strahlen ausgesetzt. Der Impfstoff war nach den gemachten Angaben keimfrei und blieb wirksam, Die Prüfung der Virulenz erfolgte beim Kaninchen auf dem Rücken und der Cornea sofort nach der Bestrahlung und 4 Wochen später. Hervorzuheben ist, daß in der genannten Zeit ($\frac{1}{4}$ Stunde) auch Sporen von Milzbrand und Subtilis abgetötet wurden. Bei einer Nachprüfung der so behandelten Lymphe durch E. Mayerhofer (39) erwies sich die Wirksamkeit bei Kindern als ganz wesentlich abgeschwächt; Voigt fand eine vom Autor selbst bezogene Lymphe vollkommen unwirksam. Ein endgültiges Urteil über die Bestrahlungsmethode bleibt weiteren Versuchen vorbehalten.

Conradi (7) bediente sich gewisser Kohlenwasserstoffe zur elektiven Gewinnung des reinen Virus. Er ging dabei von folgender Beobachtung aus: Gibt man zu einem Gemisch von Staphylokokken, Heubazillen und Di-Bazillen eine Kohlenwasserstoffverbindung, z. B. Petroläther und schüttelt einige Zeit, so finden sich nach dem Absetzen des Petroläthers, die Di-Bazillen an der Grenzschicht des Petroläthers, während die Staphylokokken und Heubazillen im Wasser zurückbleiben. Conradi ging nun so vor, daß er verdünnte Pockenlymphe mit Petroläther, Pentan, Benzin und Chloroform schüttelte. In die nach dem Abscheiden überstehende Kohlenwasserstoffverbindung tauchte er einen mit Watte umwickelten und mit sterilem Oel befeuchteten Stab ein, brachte diesen zuerst in Bouillonröhrchen zwecks Gewinnung von anaëroben und aëroben Kulturen und beimpfte dann mit dem Stabe ein Kaninchen. In jedem Falle zeigten die Kaninchen Impfpapeln, die Bouillonröhrchen blieben steril. Das Virus war also ohne Begleitbakterien im Kohlenwasserstoff vorhanden. Conradi nimmt an, daß das Pockenvirus eine lipidartige Membran besitzt.

Paul (32) hat versucht, das vakzinale Virus auf mechanischem Wege rein zu gewinnen, indem er gewöhnliche Glycerinlymphe mit Wasser verdünnte, das Gemisch in einem eigens konstruierten Apparate, der zu

gleich zentrifugiert und filtriert, durch sterile Asbestwolle und dann im gleichen Apparat durch Kolloid-(Ultra-)filter schickte. Mit dieser Filterlymphe angestellte Impfungen bei Menschen und Kälbern ergaben gleich gute Resultate, wie solche mit der gebräuchlichen Glycerinlymphe. Nachprüfungen des Verfahrens sind nicht veröffentlicht.

Ferner liegen noch tastende Versuche vor, mittels biologischer Methoden das Pockenvirus rein zu gewinnen. So haben Calmette und Guérin (33) Vaccine in die Bauchhöhle des Kaninchens eingespritzt in der Erwartung, daß durch Phagozytose der Impfstoff keimfrei werde. Noguchi (34) verimpfte die Lymphe in die Hoden von Kaninchen und Bullen und konnte, wenn er jeden 5. Tag weiter verimpfte, durch eine Reihe von Tieren das Virus wirksam erhalten. Hierbei zeigte sich sogar in höheren Passagen eine Steigerung der Virulenz des Impfstoffes. Praktische Bedeutung für das Impfgeschäft kommt diesen Versuchen vorab kaum zu. Im gleichen Sinne sei ein Versuch Knöpfelmachers (35) nur erwähnt. Knöpfelmacher hat Impfstoff 30 Minuten lang auf 58° erhitzt und dann Kindern je 0,5–1,0 g subkutan injiziert. Bei 7 von 9 so behandelten Kindern entstand an der Impfstelle eine Papel. Vom 9. Tage ab waren die Kinder gegen Nachimpfungen immun. Das Verfahren ist durchaus nicht unbedenklich je nach Art der Lymphe bzw. ihrer Begleitbakterien, da bei der angewandten Behandlung des Impfstoffes längst nicht alle Erreger abgetötet werden.

Zu den eigenen Versuchen wurde Lapine und Vakzine verwandt, letztere meist als Rohimpfstoff von der preußischen Impfanstalt zu Kassel freundlichst überlassen — an dieser Stelle sei dafür Herrn Medizinalrat Dr. Meder nochmals bestens gedankt —, erstere durch Verimpfung von Kasseler Gebrauchslymphe gewonnen und weiter verimpft. Zu den Impfversuchen wurden vorwiegend weißhaarige Kaninchen oder Schecken, später auch mit gutem Erfolg hasen- und dunkelfarbige Kaninchen verwandt. In Größe der Handfläche wurde die Rückenhaut geschoren, mit Calcium sulf. hydr. (Merck) vollkommen enthaart, die Haut mit lauwarmem Wasser mehrmals abgewaschen und das so hergerichtete Impffeld mit lauwarmer 1-proz. Karbolsäurelösung desinfiziert. Dann wurde mit steriler physiologischer NaCl-Lösung gründlich nachgespült, abgetrocknet, die Epidermis durch Skarifikation in parallelen Schnitten von 1½ cm Abstand in der Längs- und Querrichtung des Körpers eröffnet und die Lymphe mit einem Glasstab oder Impfskalpell unter Anspannung der Haut ein gerieben. Die Tiere wurden nach der Impfung einzeln, in getrennten, jedesmal desinfizierten Käfigen aufbewahrt.

Nach 4 Tagen entwickelten sich in den Impfschnitten bei Verwendung guter Lymphe kräftige, linsengroße, 2—3 mm erhabene Papeln, manchmal auch Pusteln, die vom 2.—6. Tage an in Borkenbildung übergehen. Der Impfstoff wurde meist am 5. Tage nach Abwaschen des Impffeldes mit 1-proz. Karbolsäurelösung und Abspülen mit physiologischer NaCl-Lösung mittels eines scharfen Löffels entnommen und gegebenenfalls sofort verarbeitet. Manchmal wurde absichtlich der Rohstoff erst einige Zeit im Eisschrank aufbewahrt, damit die Keime noch zahlreicher wurden, um bei den nachfolgenden Desinfektionsversuchen den wirklichen Verhältnissen bei der Lymphgewinnung unter allen Umständen entsprechende, tatsächlich meist wohl noch ungünstigere Bedingungen erfüllen zu müssen und damit Zufallsbefunden zu entgehen. — Die Impftiere zeigten vom 2.—6. Tag geringen Temperaturanstieg; Gewichtsabnahme war selten festzustellen. Bei jeder Lymphprobe wurde möglichst bald nach der Entnahme, sowie direkt vor dem Ansetzen eines Versuches die Keimzahl festgestellt, dergestalt, daß mit steriler Pipette etwa 1,0 ccm des Materials aufgezogen, davon 0,4 in das Gefäß wieder zurückgegeben, dann 0,1 ccm Material zu 0,9 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung gegeben und der Rest in das Gefäß zurückgebracht wurde. In dieser Art wurden die Verdünnungen 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 und bei Bedarf noch 1 : 10000 hergestellt, und davon mit je 0,1 ccm Agarplatten gegossen. Die Zählung der Keime erfolgte meist am 4. Tage mittels der Wolfhügelschen Zählkammer, manchmal unter Zuhilfenahme einer Lupe.

Hinsichtlich der praktischen Verwendungsmöglichkeit der Lapine liegen Untersuchungen vor, die kurz erwähnt seien.

Voigt (36) hat gefunden, daß Lapine bei Erstimpfungen bessere Impferfolge zeigt als bei Wiederimpfungen. Bei Weiterimpfung auf Kaninchen ergab sie auch in der 10. Passage noch gute Papeln; alsdann wieder auf Kälber gebracht, zeigte sie 95 Proz. Schnitterfolg. Ferner ist bekannt, daß Lymphe durch Weiterimpfung auf Kaninchen eine wesentliche Steigerung ihrer Virulenz für Menschen und Kalb erfährt, eine Tatsache, von der im Impfstoffgewinnungsgeschäft ausgiebig Gebrauch gemacht wird, um Lymphstämme, die in der Kälberpassage abgeschwächt sind, wieder aufzufrischen. Bei unseren Versuchen konnte die Virulenzsteigerung erneut bestätigt werden. Ueber weitere Beziehungen zwischen der Virulenz der Lymphe für das Kaninchen und für den Menschen haben Calmette und

Guérin (33) sich in dem Sinne geäußert, daß sich die Lymphe, die auf Kaninchen nicht wächst, bei der Verimpfung auf Kinder doch als virulent erweisen kann. Sie schließen daraus, daß Lymphe, die bei Kaninchen wächst, bei Kindern immer virulent ist.

Es wurde zunächst das Fornetsche Aetherverfahren einer Nachprüfung unterzogen:

Am 27. II. 20 werden 0,555 g Lapinerohstoff von Kaninchen No. 1 mit 4,5 ccm NaCl-Lösung im Mörser verrieben. Die Keimzahl dieser Stammlösung beträgt 120 000 pro ccm. Im Schüttelapparat werden bei Zimmertemperatur (12° C) zwei Gläser mit je 1 ccm Stammlymphe und 20 ccm Aether, der auf Säurefreiheit nachgeprüft ist, geschüttelt. Nach 11 Stunden wird ein Glas im Vakuum vom Aether befreit, das zweite dergleichen nach insgesamt 24 Stunden. Beide Lymphproben erweisen sich aerob und anaerob als bakterienfrei. Sofortige Verimpfung beider Proben auf je ein Kaninchen (No. 2 und 3) ergibt keinerlei Anzeichen von Pocken.

Am 8. IV. 20 wird der Versuch in gleicher Anordnung mit Kälberlymphe wiederholt, die frisch aus einer anderen Versuchsreihe gewonnen ist. Nach 12stündigem Durchschütteln mit Aether kommen aus einer Oese Material 9 Keime (Staphylococcus citreus und gramnegative Staphylokokken) zur Entwicklung. Nach 24stündiger Behandlung ist die Lymphe steril. Diesmal wird versuchsweise ein Kaninchen (No. 7) auf der rechten Rückenseite mit Aetherlymphe, auf der linken mit anderer Lymphe beimpft. Am 4. Tage sind auf der linken Seite 10 kräftige Papeln mit schönen Dellen, rechts eine starke Pappel in der Nähe der Mittellinie zur Entwicklung gekommen. Alle anderen Impfschnitte der rechten Seite sind reaktionslos geblieben.

Am 13. III. 21 wurden abermals 2,41 g Vakzinerohstoff, der frisch aus Kassel bezogen ist und sich im Impfversuch auf Kaninchen als sehr kräftig erweist, mit Aether keimfrei gemacht, was nach 30-stündigem Schütteln erst erreicht ist, da nach 24stündiger Einwirkung des Aethers noch Sarcinen zur Entwicklung kommen. Sofortige Verimpfung der Lymphe auf ein weißes Kaninchen (No. 21) ergibt negatives Resultat.

Die Kaninchen No. 2, 3 und 21 werden etwa 2 Wochen nach der Impfung mit Aetherlymphe mit einer anderen Lymphsorte beimpft, wobei No. 2 und 21 gute Erfolge zeigen in Gestalt von normal entwickelten Papeln, No. 3 bleibt negativ.

Auf Grund der wenig ermutigenden Ergebnisse dieses „Grundversuchs“ wurde davon abgesehen, nach Fornets Angaben Kulturen des Pockenerregers aus Aetherlymphe anzulegen.

Wir konnten also in unseren Tierversuchen die Angaben Fornets hinsichtlich der Erhaltung der Virulenz in der Aetherlymphe keineswegs bestätigen. Immerhin wäre ja noch möglich, daß eventuelle

sofortige Verimpfung der Aetherlymphe auf Kinder ein besseres Ergebnis gezeitigt hätte. Jedenfalls erweist demgegenüber der Tierversuch, daß die Aetherlymphe an Virulenz wesentlich eingebüßt hat, wahrscheinlich dergestalt stark abgeschwächt ist, daß sie bei weiterer Aufbewahrung bald unbrauchbar und der notwendige Impfschutz nicht genügend gewährleistet wird. Das Verfahren an sich beansprucht eine ziemliche Apparatur und beträchtlichen Energieverbrauch, ist also recht kostspielig. Alle diese Momente berechtigen wohl zu der Ansicht, daß das Fornetsche Aetherverfahren für die Praxis unbrauchbar ist.

Die Nachprüfung der Kirsteinschen Angaben gestaltete sich folgendermaßen:

Zunächst wurde festgestellt, ob und wann die Wirkung von Eucupinotoxinum hydrochlor. (abgekürzt Eucup.) in der angegebenen Verdünnung von 1:5000 die Befreiung von Begleitbakterien in der Lymphe erreicht. In der Versuchsanordnung verfahren wir so, daß Lapine- oder Vakzinerohmaterial mit etwas physiologischer NaCl-Lösung im Mörser gründlich verrieben, sodann mit 80-proz. Glycerinwasser verdünnt (auf 1 Teil Rohstoff 4 Teile Glycerinwasser), abermals verrieben und durch Porzellansieb geschickt wurde. Dann wurden Platten gegossen zwecks Festlegung der Keimzahl und die Lymphe mit wässriger Eucup.-Lösung entsprechend einer Endverdünnung von 1:5000 versetzt. Sie blieb so 4 Tage bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen, wurde täglich mehrere Male umgeschüttelt und am 5. Tage mit Sodalösung inaktiviert, d. h. es wurde so lange tropfenweise eine schwache Sodalösung zugefügt, bis eine Spur Blaufärbung des roten Lackmuspapieres eintrat. Dann kam die Lymphe in den Eisschrank. Auf diese Weise wurden geprüft am 16. II. 20 3 Lapineproben (Op. No. 18, 19 und 20), die bei Beginn des Versuches im Mittel 4300000 Keime enthielten. Am 23. II. 20, also nach 7 Tagen, kamen aërob wie anaërob keine Keime mehr zur Entwicklung; Nachprüfung am 25. II., 1. III. und 15. III. ergibt gleiches Ergebnis. Die Verimpfung der Lymphe Op. No. 18 Kaninchen No. 6 ergibt am 26. III. 20 (also nach etwa 5 Wochen) kräftige Impfpusteln in allen Schnitten. Die Pocken werden abgenommen, die daraus bereitete Rohlymphe

weist im Mittel 42 000 Keime pro Kubikzentimeter auf (gram-negative Staphylokokken und *Sarcina alba*). Der Versuch wird wiederholt in Op. No. 39 und 40. Der dazu gebrauchte Rohstoff wurde im Institut einem Kalbe entnommen und gleichzeitig zur Bereitung von Aetherlymphe verwandt (Keimgehalt 960 000 Keime pro Kubikzentimeter). Die Eucup.-Vakzine Op. No. 39 und 40, hergestellt am 7. IV. 20, waren am 12. IV. aërob und anaërob keimfrei, desgleichen bei den Prüfungen am 27. IV. und 28. V. 20. Die Verimpfung von Eucup.-Vakzine 40 auf Kaninchen No. 7 am 13. IV. 20 ergab am 18. IV. auf der ganzen Impffläche kräftig entwickelte Pockenpusteln mit großen Dellen. Erneut verimpft am 29. V. 20 (also 7 Wochen alte Lymphe) auf Kaninchen No. 10, zeigt die Lymphe keinerlei Abschwächung, die Pusteln sind kräftig und in allen Impfschnitten reichlich entwickelt. Der Versuch wurde in gleicher Anordnung noch mehrmals zusammen mit anderen Kontrollversuchen wiederholt (Op. No. 90, 94, 100, 101 und 108). Die Ergebnisse hinsichtlich der Keimabtötung waren die gleichen: Am 7., spätestens am 8. Tage war jede Lymphprobe bei Eucup.-Zusatz in Verdünnung 1:5000 vollkommen frei von Begleitbakterien.

Es schien wissenswert, wie sich in der Frage der Keimtötung die Eucup.-Lymphe zur Glycerinlymphe verhält. Der in den Versuchen der nachstehenden Tabelle I verwandte Lapinerohstoff (von Kaninchen No. 17), entnommen am 8. II. 21, enthielt am 16. II. 21 im Kubikzentimeter über 500 Millionen Keime. Op. No. 94 enthält Glycerinlymphe mit Eucup. in Verdünnung 1:5000, No. 95 ist die gebräuchliche Glycerinlymphe ohne Zusatz, No. 96 ist Rohstoff mit Eucup. in Verdünnung 1:5000 (ohne Glycerin). Es wurden folgende Keimzahlen ermittelt:

Tabelle I.

| Datum | No. 94 | No. 95 | No. 96 |
|------------|------------|-------------|---------------|
| 16. II. 21 | 31 760 000 | 221 000 000 | 573 000 000 |
| 17. II. | 40 000 | 238 000 000 | 428 000 000 |
| 18. II. | 3 700 | 135 000 000 | 412 000 000 |
| 20. II. | 210 | 125 000 000 | 2 160 000 000 |
| 21. II. | 150 | 20 707 000 | 2 400 000 000 |
| 22. II. | — | 23 500 000 | 3 110 000 000 |
| 25. II. | — | 21 333 000 | 4 230 000 000 |

Die Eucup.-Lympe verliert demnach ihre Begleitbakterien in 6—7 Tagen, während das Glyzerin in 9 Tagen nur eine Verminderung auf den zehnten Teil der Keime erzielt. Der Zusatz von reinem Eucup. in Verdünnung 1:5000 zum Rohstoff erweist 2—3 Tage lang eine geringe Senkung der Keimzahlen, nach 9 Tagen ist jedoch eine Anreicherung um etwa das Achtfache des ursprünglichen Keimgehaltes festzustellen.

Weitere Versuche sollten darüber Aufschluß geben, in welcher Eucup.-Konzentration die Lympe noch wirksam bleibt.

Am 11. VI. 20 wurde in Op. No. 82 und 83 ein Vakzine-rohstoff, der am 26. V. 20 bereits entnommen war und zu Beginn der Versuche 14360000 Keime im Kubikzentimeter enthielt, zu Glyzerinemulsion mit Eucup.-Zusatz im Endverhältnis 1:800 verarbeitet. Vollkommene Keimfreiheit war am 5. Tage zu erweisen. Die nach 4 Wochen (am 13. VII. 20) erfolgte Verimpfung auf Kaninchen No. 13 ergab positives Resultat; in allen Impfstrichen kamen mittelstarke Papeln zur Entwicklung. In gleicher Weise, also 4 Monate nach der Herstellung, mit Lapine 100 vorgenommene Impfung in den Hoden (Verfahren von Noguchi) bei Kaninchen No. 31 positiv, wie die Weiterverimpfung ergab.

Hatte so der Tierversuch die Impfkraft der Lympe nach 3 Monaten noch ganz eindeutig erwiesen, so durfte daran gedacht werden, Impfungen beim Menschen vorzunehmen.

Mit Vakzine 101, die am 7. III. 21 aus Kasseler Rohstoff hergestellt war (Eucup. 1:5000), konnten am 18. VI. 21 durch dankenswertes Entgegenkommen von Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Hildebrand in Marburg 32 Schulkinder eines Impftermins erstmalig revakziniert werden. Die Nachschau am 25. VI. ergab einen vollkommenen Impferfolg bei allen Kindern; bei 21 Kindern gingen alle 4 Schnitte an, bei 6 Kindern je 3, bei 3 Kindern je 2 und bei 2 Kindern je 1 Schnitt. Es wurde also ein Schnitterfolg von 85,9 Proz. erzielt. Zum Teil waren, besonders bei den Kindern mit nur 1—3 erfolgreichen Schnitten, kräftige Pusteln entwickelt. Ein Erstimpfling (12 Jahre alt) zeigte sehr schöne Impfpocken. Die

übrigen Erstimpflinge des Termins wurden mit Kasseler Glycerinlymphe geimpft. Der persönliche Erfolg war hier etwa 75 Proz., der Schnitterfolg 50 Proz. Eine kurze Zeit vorher mit gleicher Vakzine 101 probeweise vorgenommene Impfung von 6 Schulkindern, die ohne Erfolg mit Lymph aus der Kasseler Impfanstalt revakziniert waren, ergab 100 Proz. Schnitterfolg mit teilweise recht kräftiger Pustelbildung.

Am 24. VI. 21 unterzogen sich in entgegenkommender Weise 13 Studenten einer Impfung mit Lapine 100. Die Ergebnisse sind in Tabelle II niedergelegt.

Von den 13 Personen waren 10 bereits zweimal revakziniert, deren letzte Impfung lag im Mittel 3 Jahre zurück. Von diesen 13 Personen wiesen 6 vollen Schnitterfolg auf, 3 reagierten in je 3 Impfschnitten, eine Impfung blieb erfolglos, auch in zweiter Impfung mit Kasseler Glycerinlymphe, die letzte Impfung lag $\frac{3}{4}$ Jahr zurück. Bei No. 4, 5 und 7 zeigte sich schöne Pustelbildung.

Tabelle II.

| Namen | Alter | Letzte Impfung vor | Pos. Schnitte | Namen | Alter | Letzte Impfung vor | Pos. Schnitte |
|-----------|----------|--------------------|---------------|-----------|----------|--------------------|---------------|
| 1. W. B. | 20 Jahre | 2 1/2 Jahr. | 4 | 8. H. R. | 37 Jahre | 3 Jahren | 4 |
| 2. H. B. | 20 " | 2 " | 4 | 9. H. St. | 19 " | 3 " | 4 |
| 3. Fr. G. | 28 " | 1 1/2 " | 3 | 10. R. J. | 21 " | 3 " | 3 |
| 4. A. B. | 19 " | 10 " | 4 | 11. F. G. | 21 " | 3/4 " | — |
| 5. W. T. | 20 " | 8 " | 4 | 12. K. B. | 28 " | 4 " | 4 |
| 6. H. V. | 21 " | 3 " | 3 | 13. H. K. | 33 " | 5 " | 4 |
| 7. B. L. | 19 " | 7 " | 4 | | | | — |

Diese Versuche an Tieren und Menschen dürften dartun, daß Eucup. in Verdünnung 1:5000 die Virulenz der Lymph innerhalb 3—4 Monaten unverändert läßt. Aus anderen Versuchen, die hier nicht im einzelnen wiedergegeben seien, ergab sich, daß höhere Verdünnungen wesentlich langsamer und unregelmäßiger die Keimbefreiung vollziehen. Im Hinblick auf das gesteckte Ziel wurden diese Versuche deshalb abgebrochen.

Bald schaffte sich ein neuer Faktor Beachtung, nämlich die Tatsache, daß die Eucup.-Lösung frisch verwandt werden muß, da sie nach längerem Stehen wesentlich an Wirkung einbüßt. In Tabelle III sind die Ergebnisse mit verschiedenen Proben desselben Rohstoffes in den erhaltenen Keimzahlen niedergelegt. In den Op. No. 90, 91 und 92 wurde Lapine verwandt, die am 26. I. 21 von Kaninchen No. 16 entnommen, am 27. I. 21 als Rohstoff 60 Millionen Keime enthielt. No. 90 war Eucup.-Glyzerinlymphe in der üblichen Verdünnung des Eucup. 1:5000, No. 91 enthielt 1 ccm Rohlymphe, 1 ccm Glyzerinwasser und Eucup. im Verhältnis 1:5000, No. 92 enthielt Rohstoff und Eucup. in Verdünnung 1:2000, also kein Glyzerin. In den drei Versuchen wurde Eucup. verwandt, das in der Verdünnung 1:200 in brauner Flasche etwa ein Jahr im Laboratorium gestanden hatte. Das Ergebnis war folgendes (Beginn des Versuches am 27. I. 21):

Tabelle III.

| Datum | No. 90 | No. 91 | No. 92 |
|------------|------------|-----------|------------|
| 31. I. 21. | 15 000 000 | 6 440 000 | 50 000 000 |
| 1. II. | 13 220 000 | 4 933 000 | 47 000 000 |
| 2. II. | 9 038 600 | 1 945 000 | 57 900 000 |
| 3. II. | 5 557 300 | 3 118 000 | 50 580 000 |
| 5. II. | 1 799 300 | 634 500 | 30 900 000 |
| 7. II. | 2 988 600 | 459 300 | 64 770 000 |
| 9. II. | 5 730 000 | 261 000 | 80 324 000 |

Die Ergebnisse in Op. No. 90 und 91 standen mit den bisherigen in deutlichem Widerspruch. Als nun eine frisch von der Fabrik bezogene 2. Sendung Eucup., die in der Lymphe No. 94 (s. Tabelle I) verwandt wurde, wieder die gewohnten Erfolge zeigte, mußte geprüft werden, ob Eucupin in Substanz oder nur in Lösung an Wirkung mit der Zeit einbüße. Wir prüften zunächst mehrere verschieden alte Lösungen von Eucup. Die in Tabelle IV wiedergegebene Versuchsreihe wurde am 7. VI. 21 mit einem Vakzinerohstoff angestellt, der zu Beginn des Versuches 9460000 Keime aufwies. In den Op. No. 110, 111, 112 wurden je 40 ccm eines Glyzerin-Rohimpfstoffgemisches der gebräuchlichen Art mit je 1 ccm Eucup. in Verdünnung 1:1000 zusammengebracht,

jedoch mit dem Unterschied, daß verwandt wurde: in Op. No. 110 eine frisch angesetzte Lösung von Eucup., das am 12. II. 21 von der Fabrik (Vereinigte Chininwerke Zimmer & Co. in Frankfurt a. M.) bezogen war, in Op. No. 111 eine Eucup.-Lösung, die am 12. II. 21 von der gleichen Substanz zusammengesetzt war; in Op. No. 112 eine Eucup.-Lösung, die im März 1920 hergestellt war. Die beiden letztgenannten Eucup.-Lösungen waren ohne besondere Maßnahmen in dunklem Glase aufbewahrt worden. Zum Vergleich diente Op. 109, die eine Glycerinlymphe der gebräuchlichen Art darstellt. Der Versuch verlief folgendermaßen:

Tabelle IV.

| Datum | No. 110 | No. 111 | No. 112 | No. 109 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 9. VI. 21 | 1 460 000 | 8 320 000 | 4 540 000 | 9 000 000 |
| 11. VI. | 93 000 | 1 554 000 | 7 530 000 | 6 660 000 |
| 15. VI. | — | 490 000 | 740 000 | 2 400 000 |
| 18. VI. | — | 213 000 | 560 000 | 1 320 000 |
| 20. VI. | — | 250 000 | 420 000 | 1 210 000 |
| 22. VI. | — | 395 000 | 386 000 | 920 000 |

Wir folgerten aus No. 111 und 112, daß ältere Eucup.-Lösungen in der Zusammenstellung mit Glycerin wesentlich an bakterizider Wirkung verloren haben, de facto nur noch entwicklungshemmende Wirkung ausüben. Andererseits wies nun Op. No. 110 darauf hin, daß Eucup. in Substanz durch längeres Lagern keine wesentliche Aenderung im desinfektorischen Verhalten erfährt. Die Bestätigung fanden wir in späteren Versuchen, die Tabelle V wiedergibt. Die Versuche wurden am 20. VII. 21 mit Vakzinerohstoff aus Kassel angestellt, der nach längerem Lagern im Eisschrank über 10 Millionen Keime im Kubikzentimeter enthielt. In allen 6 Proben wurde Glycerin in dem üblichen Mengenverhältnis verwandt, daneben eine Eucup.-Verdünnung, die in 147—149 in der Endverdünnung 1:5000, in 150—152 in der Endverdünnung 1:2500 enthalten war. Zu No. 147 und 150 wurde eine Eucup.-Substanz frisch in Lösung gebracht, die im Februar 1920 aus Frankfurt bezogen war, in 148 und 151 eine solche von Februar 1921, in 149 und 152 eine Substanz von Juli 1921. Die Bestimmung der Keimzahlen ergab:

Tabelle V.

| Datum | No. 147 | No. 148 | No. 149 | No. 150 | No. 151 | No. 152 |
|-------------|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------------|
| 21. VII. 21 | 2 080 000 | 3 441 000 | 2 620 000 | 2 670 000 | 2 130 000 | 2 681 000 |
| 22. VII. | 2 380 000 | 505 000 | 1 285 000 | 1 409 500 | 1 233 500 | 824 000 |
| 24. VII. | 123 500 | 15 Keime | 288 Keime | 17 500 | 232 000 | 1 Keim |
| 27. VII. | 3 Keime ¹⁾ | 67 „ | 5 „ | 2 Keime | 5 Keime | 16 Keime anaërob |
| 28. VII. | — | — | — | — | — | — |
| 29. VII. | — | — | — | — | — | — |

Nach den Ergebnissen der Tabelle V hat das Eucup. in Substanz im Verlauf von fast 1½ Jahren keine wesentliche Veränderung hinsichtlich der Wirkung im Desinfektionsversuch erfahren.

Bei Durchsicht der einschlägigen Literatur fand sich, daß Traube (37) die Desinfektionswirkung der Hydrocupreine und ihrer Toxine in Beziehung gebracht hat zu ihrer Oberflächenaktivität in dem Sinne, daß desinfizierende Wirkung und Oberflächenaktivität parallel gehen. Traube stellte ferner fest, daß die Toxine der Hydrocupreinverbindungen im Salzzustand wie in alkalischer Lösung weitaus oberflächenaktiver sind als die Hydrocupreine selbst; daß ferner die Oberflächenaktivität mit wachsendem Alkaligehalt allgemein zunimmt bis zu einem Maximum, nach dessen Ueberschreiten die Dispersität abnimmt, erkennbar an auftretender Opaleszenz. Ferner fand Traube — und bestätigt damit Angaben von Eschbaum — daß die Chininderivate, wenn sie längere Zeit als Lösung in Glasgefäßen gestanden haben, eine starke Abnahme der Oberflächenspannung aufweisen, und erklärte diese Beobachtung als Wirkung des Alkali des Glases. Analog den obigen Angaben über Wechselbeziehungen zwischen Oberflächenaktivität und Desinfektionswert würden also alte Lösungen weniger desinfektorisch wirksam sein. Wir stehen nicht an, in unseren Befunden eine praktische Bestätigung dieser theoretischen Angaben Traubes festzustellen. Nach einer Mitteilung der Firma Zimmer & Co. auf unsere Anfrage ist für Vuzin und Optochin das Nachlassen der Wirkung bei

1) Die Bezeichnung in einzelnen Rubriken „3 Keime“ soll besagen, daß auf den beiden Platten der Verdünnung 1:10 und 1:100 zusammen nur 3 Keime zur Entwicklung kamen. In den als — (steril) bezeichneten Rubriken wurde aërob und anaërob geprüft.

älteren Lösungen bekannt. Für die Toxine der Chininderivate sollen entsprechende Beobachtungen bisher nicht vorliegen.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen ergab sich die Frage, welcher Faktor bei dem Gemisch von Glycerin und Eucup. das wesentliche Agens darstelle, wie die Wirkung zu denken ist und welche Kombinationsmöglichkeiten gegebenenfalls noch statthaben könnten, eine Verbesserung der Methode zu erreichen.

Aus früheren Versuchen (vgl. Tabelle III No. 92 und Tabelle I No. 96) war schon zu ersehen, daß Eucup. in Verdünnung 1:5000 ohne Glycerinzusatz keine Keimbefreiung in der Lymphe erzielen konnte. Auch in Verdünnung 1:500 konnte durch Eucup. allein keine Desinfektionswirkung erreicht werden. Wir erklärten uns diese Tatsache dadurch, daß, wie Schilling und Boecker (38) für die Blutzellen erweisen konnten, in den Körperzellen der Lymphe beträchtliche Mengen von Chininderivaten aufgespeichert werden können. Offenbar haben nun die Chininderivate größere Affinität zu den Körperzellen als zur Bakterienzelle. Vielleicht ließ sich durch späteren Zusatz von Glycerin die vollzogene Bindung des Eucup. an die Zellsubstanz wieder lösen. Dieser Erwägung galten folgende Versuche.

Rohvakzine 134, deren Keimgehalt am 30. VI. 21 auf 30 Mill. Keime pro Kubikzentimeter bestimmt wurde, versetzten wir am gleichen Tage mit Eucup. im Verhältnis 1:1000. Nach 48-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurden Proben dieser Rohvakzine-Eucup.-Mischung mit fallenden Mengen Glycerin verdünnt, so daß in Op. No. 135 die Gesamtverdünnung des Eucup. 1:5000, in Op. No. 136 1:3000, in Op. No. 137 1:2000 und in Op. No. 138 1:1000 betrug. Zur Kontrolle wurde am 30. VI. 21 0,5 ccm der gleichen Rohvakzine zu Eucup.-Glycerinlymphe (1:5000) verarbeitet (Op. No. 134). Die Prüfung der Keimzahlen ergab:

Tabelle VI.

| Datum | No. 134 | No. 135 | No. 136 | No. 137 | No. 138 |
|------------|---------|------------|------------|------------|------------|
| 2. VII. 21 | 260 000 | 24 360 000 | 26 500 000 | 22 500 000 | 28 700 000 |
| 4. VII. | 9 050 | 13 200 000 | 18 300 000 | 23 800 000 | 18 500 000 |
| 5. VII. | 3 000 | 11 340 000 | 14 400 000 | 20 600 000 | 24 420 000 |
| 6. VII. | 2 Keime | 11 980 000 | 23 000 000 | unzählig | unzählig |
| 8. VII. | — | 18 650 000 | unzählig | „ | „ |

Es war damit ziemlich eindeutig erwiesen, daß die Bindung des Eucup. mit den zelligen Bestandteilen der Lymphe nach 48 Stunden dergestalt fest eingegangen ist, daß ein Zusammenwirken mit später zugesetztem Glyzerin nicht mehr statthaben kann. Durch Op. No. 138 war erneut bestätigt, daß die Zellsubstanz der Lymphe beträchtliche Mengen von Eucup. ausschalten kann.

Es interessierte nun, wie die Wirkung des Eucup.-Glyzerin-gemenges einerseits und reines Eucup. andererseits auf Bakterien bei Gegenwart von reinem Eiweiß, also unter Ausschaltung zelliger Substanz, sich gestalten würde.

Steriler Ascites wurde filtriert und zentrifugiert. 30 ccm der klaren, überstehenden Flüssigkeit wurden in sterilem Gefäß mit je einer Oese *Bact. coli*, *Staphylococcus citreus* und *Sarcina alba* versetzt und so 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur belassen. Aus früheren Versuchen war bekannt, daß diese Lymphbegleitbakterien der Desinfektion am längsten standhielten. Die angewandten Stämme waren frisch gezüchtet: *Coli* aus Urin, *Citreus* und *Sarcina alba* aus Kasseler Glyzerinlymphe. Am 20. VII. 21 wurden mit diesem Ascites folgende Versuche angestellt. Die Op. No. 140, 141, 142 enthielten zunächst je 1 ccm infizierten Ascites und 3 ccm Glyzerin; daneben war in No. 140 vorhanden Eucup. in Verdünnung 1:5000, in No. 141 dgl. 1:2500, in No. 142 dgl. 1:1000. Als Kontrollversuch galten Op. No. 143, enthaltend 1 ccm infizierten Ascites, 3 ccm Glyzerin und 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung, ferner No. 144—146, die ohne Glyzerinzusatz die Zusammensetzung von No. 140—142 aufwiesen. Tabelle VII gibt eine Uebersicht über die Prüfung der Keimzahlen.

Tabelle VII.

| Datum | No. 140 | No. 141 | No. 142 | No. 143 | No. 144 | No. 145 | No. 146 |
|----------|---------|---------|----------|----------|-----------|------------|-----------|
| 21. VII. | 257 500 | 5 Keime | 1 Keim | 29 Keime | 2 543 000 | 948 000 | 500 000 |
| 22. VII. | 2 Keime | 3 „ | 18 Keime | 55 „ | 2 790 000 | 6 750 000 | 1 950 000 |
| 24. VII. | — | — | 1 Keim | — | 5 500 000 | 10 000 000 | 937 000 |
| 27. VII. | — | — | — | 2 Keime | 3 774 000 | 8 820 000 | 416 000 |
| 29. VII. | — | — | — | — | 250 000 | 6 340 000 | 239 000 |

In den Rubriken ohne Keimwachstum ist aërob und anaërob geprüft worden. Im allgemeinen zeigte sich, daß

Bact. coli und *Sarcina alba* am längsten der Einwirkung von Eucup. + Glycerin standhielten. Im besonderen ergibt die Gegenüberstellung von No. 140—142 mit No. 144—146, daß auch in dem von Körperzellen freien Medium die erwartete Desinfektionswirkung des Eucup. bei Ermangelung von Glycerin ausbleibt. Eine früher angestellte Versuchsreihe mit gleichfalls zellfreiem, infiziertem Ascites ohne Glycerinbeigabe hatte schon ein gleiches Ergebnis gezeitigt, so daß der Schluß berechtigt erscheint, daß auch die Eiweißsubstanz des Ascites Eucup. bindet. In Kontrollversuchen mit *Bact. coli*, *Staph. citreus* und *Sarcina alba* in physiol. NaCl-Lösung wurde nämlich bei Zimmertemperatur (sie betrug am 24. VII. allerdings nahezu 37°!) in 2—3 Tagen bei jeder der verwandten Bakterienarten Keimfreiheit erreicht durch eine Eucup.-Konzentration von 1:5000. Wenn andererseits in No. 140 bis 142 das Eucupinotoxin zur Wirkung gekommen ist, muß dieses eine größere Affinität zum Glycerin als zum Serum-eiweiß haben.

Aus den bisherigen Versuchen kann als feststehend angesehen werden, daß die Anwesenheit von Glycerin zur Herstellung von Keimfreiheit der Lymphe vermittelt Eucup. erforderlich ist. Da Eucup. allein selbst in Konzentration 1:500 in der Lymphe fast unwirksam ist, kann die Gesamtwirkung beider Stoffe nicht als Summierung zweier Einzelwirkungen aufgefaßt werden. Ferner ist nach den Versuchen No. 135—138 mit Sicherheit auszuschließen, daß das Eucup. eine präformierende Wirkung auf die Bakterienzelle ausübt, derzufolge das später beigegebene Glycerin wirksamer würde. Es bleibt dann nur die Annahme, daß durch Eucup. eine Aenderung des Glycerins vorgenommen wird, die dessen Wirkung kräftiger und schneller eintreten läßt. Hinsichtlich der Desinfektionsmittel, die auf die Bakterienzelle durch Eindringen und Aufquellung wirken — und dazu gehört auch das Glycerin — gilt ja allgemein, daß jeder Zusatz, der den Haftdruck des Desinfiziens im Milieu verringert und den osmotischen Druck erhöht, die desinfizierende Wirkung steigert. Es genügt andererseits die Konzentration des Desinfiziens an der Oberfläche des Bakteriums an sich nicht, der Stoff muß in erster Linie von der Zelle

aufgenommen werden. In diesem Sinne sind neben dem osmotischen Druck der Verdünnungsgrad und die Löslichkeit des betreffenden Desinfiziens im Bakterienprotoplasma maßgebend. Vielleicht beruht nun im Eucup.-Glyzerin-Gemisch die Steigerung der Desinfektionswirkung auf einer Erhöhung der Dispersität und damit der Quellfähigkeit des Glyzerins durch den Zusatz von Eucup. Einige Versuche, durch physikalische Methoden zur Klärung dieser Frage beizutragen, haben keine weiteren Anhaltspunkte ergeben.

Andererseits ergab die Prüfung des angewandten Glyzerins und der Eucup.-Lösungen durch Herrn Dr. Winterfeld im hiesigen pharmazeutischen Institut, daß beide Materien ohne Beimengungen waren. Die Prüfung des Glyzerin-Eucup.-Gemenges legte den Gedanken nahe, daß die erhöhte Desinfektionswirkung als chemisch-physikalischer Vorgang aufzufassen ist.

Für die Praxis wichtiger erschien demgegenüber die Auswertung der Kirsteinschen Methode gegenüber Krankheits-erregern, deren Vorkommen in der Lymphe letzthin nicht ganz auszuschließen ist. Zur Prüfung des Verfahrens an Milzbrandsporen wurde gebrauchsfertige Glyzerinlymphe der Impfanstalt Kassel mit Anthraxsporen (auf je 1 ccm Lymphe $\frac{1}{2}$ Oese stark sporenhaltiger Milzbrandkultur) versetzt und Eucup. in Verdünnung 1 : 500 (Op. No. 123), 1 : 1000 (Op. No. 124), 1 : 2500 (Op. No. 125) und 1 : 5000 (Op. No. 126) einwirken lassen. Der Versuch wurde am 10. VI. 21 erstmalig angestellt und am 27. VI. zur Kontrolle wiederholt. Die Ergebnisse waren im wesentlichen die gleichen. Bei Prüfung der Keimzahl wurden jedesmal 0,1 der betreffenden Lymphe in flüssigen Agar (etwa 8 ccm) gebracht und davon eine Platte gegossen. Die folgende Tabelle enthält die gezählten Kolonien, keine Umrechnung auf 1 ccm Lymphe, des Versuches vom 27. VI. 21.

Tabelle IX.

| Datum | No. 123 | No. 124 | No. 125 | No. 126 |
|------------|---------|-----------|------------|------------|
| 28. VI. 21 | 3 Keime | 316 Keime | 3600 Keime | 4200 Keime |
| 29. VI. | — | 1 Keim | 2160 „ | 4800 „ |
| 30. VI. | — | — | 1650 „ | 3100 „ |
| 2. VII. | — | — | 1878 „ | 2058 „ |
| 4. VII. | — | — | 3200 „ | 3640 „ |
| 6. VII. | — | 2 Keime | 4200 „ | 3900 „ |

Wir hielten eine Nachprüfung dieses Ergebnisses mit einer neuen Eucup.-Sendung für zweckmäßig, die unter gleichen Bedingungen am 22. VII. 21 in den Eucup.-Verdünnungen 1:5000 (No. 154), 1:3000 (No. 155), und 1:500 (No. 156) vorgenommen wurde. No. 154 zeigte vom 1.—8. Tage auf der Agarplatte 4—5000 Keime. In No. 155 war zwischen dem 3. und 6. Tage eine wesentliche Senkung der Keimzahlen, von da ab wieder beträchtlicher Anstieg festzustellen. No. 156 blieb vom 4. Tage ab aërob und anaërob steril. Aus den drei Versuchsreihen ergibt sich, daß Milzbrandsporen in Lymphe nur einer Eucup.-Konzentration von 1:500 bestimmt erliegen, daß höhere Verdünnungen nur eine Entwicklungshemmung bewirken und die Verdünnung 1:5000 nicht imstande ist, die Virulenz der Sporen wesentlich zu schädigen.

Mehrfach angestellte Versuchsreihen mit Tetanussporen ergaben, daß in der Eucup.-Konzentration 1:500 die Abtötung nach 8 Tagen, in Verdünnung 1:2000 nach 12 Tagen und in Verdünnung 1:5000 nach 14 Tagen erreicht wird. Es ist auffallend, daß in Verdünnung 1:500 die Tetanussporen länger virulent bleiben als Milzbrandsporen.

Versuche mit Tuberkelbazillen (Typ. bovinus, Stamm vom R.G.A.) ergaben, daß diese in der Eucup.-Verdünnung 1:5000 abgetötet werden. Die Versuche wurden gleichfalls mit Kasseler Glycerinlymphe, der auf 6,0 ccm Lymphe 1 ccm verriebener Perlsuchtbazillen zugesetzt war, an Meerschweinchen (2 Versuchsreihen) gemacht. Die Impfung erfolgte jedesmal am 8. und 15. Tage nach dem Ansetzen der Lymphe subkutan in Richtung auf die Inguinaldrüsen hin, wie dies beim Tierversuch mit tuberkelverdächtigem Urin zu geschehen pflegt. In beiden Versuchsreihen blieben die mit der infizierten Eucup.-Glycerinlymphe geimpften Tiere über 4 Wochen gesund; die beiden zur Kontrolle mit Typ. bovinus geimpften Tiere zeigten am 14. Tage starke Drüsenschwellungen in der Leistenbeuge, mikroskopisch fanden sich in den Drüsen Tuberkelbazillen.

Eine gleich günstige Wirkung wurde beim Zusatz von Colibazillen (frisch aus Urin gezüchtet), Streptokokken und Staphylokokken (letztere aus Abszeßeiter stammend) zur Lymphe erzielt. In der Eucup.-Verdünnung 1:5000 waren sie meist am 6. Tage nicht mehr nachweisbar.

Für die Praxis kann, soweit aus der Zahl der ausgeführten Versuche Schlüsse berechtigt sind, das Kirsteinsche Eucup.-Verfahren zur Keimfreimachung des Kuhpockenimpfstoffes nur empfohlen werden. Das Verfahren ist einfach in der Handhabung, billig im Materialverbrauch (5 g Eucup. kosten zurzeit etwa 25 M.) und zuverlässig allen asporogenen Keimen gegenüber. In der Kombination mit der staatlich angeordneten Untersuchung der Impftiere und der Prüfung jeder zum Gebrauch anstehenden Lymphe auf Zahl und Art der Keime unter eventueller Heranziehung des Tierversuches sind etwaige Befürchtungen, die sich aus der mangelnden Wirksamkeit der Eucup.-Konzentration 1 : 5000 gegenüber sporogenen Keimen ergeben könnten, als behoben anzusehen. Bei Epidemiegefahr würde es sich jedoch empfehlen, die Eucup.-Konzentration 1 : 500 in Anwendung zu bringen, da dann einmal jede Prüfung auf Keimarten sich erübrigt, zum andern die Lymphe ja rasch aufgebraucht wird und damit die Gefahr der Virulenzschädigung und eines ungenügenden Impfschutzes fortfällt.

Zusammenfassung.

Das Ergebnis der vorliegenden Versuche ist in Zusammenfassung der wesentlichen Punkte etwa folgendes:

1) Durch das Fornetsche Aetherverfahren läßt sich eine Keimfreimachung des Impfstoffes erzielen. Im sofort folgenden Tierversuch erweist sich die 24 Stunden mit Aether behandelte Lymphe nicht mehr als impfkraftig. Das Aetherverfahren schädigt den Impfstoff wesentlich; er ist deshalb zur Verwendung in Impfanstalten nicht brauchbar.

2) Durch Eucup.-Zusatz im Verhältnis 1 : 5000 zur Glycerinlymphe wird regelmäßig in 7 Tagen Befreiung von den gewöhnlich vorkommenden Begleitbakterien erreicht.

3) Die mit Eucup. im Verhältnis 1 : 5000 keimfrei gewordene Lymphe ist wenigstens 3—4 Monate impfkraftig ohne merkliche Minderung der Virulenz; Beweis im Versuch am Kaninchen und beim Menschen erbracht.

4) Ein Zusatz von Eucup. im Verhältnis 1 : 500 zur Lymphe ergibt nach $1\frac{3}{4}$ Monat im Tierversuch keine Schwächung der Virulenz.

5) Aus der Reihe der in Lymphe gegebenenfalls vorkommenden pathogenen Keime wurden in der Eucup.-Konzentration 1:5000 alle in 7 Tagen abgetötet, mit Ausnahme der sporogenen Keime, geprüft an Milzbrand- und Tetanus-sporen.

6) Eine Eucup.-Konzentration 1:500 tötet Milzbrandsporen in der Glycerinlymphe in spätestens 6 Tagen bestimmt ab. Dieselbe vernichtet Tetanussporen in 8 Tagen.

7) Eucupinotoxin allein ohne Glycerin bewirkt, im Verhältnis 1:5000 in der Lymphe keinerlei Keimverminderung, im Verhältnis 1:500 eine vorübergehende Entwicklungshemmung.

8) Die im Impfstoff befindlichen Zellbestandteile des tierischen Körpers binden eine beträchtliche Menge Eucup. Durch späteren Zusatz von Glycerin kann diese Bindung nicht mehr gelöst werden. Desgleichen binden zellfreie Eiweißkörper Eucup. in ziemlicher Menge.

9) Eucup. in Lösung verliert auf die Dauer an desinfektorischer Wirkung. In Substanz bleibt die Wirkung wenigstens 1 $\frac{1}{2}$ Jahre lang unverändert.

Am Schlusse meiner Ausführungen ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Bonhoff für die freundliche Ueberlassung des Themas und die zuteil gewordene Förderung der Arbeit aufrichtig zu danken.

Literatur.

- 1) Paul, Wochenschrift „Das Oesterreichische Sanitätswesen“, 1909, No. 3—7.
- 2) Malm, Hyg. Rundschau, 1908, p. 374.
- 3) Umlauf, Zeitschr. f. Tiermedizin, Bd. 3, 1899, Heft 1, p. 26.
- 4) Voigt, Hyg. Rundschau, Bd. 16, p. 1407.
- 5) Lemoine, Sem. méd., 1897, No. 15.
- 6) Carini, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 36, p. 47.
- 7) Chalybäus, Hyg. Rundschau, 1913, p. 1483 u. 1556.
- 8) Seiffert und Hüne, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 71, Heft 1.
- 9) Seiffert, Veröffentl. aus dem Geb. der Med.-Verw., Bd. 5, p. 65.
- 10) Möllers, Deutsche med. Wochenschr., 1919, p. 351.
- 11) Heerwagen, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, p. 387.

- 12) Geißler, Veröffentl. aus dem Geb. der Med.-Verw. des M. des Inn., Bd. 3, Heft 2.
- 13) Krumwiede, Fiedler and Watson, The Journ. for inf. diseases, 1918, p. 118.
- 14) Kirstein, Deutsche med. Wochenschr., 1919, p. 1102.
- 15) Morgenroth und Tugendreich, Berl. klin. Wochenschr., 1919, p. 794.
- 16) Bier, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 30, p. 717.
- 17) Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, p. 1041.
- 18) Braun und Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr., 1917, p. 885.
- 19) Morgenroth und Bieling, Berl. klin. Wochenschr., 1917, p. 723.
- 20) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 3.
- 21) Green, Brit. med. Journ., 1903, I, p. 1225, and 1904, I, p. 273.
- 22) Nijland, Arch. f. Hyg., Bd. 56, p. 261.
- 23) Camus, Compt. rend. de la Soc. de Biol., No. 4, p. 164.
- 24) Illert, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 86, Heft 1, p. 49, und Deutsche med. Wochenschr., 1922, p. 227.
- 25) Fornet, Berl. klin. Wochenschr., 1913, p. 1864.
- 26) — Deutsche med. Wochenschr., 1913, p. 1813.
- 27) Gins, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 9.
- 28) Seiffert, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 9.
- 29) Voigt, Deutsche med. Wochenschr., 1915, p. 35.
- 30) Med. Statist. Mitteil. aus dem Reichsgesundheitsamt, Bd. 17, p. 105.
- 31) Friedberger und Mironescu, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 24.
- 32) Paul, Hyg. Rundschau, Bd. 23, 1913, p. 1570.
- 33) Calmette et Guérin, Ann. de l'Institut Pasteur, 1901, No. 3, p. 161.
- 34) Noguchi, The Journ. of experim. Med., 1915, I, 21, No. 6, p. 589.
- 35) Knöpfelmacher, Med. Klinik, 1910, p. 619.
- 36) Voigt, Hyg. Rundschau, 1906, p. 1398.
- 37) Traube, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 29, 1920, p. 286.
- 38) Schilling und Boecker, Deutsche med. Wochenschr., 1919, No. 25.
- 39) E. Mayerhofer, Zeitschr. f. Kinderheilkunde, Bd. 13, Heft 16.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Köln (Direktor: Prof. Dr. Reiner Müller) und der Universitätskinderklinik (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Siegert).]

Beitrag zur Serologie des Scharlachs.

Von Dr. **Karl Pesch** und Privatdozent Dr. **E. Thomas**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. April 1922.)

Much und Eichelberg (1909) waren die ersten, die den Nachweis einer positiven Komplementbindungsreaktion bei Scharlach führten. Ihre Befunde wurden in den nächsten Jahren von verschiedenen Seiten mit wechselndem Erfolge nachgeprüft (1).

Vergleichende Untersuchungen, die der eine von uns (Pesch, 2) über die Beziehungen zwischen Wassermannscher Reaktion und den Ausflockungsreaktionen nach Meinicke und Sachs-Georgi am Untersuchungsmaterial des Kölner Hygienischen Institutes ausführte, sowie eine Häufung von Scharlach in der Kölner Kinderklinik boten eine willkommene Gelegenheit, einerseits die Befunde von Much und Eichelberg nachzuprüfen, andererseits aber das Verhalten der Wassermannschen und der Meinickeschen Reaktion (MR.) bei dieser Erkrankung zu vergleichen; zugleich bot sich auch eine Möglichkeit, den Gründen für einen positiven Ausfall der Komplementbindungsreaktion bei Scarlatina nachzugehen.

Technik: Die WaR. wurde, wie in unserem Institut üblich, mit mindestens zwei Extrakten angestellt, darunter stets einem alkoholischen Luesleber-Extrakt, dabei jeder Extrakt in einer schwächeren und einer stärkeren Verdünnung; auf diese Weise gelingt es leicht, einen stärker oder schwächer positiven Ausfall der Reaktion zu erkennen. Die Reaktion wird in der üblichen Weise mit genauer Einstellung von hämolytischem Ambozeptor und Komplement angestellt. Ablesung der Resultate erfolgt sofort nach Herausnahme aus dem Brutschrank sowie am anderen Morgen nach etwa 16stündigem Aufenthalt in der Eiskiste.

Als Ausflockungsreaktion benutzten wir die MR., und zwar die einzeitige dritte Modifikation (DM.). Den Extrakt bezogen wir von Meinicke

selbst. Anstellung der Reaktion genau nach Vorschrift, Ablesung nach etwa 18stündigem Brutschrankaufenthalt im Agglutinoskop.

Tabelle I.

| Krankheits- tag | Ausfall der Unters. | | | Von den untersuchten Seren waren also | | | |
|-----------------------|---------------------|------------------|------|---------------------------------------|------------------|------|------|
| | pos. | zweifel- haft | neg. | pos. | zweifel- haft | neg. | |
| 3. | 1 | 0 | 1 | 19 Seren untersucht | 9 + | 1 ± | 9 - |
| 4. | 1 | 0 | 3 | | | | |
| 5. | 3 | 1 | 2 | | | | |
| 6. | 1 | 0 | 2 | | | | |
| 7. | 3 | 0 | 1 | | | | |
| 8. | 2 | 0 | 0 | 16 „ „ | 5 + | 3 ± | 8 - |
| 9. | 1 | 1 | 0 | | | | |
| 10. | 0 | 0 | 1 | | | | |
| 11. | 2 | 0 | 4 | | | | |
| 12. | 0 | 2 | 3 | 14 „ „ | 1 + | 1 ± | 12 - |
| 13. | 1 | 0 | 1 | | | | |
| 14. | 0 | 0 | 2 | | | | |
| 15. | 0 | 1 | 3 | | | | |
| 16. | 0 | 0 | 3 | 19 „ „ | 5 + | 1 ± | 13 - |
| 17. | 0 | 0 | 3 | | | | |
| 18. | 2 | 0 | 3 | | | | |
| 19. | 1 | 1 | 3 | | | | |
| 20. | 0 | 0 | 1 | 20 „ „ | 6 + | 3 ± | 11 - |
| 21. | 2 | 0 | 1 | | | | |
| 22. | 0 | 0 | 5 | | | | |
| 23. | 3 | 1 | 2 | | | | |
| 24. | 1 | 0 | 0 | 19 „ „ | 6 + | 2 ± | 11 - |
| 25. | 1 | 1 | 2 | | | | |
| 26. | 0 | 0 | 5 | | | | |
| 27. | 1 | 1 | 2 | | | | |
| 28. | 1 | 0 | 2 | 16 „ „ | 2 + | 1 ± | 13 - |
| 29. | 0 | 0 | 1 | | | | |
| 30. | 1 | 2 | 2 | | | | |
| 31. | 1 | 0 | 4 | | | | |
| 32. | 3 | 0 | 2 | 18 „ „ | 2 + | 3 ± | 13 - |
| 33. | 1 | 0 | 2 | | | | |
| 34. | 1 | 1 | 2 | | | | |
| 35. | 0 | 0 | 2 | | | | |
| 36. | 0 | 0 | 4 | 11 „ „ | 2 + | 4 ± | 5 - |
| 37. | 0 | 0 | 3 | | | | |
| 38. | 0 | 0 | 2 | | | | |
| 39. | 0 | 1 | 1 | | | | |
| 40. | 2 | 2 | 4 | 11 „ „ | 2 + | 4 ± | 5 - |
| 41. | 0 | 0 | 2 | | | | |
| 42. | 0 | 0 | 4 | | | | |
| 24.-69. Krankheitstag | | | | | | | |

Es wurden bei diesen letzten 11 Fällen nur Seren untersucht, die das etzte Mal noch positiv reagierten.

Tabelle I zeigt, daß bei 150 Blutuntersuchungen von 50 Scharlachkindern wir 36mal eine deutlich positive und 15mal eine zweifelhafte WaR. erhielten. Der Rest (99 Untersuchungen) war negativ. Die MR. war in allen Fällen negativ!

Auf die Beziehungen zwischen Ausfall der Komplementbindungsreaktion und klinischem Befund hier einzugehen erübrigt sich, da die Frage von uns an anderer Stelle (3) schon eingehend erörtert worden ist. Wir möchten an dieser Stelle nur auf die Häufigkeit der positiven Reaktionen bis zum 13. Krankheitstage hinweisen; am 14., 15., 16. und 17. Krankheitstage läßt sie stark nach trotz häufiger Untersuchungen; in der 4. und 5. Krankheitswoche steigt sie wieder an. Es liegt nahe, diesen auffallenden Befund mit dem sogenannten ersten und zweiten Kranksein bei Scharlach in Zusammenhang zu bringen.

Es war zunächst die Frage zu klären, ob Beziehungen zwischen Ausfall der Reaktion und Art des Extraktes bestehen. Es wurden deshalb bei einzelnen stärker positiven Scharlachseren eine Reihe verschiedener Extrakte nebeneinander geprüft, und zwar im ganzen 2 Luesleber-Extrakte, 3 Menschenherz-Extrakte (2 mit, 1 ohne Cholesterin), 1 Scharlachherz-Extrakt, 2 Scharlachleber-Extrakte, 1 Meinicke-Extrakt, 1 Sachs-Georgi-Extrakt. Die Schwierigkeit, von Kindern größere Blutmengen zu erhalten, verhinderte es natürlich, alle Extrakte an einem Serum nebeneinander zu prüfen; wir mußten uns im einzelnen Falle mit 4—5 Extrakten begnügen, um dann bei verschiedenen Seren mit den Extrakten zu wechseln. Unsere Befunde zeigten uns, daß zwischen Extraktart und Ausfall der Scharlach-Komplementbindungsreaktion keine Gesetzmäßigkeiten bestehen. Im allgemeinen gaben uns Luesleber-Extrakte sowie Menschenherz-Extrakte mit Cholesterin, die sich uns auch bei Syphilisseren am besten bewährt hatten, die meisten und stärksten positiven Ausfälle. Doch auch andere Extrakte gaben in einzelnen Fällen, wo z. B. ein cholesterinierter Menschenherz-Extrakt versagt hatte, einen positiven Ausfall. Die meisten negativen Befunde gaben uns die Scharlachleber-Extrakte. Zur Raumerparnis verzichteten wir auf die Wiedergabe der Tabellen. In einer weiteren Versuchsreihe

wurde der Einfluß der Extraktstärke auf den Ausfall der Scharlach-Komplementbindungsreaktion erprobt. Es wurde ein Scharlachserum mit je einem sicher luetischen (WaR. +++) und je einem normalen Serum (WaR. neg.) verglichen. Bei der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Scharlachblutes war es uns nur möglich, stets einen Extrakt zu untersuchen, der dann in steigenden Mengen angewandt wurde.

Tabelle II.

| Extrakt | 0,01 | 0,02 | 0,03 | 0,04 | 0,05 | 0,06 | 0,07 | 0,08 | 0,09 | 0,1 |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| NaCl 0,85 % | 0,49 | 0,48 | 0,47 | 0,46 | 0,45 | 0,44 | 0,43 | 0,42 | 0,41 | 0,4 |
| Lueserum | ± | + | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Scharlachserum | | | | | | | | | | |
| Beudler | — | — | — | — | ± | + | + | ++ | ++ | +++ |
| Normalser. | — | — | — | — | ± | — | — | ± | + | ++ |
| Extraktkontrolle | — | — | — | — | — | — | — | + | + | ++ |

Die Befunde, die bei anderen Seren stets mit dem gleichen Erfolge wiederholt wurden, zeigen uns, daß der Ausfall der Komplementbindungsreaktion bei Scharlach von Stärke bzw. Dichtigkeit des Extraktes abhängt. Scharlachseren entsprechen also in diesem Punkte den Seren von anderen fieberhaften Krankheiten (z. B. Pneumonie), deren Komplementbindungsreaktion ja auch gelegentlich mit stark wirksamen Extrakten, wenn auch bedeutend schwächer und seltener, positiv ausfallen kann.

Wenn wir nun die Komplementbindungsreaktion mit der für die WaR. üblichen Extraktmenge, gleichbleibend in allen Röhrchen, jedoch mit fallenden Komplementmengen anstellen, so finden wir, daß auch hier die positiven Scharlachsera in betreff des Komplementverbrauchs in der Mitte zwischen Lueserum und Normalserum stehen. Ein positiver Ausfall der Scharlach-Komplementbindungsreaktion kann also von verschiedenen Faktoren abhängen; bei scharfer Einstellung des Komplements und mit stark wirksamen Extrakten können die Sera Scharlachkranker in einer Anzahl von Fällen eine positive WaR. vortäuschen, ein Befund, der wohl am einfachsten auf verschiedene Faktoren, wie erhöhten Eiweißumsatz bei Fieber, oder Zellabbau durch den noch unbekanntem Erreger, bezogen

wird. Jedoch der im Vergleich zu anderen Infektionskrankheiten verhältnismäßig häufigere und stärker positive Ausfall der Reaktion lassen die Möglichkeit offen, daß es sich, die Spirochätennatur des Scharlacherregers vorausgesetzt, um eine Gruppenreaktion bei Spirochätosen (Syphilis, Frambösie, Weilsche Krankheit, Scharlach) handelt.

Zusammenfassung.

1) 150 Blutproben von 50 Scharlachkindern gaben 36mal eine positive, 15mal eine zweifelhafte und 99mal eine negative Komplementbindungsreaktion nach Wassermann.

2) Die Meinicke-Reaktion (DM.) war in allen 150 Fällen negativ.

3) Es scheinen Beziehungen zwischen dem ersten und zweiten Kranksein bei Scharlach und dem positiven Ausfall der Komplementbindungsreaktion zu bestehen.

4) Es bestehen keine Beziehungen zwischen Ausfall der Reaktion und Art des Extraktes. Extrakte aus Scharlachorganen geben seltener einen positiven Ausschlag als Luesleber-Extrakte.

5) Der Ausfall der Reaktion ist sehr abhängig von der Stärke des Extraktes und der Schärfe der Komplementeinstellung.

6) Bei dem positiven Ausfall der Scharlach-Komplementbindungsreaktion wirken wahrscheinlich verschiedene Faktoren zusammen (Fieber, Zellabbau). Die Spirochätennatur des Scharlacherregers vorausgesetzt, wäre auch an eine Gruppenreaktion bei Spirochätosen zu denken.

Literatur.

- 1) Ausführliche Literaturangaben bei Isabolinsky und Legeiko, Centralbl. f. Bakt., Orig., Abt. I, Bd. 71, 1914, und Jakobowicz, Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 79, 1914.
- 2) Pesch, Münch. med. Wochenschr., 1920, p. 1232.
- 3) Thomas und Pesch, Zeitschr. f. Kinderheilk., Bd. 28, 1921.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Ueber heterogenetische Agglutinine.

Von cand. med. **Trou-Hia-Hsü** aus Schantung.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. April 1922.)

Seit den Untersuchungen von Forssman¹⁾ ist es bekannt, daß sich beim Kaninchen durch Vorbehandlung mit Organemulsionen vom Meerschweinchen, sowie einer Reihe von anderen Tierarten hochwertige Hammelhämolyse erzeugen lassen. Diese von Friedberger und Schiff²⁾ als heterogenetische bezeichneten Hämolyse haben wie die spezifischen „isogenetischen“ Hämolyse die charakteristischen Eigenschaften von Ambozeptoren. Eine Unterscheidung der isogenetischen und heterogenetischen Ambozeptoren ist nur dadurch möglich, daß die letzteren strenger spezifisch sind: sie greifen nicht, wie das bei den isogenetischen Hammelhämolyse in geringerem oder stärkerem Grade regelmäßig der Fall ist, auf Rinderblut über.

Die Untersuchungen von Forssman, Orudschiew³⁾, Doerr und Pick⁴⁾, Friedberger und Schiff u. a. haben zu der Vorstellung geführt, daß im isogenetischen Hammelambozeptor des Kaninchens zwei Quoten enthalten sind, von denen die eine dem heterogenetischen Ambozeptor entspricht. Dieser „heterogenetische Anteil“ wird gebunden durch die Orgazellen des Meerschweinchen und anderer Tierspezies

1) Forssman, Biochem. Zeitschr., Bd. 37, 1911, No. 11, p. 78.

2) Friedberger und Schiff, Berl. klin. Wochenschr., 1913, No. 34, 50.

3) Orudschiew, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913, p. 268.

4) Doerr und Pick, ebenda, Bd. 19, 1913, p. 251; Biochem. Zeitschrift, Bd. 50, 1913, p. 129.

[„Meerschweinchentypus“, Bail und Margulies¹⁾], sowie durch die Hammelblutkörperchen, nicht aber durch Rinderblutkörperchen.

Nach Entfernung der heterogenetischen Quote verbleibt in dem echten Hammelblutimmunserum des Kaninchens noch ein Hämolyisin, das man als die isogenetische Quote im engeren Sinne bezeichnen kann. Diese letztere kann im Bindungsversuch sowohl durch Hammelblutkörperchen als durch Rinderblutkörperchen entfernt werden. In den Hammelblutkörperchen können auf Grund der bisherigen Untersuchungen zwei voneinander unabhängige Rezeptorenarten angenommen werden, die isogenetischen im engeren Sinne und die heterogenetischen, die mit denen der Meerschweinchenorgane übereinstimmen. Die isogenetischen Rezeptoren werden durch Kochen zerstört, die heterogenetischen sind weitgehend hitzebeständig. Sie vertragen mehrstündiges Erhitzen auf 100° und verlieren erst bei Erhitzen auf 200° im Oelbad ihr spezifisches Bindungsvermögen für den Heteroambozeptor [Forssman²⁾, v. Gutfeld³⁾]. Vgl. auch die umfassenden Untersuchungen von Hans Schmidt⁴⁾.

Es existieren demnach in den Hammelblutkörperchen zwei Antigene, ein thermostabiles und ein thermolabiles. Ein entsprechendes Verhalten ist nun schon für die Agglutinogene der Bakterien bekannt, und hier hat es sich zeigen lassen, daß den beiden Agglutinogenen auch zwei funktionell verschiedene Agglutinine entsprechen, nämlich dem thermolabilen Agglutinogen die neuerdings von Weil und Felix⁵⁾ eingehend untersuchten „grob flockenden“, den thermostabilen die als „fein flockend“ bezeichneten Agglutinine.

Auf Anregung von Herrn Professor Friedberger habe ich untersucht, ob sich ähnliche Unterschiede wie bei den Bakterienagglutininen auch bei heterogenetischen und isogenetischen Antihammelblutseris finden.

1) Bail und Margulies, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19, 1913, p. 185.

2) Forssman, Biochem. Zeitschr., Bd. 77, 1916, p. 104.

3) v. Gutfeld, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921, p. 197.

4) H. Schmidt, Med. Klinik, 1921, No. 20; Beitr. zur Klinik der Tuberkulose u. spezifischen Tuberkulose-Forschung, Bd. 47, 1921, Heft 3

5) Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920.

Für die Untersuchung der Hämagglutination besteht nun eine grundsätzliche Schwierigkeit. In heterogenetischen Antiseris, und zwar auch in solchen mit stärkstem hämolytischen Titer, war es nämlich bisher nicht gelungen, Agglutinine mit Sicherheit nachzuweisen. Forssman¹⁾ selbst hat nur ganz gelegentlich einen sehr geringen, die Schwankungsbreite des Normalen nicht mit Sicherheit übersteigenden Agglutinationstiter gesehen. Auch Friedberger und Schiff haben Agglutinine nicht nachweisen können. Es konnte deshalb bisher das Fehlen der Agglutinine im heterogenetischen Antiserum als ein wesentlicher und neben dem verschiedenen Verhalten gegen Rinderblutkörperchen sogar als der einzige Unterschied zwischen iso- und heterogenetischem Serum aufgefaßt werden.

Die von mir vorgenommene Untersuchung einiger heterogenetischer Ambozeptoren bestätigte zunächst die früheren Angaben über das Fehlen der Agglutinine. Es wurde dann weiter untersucht, ob nicht vielleicht Unterschiede in der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten bestehen. Es wurden in engen Präzipitationsröhrchen zu fortlaufend verdünnten Iso- und Heteroseris gewaschene Hammelblutkörperchen zugesetzt und die Sedimentation zu verschiedenen Zeiten verglichen. Im isogenetischen Serum trat rasch Sedimentation und die Bildung des für die Agglutination typischen zackigen Bodensatzes auf. Im heterogenetischen Serum war kein deutlicher Unterschied gegenüber den Kochsalzkontrollen festzustellen, eine sichtbare Agglutination blieb völlig aus und die Sedimentierung erfolgte ebenso langsam wie in der Kochsalzkontrolle. Unterschiede bei der Sedimentation, die als „grob“ und „fein“ gedeutet werden konnten, bestanden nicht. Auch bei Verwendung von gekochtem Hammelblut kam eine Agglutination oder eine Steigerung der Senkungsgeschwindigkeit gegenüber den Kochsalzkontrollen nicht zur Beobachtung.

Trotz des negativen Ausfalls dieser ersten Versuche ließ sich nun in weiterem Verfolg der einschlägigen Phänomene zeigen, daß auch das heterogenetische Antiserum spezifische Agglutinine gegen Hammelblutkörperchen enthält. Der

1) Forssman, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 110, 1920, p. 133 u. 164.

Nachweis derselben gelingt jedoch niemals mit frischen Blutkörperchen, sondern es ist erforderlich, daß die Blutkörperchensuspension mehrere Tage alt ist. Im folgenden sei zunächst ein Versuch mit Hammelblutkörperchen angeführt, die nach dreimaliger Waschung 5 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatten.

Versuch 1.

Agglutinierende Wirkung des heterogenetischen Ambozeptors Kaninchen No. 99 (Vorbehandlung mit Meerschweinchenniere) auf frische Hammelblutkörperchen und auf solche, die 5 Tage im Zimmer gestanden hatten („alte Blutkörperchen“).

Blutkörperchen: 3mal gewaschene Hammelblutkörperchen in 5-proz. Aufschwemmung je 1,0 ccm; Serumverdünnung 1,0, Gesamtvolumen 2,0.

| Heteroserum No. 99 | | |
|--------------------|----------------------|--------|
| Serumverdünnung | Hammelblutkörperchen | |
| | alt | frisch |
| 1:50 | +++ | — |
| 1:100 | +++ | — |
| 1:200 | ++ | — |
| 1:400 | + | — |
| 1:800 | (+) | — |
| NaCl-Kontrolle | — | — |

Zeichenerklärung: +++ = sehr starke, ++ = starke, + = deutliche, (+) = schwache, aber noch deutliche, — = keine Agglutination.

Ablesung der Agglutination nach 18-stündigem Aufenthalt im Brutschrank.

Diese Agglutination ist spezifisch und nicht etwa auf eine durch das Stehen bedingte unspezifische Erhöhung der Labilität der Blutkörperchensuspensionen zurückzuführen. Dies zeigt der folgende Versuch:

Versuch 2.

Agglutination von 5 Tage alter Hammelblutkörperchensuspension durch Normalkaninchen Serum und durch hämolytischen Rinder-Kaninchenambozeptor.

| Serumverdünnung | Normalkaninchen Serum | Rinderambozeptor 14 |
|-----------------|-------------------------------------|---------------------|
| | Altes Hammelblut (5 Tage im Zimmer) | |
| 1:10 | — | — |
| 1:20 | — | — |
| 1:40 | — | — |
| 1:80 | — | — |
| 1:160 | — | — |
| 1:320 | — | — |
| NaCl-Kontrolle | — | — |

Der Versuch zeigt, daß durch Normalsera und andere spezifische Sera als Hammelimmunserum eine Agglutination der alten Blutkörperchen nicht hervorgerufen wird.

Im folgenden Versuch wurde geprüft, ob heterogenetisches Antiserum auch auf die Blutkörperchen anderer Spezies in mehrere Tage alten Suspensionen agglutinierend wirkt.

Versuch 3.

Agglutination von 5 Tage alten Rinderblut- und Menschenblutkörperchen durch heterogenetisches Antiserum.

| Serumverdünnung | Heteroserum No. 99 | |
|-----------------|--------------------|--------------------|
| | Altes Rinderblut | Altes Menschenblut |
| | (5 Tage im Zimmer) | |
| 1:10 | — | — |
| 1:20 | — | — |
| 1:40 | — | — |
| 1:80 | — | — |
| 1:160 | — | — |
| 1:320 | — | — |
| NaCl-Kontrolle | — | — |

Eine Agglutination der geprüften heterologen Blutkörperchen in gealterten Suspensionen ist also nicht aufgetreten. Die Erscheinung der Agglutination alter Hammelblutkörperchen durch heterogenetisches Antiserum ist also sowohl in bezug auf das Antigen wie auf das Antiserum spezifisch.

Im Aussehen der Agglutination war ein grundsätzlicher Unterschied gegenüber der Agglutination frischer Blutkörperchen durch isogenetische Antihammelblutsera nicht festzustellen. Der Bodensatz zeigt die typische, am Boden des Röhrchens dicht angeschmiegte, zackige Haut. Beim Aufschütteln sind die bekannten größeren und kleineren Blutklümpchen ganz in der Art der spezifischen Agglutination sichtbar. Einen Unterschied im Sinne von „grob und fein“ konnten wir bisher nicht feststellen.

Die Intensität der Agglutination ist nicht geringer als in stark wirksamen isogenetischen Seris gegenüber frischem Hammelblut. Bei einem Vergleich ist zu berücksichtigen, daß alte Blutkörperchen auch durch isogenetisches Antiserum stärker als frische agglutiniert werden.

Hinter dem hämolytischen Titer blieb der Agglutinations-titer der untersuchten heterogenetischen Sera erheblich zurück (Serum 99: hämolytischer Titer für Hammelblut 0,0002).

Ueber den Zeitpunkt, in dem die Blutkörperchen für heterogenetischen Ambozeptor agglutinabel werden, gibt der folgende Versuch Aufschluß.

Versuch 4.

Wirkung des heterogenetischen Ambozeptors auf Hammelblutkörperchen, die 1—8 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatten.

| Heteroserum No. 99 | Agglutination der verschieden alten Hammelblutkörperchen | | | | | | | |
|-----------------------|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Alter der Blutkörperchen | | | | | | | |
| Verdünnung | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 6 Tage | 7 Tage | 8 Tage |
| 1:10 | — | — | + | ++ | +++ | +++ | gelöst | gelöst |
| 1:20 | — | — | (+) | + | +++ | +++ | ” | ” |
| 1:40 | — | — | — | + | +++ | +++ | ” | ” |
| 1:80 | — | — | — | — | +++ | +++ | ” | ” |
| 1:160 | — | — | — | — | ++ | +++ | ” | ” |
| 1:320 | — | — | — | — | ++ | +++ | ” | ” |
| NaCl-Kontrolle | — | — | — | — | — | (+) | ” | ” |

Die Agglutination beginnt, wie der Versuch zeigt, am 3. Tage; sie ist jedoch um diese Zeit nur schwach und überhaupt nur bei hoher Konzentration des Serums vorhanden. Die Agglutinierbarkeit nimmt in den nächsten Tagen zu und ist am größten am 5. Tage. Am 6. Tage war eine leichte Agglutination auch in der Kochsalzkontrolle zu beobachten. Eine längere Beobachtung war nicht möglich, weil am 7. Tage Hämolyse eintrat.

Bei Aufbewahrung bei 37° im Brutschrank werden die Blutkörperchen etwas früher agglutinabel. Dies zeigt der folgende Versuch.

Versuch 5.

Agglutination mit bei 37° aufbewahrten Hammelblutkörperchen.

| Verdünnung | Heteroserum No. 99 | | | Heteroserum No. 100 | | |
|-------------|--|--------|--------|---------------------|--------|--------|
| | Alter der Hammelblutkörperchen bei 37° | | | | | |
| | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage | 1 Tag | 2 Tage | 3 Tage |
| 1:50 | — | + | +++ | — | (+) | ++ |
| 1:100 | — | (+) | +++ | — | — | + |
| 1:200 | — | — | +++ | — | — | — |
| 1:400 | — | — | ++ | — | — | — |
| 1:800 | — | — | + | — | — | — |
| 1:1600 | — | — | — | — | — | — |
| NaCl-Kontr. | — | — | — | — | — | — |

Das mehrere Tage aufbewahrte Blut ist nun bei dem gewöhnlichen Vorgehen regelmäßig stark mit Bakterien verunreinigt. Es bestand die Möglichkeit, daß lediglich die Wirkung der Bakterien die Veränderung in den Blutkörperchen verursacht hatte. Es wurden deshalb auch Versuche mit steril entnommenem und steril verarbeitetem Hammelblut angestellt. Außerdem wurde auch Blut mit Zusatz von Antiseptics aufbewahrt.

Versuch 6.

Agglutination von steril aufbewahrten Hammelblutkörperchen.

Hammelblutkörperchen wurden steril entnommen und unter sterilen Kautelen in mit dem Friedbergerschen Verschluss¹⁾ versehenen Zentrifugenröhrchen 3mal gewaschen. In einer zweiten Versuchsreihe wurde den steril entnommenen und 3mal gewaschenen Blutkörperchen 0,5 ccm gesättigter Chloroform-NaCl-Lösung auf 100 zugesetzt. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur. Prüfung auf Agglutination nach 5, 6, 7 Tagen.

| Heteroserum No. 100 Verdünnung | Hammelblut steril mit CHCl ₃ aufbewahren | | Hammelblut steril ohne CHCl ₃ aufbewahren | |
|--------------------------------------|--|--------|---|--------|
| | 5 Tage | 6 Tage | 5 Tage | 6 Tage |
| 1:10 | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 1:50 | + | + | ++ | + |
| 1:100 | (+) | + | (+) | + |
| 1:200 | — | — | — | — |
| NaCl-Kontrolle | — | — | — | — |

Bei den sterilen Blutkörperchen trat die Agglutination zur selben Zeit auf wie bei den ohne weitere Vorsichtsmaßregel gewonnenen Aufschwemmungen.

Das Zustandekommen einer Agglutination bei den „alten“ Blutkörperchen konnte auf einer Veränderung der Blutkörperchen selbst beruhen oder aber auf Abgabe von Stoffen an die Zwischenflüssigkeit. Es wurde deshalb nun weiter geprüft, ob frische Blutkörperchen in der von den 5 Tage alten Blutkörperchen abzentrifugierten Flüssigkeit nunmehr durch Heteroserum agglutiniert werden.

Versuch 7.

Wirkung von heterogenetischem Serum auf frische Hammelblutkörperchen, suspendiert in der Zwischenflüssigkeit von alten Hammelblutkörperchen und auf alte Blutkörperchen suspendiert in frischer physiologischer Kochsalzlösung.

1) Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, p. 637.

3mal gewaschene 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung bleibt 5 Tage im Zimmer stehen. Es wird abzentrifugiert und der Abguß mit dem Sediment einer 5-proz. Aufschwemmung von frischen Hammelblutkörperchen vereinigt. Der Bodensatz wird mit physiologischer Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt. Prüfung der beiden Suspensionen auf Agglutination mit heterogenetischem Antiserum.

| Heteroserum No. 100 | | |
|---------------------|---|------------------------------------|
| Serumverdünnung | Frische Blutkörperchen in der alten Flüssigkeit | Alte Blutkörperchen in NaCl-Lösung |
| 1:10 | — | +++ |
| 1:50 | — | ++ |
| 1:100 | — | (+) |
| 1:200 | — | — |
| 1:400 | — | — |
| NaCl-Kontrolle | — | — |

Der Versuch zeigt, daß nur die alten Blutkörperchen agglutiniert werden. Die gealterte Zwischenflüssigkeit ist also nicht von Einfluß auf das Zustandekommen der Agglutination.

Weiter wurde nun versucht, ob sich Blutkörperchen durch andere Eingriffe so verändern lassen, daß sie durch heterogenetisches Serum agglutiniert werden.

1 Stunde auf 56° erhitzte Blutkörperchen wurden nicht agglutiniert. Bei 1-stündigem Erhitzen auf 70° bilden die Blutkörperchen eine flockige braune Masse, die zu Agglutinationsversuchen ungeeignet ist. Unterschiede gegenüber der Kochsalzkontrolle traten nicht auf.

Die Wirkung in der Behandlung mit Alkohol in verschiedenen Konzentrationen zeigt der folgende Versuch.

Versuch 8.

Zusatz von Alkohol in verschiedenen Konzentrationen zu Hammelblutkörperchen und Prüfung auf Agglutination durch heterogenetisches Serum.

Es werden folgende Mischungen hergestellt:

| | | | | |
|------|----------------|---|--------|----------------------------|
| 5,0 | Alkohol absol. | + | 95,0 | 0,85-proz. Kochsalzlösung, |
| 7,5 | „ | „ | + 92,5 | 0,85 „ |
| 8,0 | „ | „ | + 92,0 | 0,85 „ |
| 9,0 | „ | „ | + 91,0 | 0,85 „ |
| 10,0 | „ | „ | + 90,0 | 0,85 „ |

Die Mischungen werden je zu dem Sediment von 100 ccm einer frischen Aufschwemmung von 5-proz. gewaschenen Hammelblutkörperchen hinzugefügt. Es wird 5 Minuten lang durchgeschüttelt, dann zentrifugiert und

der Bodensatz mit 0,85-proz. Kochsalzlösung zweimal gewaschen. Dann Auffüllung auf die ursprüngliche Menge und Agglutinationsversuch mit heterogenetischem Kaninchenimmenserum No. 90.

In den ersten Konzentrationen trat keine Agglutination ein, in der 5. Reihe Spontanagglutination.

Eine Präparierung der Blutkörperchen für die Agglutination durch Alkoholbehandlung erfolgte also in unseren Versuchsbedingungen nicht. Auch Vorbehandlung mit Aether führte nicht zum Ziel.

Versuch 9.

Behandlung von gewaschenen Hammelblutkörperchen mit Aether.

Zum Bodensatz von 100 ccm einer 5-proz. 3mal gewaschenen Hammelblutkörperchenaufschwemmung wurden 10 ccm Aether und 90 ccm physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt. Es wurde 10 Minuten gut durchgeschüttelt, dann abzentrifugiert und der Bodensatz nach zweimaligem Waschen mit Kochsalzlösung zum Agglutinationsversuch verwendet.

Auch hier trat keine Agglutination ein.

Weiterhin wurde eine Osmierung der Blutkörperchen nach v. Szily¹⁾ versucht.

Versuch 10.

Agglutinationsversuch mit osmierten Hammelblutkörperchen.

Auch hier erfolgte wie bei Alkohol Spontanagglutination.

In weiteren Versuchen wurden nun die Eigenschaften des Agglutinins, insbesondere sein Verhalten beim Erhitzen geprüft.

Es ergab sich, daß Unterschiede gegenüber dem Agglutinin der isogenetischen Sera nicht vorhanden sind. Das Agglutinin verträgt $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 56°. Es wird unwirksam bei $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen auf 60, 65 und 70° C.

Bindungsversuche.

Von besonderem Interesse war es, festzustellen, in welcher Beziehung das heterogenetische Agglutinin zu dem isogenetischen steht.

Zur Beantwortung dieser Frage wurden Bindungsversuche mit iso- und heterogenetischen Antiseris angestellt. Zur Ausfällung dienten frische, alte sowie auf 100° erhitzte Hammelblutkörperchen, ferner Meerschweinchenniere.

1) v. Szily, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, p. 455.

Der folgende Versuch zeigt das Verhalten mehrerer isogenetischer Sera.

Versuch 11.

Ausfällungsversuch mit isogenetischen Hammelblutkaninchenseris.

Agglutination von frischen und alten Hammelblutkörperchen durch isogenetische Sera vor und nach Ausfällung mit frischen, alten und gekochten Hammelblutkörperchen sowie mit Meerschweinchenniere.

Technik der Ausfällung: Zum Bodensatz von 5,0 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung gewaschenen Hammelbluts wurden 5,0 ccm 10-fach verdünnten Ambozeptors hinzugefügt. Gute Durchmischung, 1 Stunde 37°. Zentrifugieren und Auswertung der Abgüsse.

Die erste Spalte der Tabelle zeigt den Agglutinationstiter für frisches Hammelblut. Dieser ist, wie das ja in der Regel der Fall ist, geringer als der hämolytische Titer. Er schwankt bei den verschiedenen Seris zwischen 1:50 und 1:200. Für alte Blutkörperchen ist der Titer regelmäßig etwas höher.

In den Versuchen mit * wurde mit 2mal hintereinander gewaschenem Vollblut ausgefällt.

Die erhitzten Blutkörperchen waren 10 Minuten im Wasserbad gekocht worden, nur in dem mit † bezeichneten Versuch war 1 Stunde erhitzt worden.

| Geprüft mit Hammelblut | Unbehandelt | | Ausgefällt mit | | | | | | | |
|------------------------|-------------|-----|---------------------|-----|------------------|-----|-----------------|-----|-----------------|-----|
| | | | frischem Hammelblut | | altem Hammelblut | | Hammelblut 100° | | Meerschw.-Niere | |
| | frisch | alt | frisch | alt | frisch | alt | frisch | alt | frisch | alt |
| Isoserum 14. XII. 21 | 200 | 400 | 0 | 0 | — | — | *10 | 10 | — | — |
| " D. 13 | 50 | 200 | 0 | 0 | — | — | *10 | 10 | — | — |
| " D. 13 | 50 | 200 | — | — | — | — | *0 | 10 | — | — |
| " No. I | 200 | — | 50 | — | — | — | †100 | — | — | — |
| " 31. V. 21 | 200 | — | 10 | — | — | — | 50 | — | — | — |
| " 28. VII. 21 | 200 | — | — | — | — | — | 100 | — | — | — |
| " D. 13 | 50 | 200 | — | — | 0 | 0 | — | — | — | — |
| " D. 13 | 50 | 200 | — | — | — | — | 0 | 50 | — | — |
| " No. I | 200 | — | — | — | — | — | — | — | 200 | — |
| " G. 4. 31. V. | 100 | — | — | — | — | — | — | — | 100 | — |
| " D. 13 | 50 | — | — | — | — | — | — | — | 50 | — |
| " D. 13 | — | 200 | — | — | — | — | — | — | — | 200 |
| " 14. XII. 21 | — | 400 | — | — | — | — | — | — | — | 400 |
| " 10. XI. 21 | 200 | — | — | — | — | — | 50 | — | — | — |

— nicht ausgeführt, 0 keine Agglutination (alles ausgefällt).

Ausfällung mit frischen Hammelblutkörperchen entfernt die Agglutinine für frische und für alte Blutkörperchen entweder völlig oder doch zum größten Teil. Ausfällung mit

alten Blutkörperchen wirkt ebenso. Ein Verlust von Rezeptoren ist also beim Altern nicht eingetreten.

Durch Erhitzen auf 100° hat das Agglutininbindungsvermögen der Hammelblutkörperchen in fast allen Versuchen eine deutliche, zum Teil eine beträchtliche Abschwächung erfahren. Das an sich schwache Immuserum D. 13 ist in 2 Versuchen durch Ausfällen mit erhitzten Hammelblutkörperchen für frische Blutkörperchen völlig unwirksam geworden. In einem 3. Versuch hat dagegen sein Agglutinin Gehalt für frische Blutkörperchen nur abgenommen, für alte Blutkörperchen, die an sich leichter verklumpt werden, und für die also von vornherein der Titer höher ist, sind jedesmal noch Agglutinine vorhanden, wenn auch erheblich weniger als in unbehandeltem Immuserum.

Die Ausfällung mit Meerschweinchenniere hat dagegen Agglutinine aus den geprüften isogenetischen Seris nicht entfernt. Sowohl die frischen wie die alten Blutkörperchen werden nach der Ausfällung ebenso gut wie vorher agglutiniert.

Die folgende Tabelle gibt nun eine Uebersicht über die Ausfällungsversuche, die mit zwei heterogenetischen Immuseris angestellt wurde. Beide Sera agglutinieren frische Blutkörperchen überhaupt nicht, dagegen 5 Tage alte Blutkörperchen deutlich. Das Serum 99 hatte damals einen Agglutinationstiter von $1:1000^1$, das Serum 100 von $1:100$. Ausfällung mit frischem Hammelblut entfernte die Agglutinine zum Teil (Versuch 1, 2, 3); auch alte Blutkörperchen wirkten entsprechend (Versuch 4). Auch erhitzte Blutkörperchen und Meerschweinchenniere entfernen das Agglutinin (Versuch 5 und 6).

Versuch 12.

Ausfällungsversuche mit heterogenetischen Ambozeptoren.

Da frische Blutkörperchen schon vom unbehandelten Ambozeptor niemals agglutiniert wurden, sind hier die Agglutinationsversuche nur mit alten Blutkörperchen ausgeführt.

Ausfällung der heterogenetischen Sera No. 99 und No. 100.

1) Weitere Ausfällungsversuche konnten mit dem Immuserum 99 nicht ausgeführt werden, weil das Serum aufgebraucht war.

Technik der Ausfällung wie im vorigen Versuch. Zur Ausfällung sowie zur Agglutination diente 5-proz. gewaschenes Hammelblut, das 5 Tage im Zimmer gestanden hatte.

Agglutination von 5 Tage alten Hammelblutkörperchen durch heterogenetisches Immunsorium vor und nach Ausfällung mit frischen, alten, gekochten Hammelblutkörperchen und mit Meerschweinchenniere.

| | Unbehandelt | Ausgefällt mit | | | | Versuch No. |
|--------------------|-------------|------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| | | frischem Hammelblut | altem Hammelblut | Hammelblut 100° | Meerschw.-Niere | |
| | | Geprüft mit altem Hammelblut | | | | |
| Heteroserum No. 99 | 1000 | 250 | — | — | — | 1 |
| „ „ 99 | 800 | 200 | — | — | — | 2 |
| „ „ 100 | 100 | 10 | — | — | — | 3 |
| „ „ 100 | 100 | — | 0 | — | — | 4 |
| „ „ 100 | 100 | — | — | 10 | — | 5 |
| „ „ 100 | 100 | — | — | — | 10 | 6 |

Die Tabelle zeigt, daß aus dem heterogenetischen Serum im Gegensatz zu dem isogenetischen Agglutinine auch durch Meerschweinchenniere entfernt werden (Versuch 6). Das Bindungsvermögen der Meerschweinchenniere war in der gewählten Versuchsanordnung, die mit der des vorhergehenden Versuchs übereinstimmt, ebenso stark, wie das der frischen und erhitzten Hammelblutkörperchen.

Rinderblutkörperchen wurden, wie schon oben erwähnt, durch keines unserer iso- und heterogenetischen hammelhämolytischen Kaninchensera agglutiniert. Dem entsprechend wurden die Agglutinine für Hammelblut in den iso- und heterogenetischen Seris durch Vorbehandlung mit Rinderblutkörperchen nicht abgeschwächt. Auf eine Wiedergabe dieser Versuche in Tabellenform kann bei der Gleichförmigkeit der Ergebnisse verzichtet werden.

Kurz zusammengefaßt hat sich ergeben, daß das isogenetische Agglutinin durch frische und gealterte Blutkörperchen völlig, durch auf 100° erhitzte teilweise, durch Rinderblutkörperchen wie durch Meerschweinchennierenzellen nicht gebunden wird; das heterogenetische Agglutinin wird durch dieselben Substrate gebunden wie das isogenetische, außerdem aber noch durch Meerschweinchennierenzellen.

Ueber das Verhältnis zwischen Rezeptoren der Hammelblutkörperchen und den Antikörpern der agglutinierenden Sera geben die Bindungsversuche also folgenden Aufschluß: Es existieren zwei Agglutinine; solche, die durch Meerschweinchenniere gebunden werden, und solche, die zu Meerschweinchenniere in keiner nachweisbaren Beziehung stehen. Die ersteren sind die echten heterogenetischen Agglutinine, sie ausschließlich sind im heterogenetischen Antiserum vorhanden. Entsprechende Rezeptoren finden sich nach dem Ausfall der Bindungsversuche nicht nur in Meerschweinchenorganen, sondern auch in frischen und erhitzten Hammelblutkörperchen.

Die durch Meerschweinchenorgane nicht ausfällbaren Agglutinine können als die isogenetischen im engeren Sinne bezeichnet werden. Sie werden ausgefällt durch frische und durch erhitzte Hammelblutkörperchen, nicht durch Rinderblutkörperchen und auch nicht durch Meerschweinchenorgane.

In den frischen Hammelblutkörperchen sind also zwei verschiedene Gruppen von Rezeptoren anzunehmen, isogenetische im engeren Sinne und heterogenetische. Entsprechend müßten in dem isogenetischen Antiserum zwei Arten von Agglutininen auftreten, nämlich isogenetische und daneben noch heterogenetische, d. h. solche, die durch Meerschweinchenorgane gebunden werden. Die letzteren ließen sich aber bisher in isogenetischen Antiseris nicht nachweisen. Trotzdem könnte das isogenetische Immunserum auch eine heterogenetische Agglutininquote enthalten, die sich aber vielleicht aus mehr technischen Gründen dem Nachweis entzogen hat: die heterogenetische Quote könnte nämlich überlagert sein durch das isogenetische Agglutinin. Ein Nachweis wäre nur dann möglich, wenn sich zunächst die isogenetische Quote aus dem Serum herausnehmen ließe. Bei den Hämolytinen gelingt das durch Ausfällung des Immunserums mit Rinderblutkörperchen. Bei den Agglutininen, die durch Rinderblutkörperchen nicht gebunden werden, ist eine solche Möglichkeit zunächst nicht gegeben.

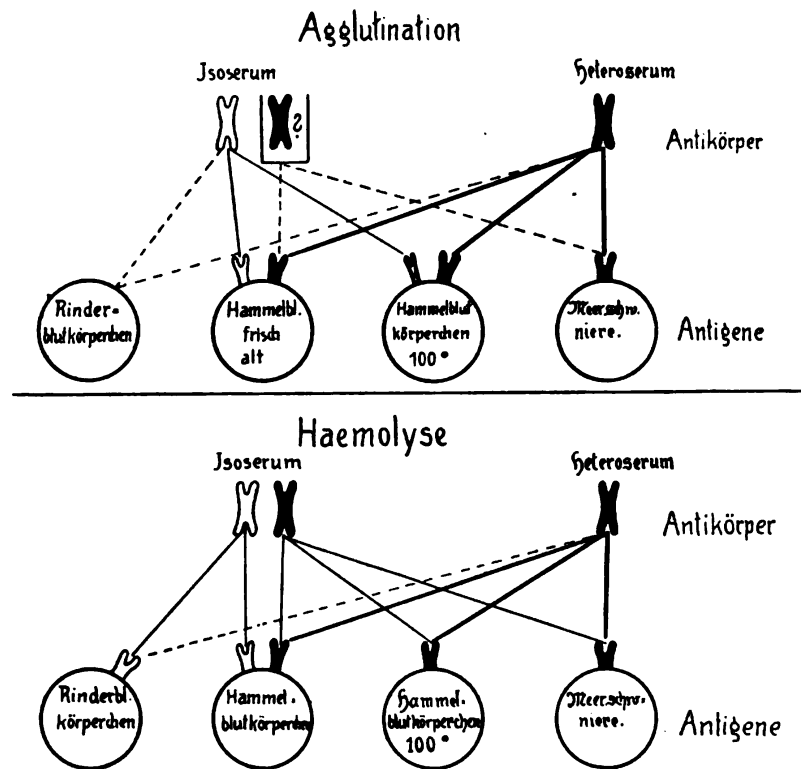
Ohne vorhergehende Entfernung der isogenetischen Quote könnte die heterogenetische Quote nur dann erkannt werden, wenn der Titer höher wäre als der des isogenetischen Ag-

glutinins. Damit aber kann nicht gerechnet werden, weil nach den bisherigen Versuchen ja der Titerwert der heterogenetischen Sera verhältnismäßig gering ist (verglichen mit dem an altem Blut ausgewerteten isogenetischen Agglutininen).

Die von uns gefundenen Verhältnisse sind in der nachstehenden Skizze schematisch dargestellt.

Die heterogenetischen Rezeptoren bzw. Antikörper sind schwarz gezeichnet, die Bindungen durch —, bedeuten keine Bindung.

Das Verhalten der erhitzten Hammelblutkörperchen, die das isogenetische Agglutinin nur teilweise binden, ist dadurch zum Ausdruck gebracht, daß der weiß gezeichnete Rezeptor bei ihnen nur als schmaler Streifen erscheint.



Schema der Rezeptoren und Antikörper für die Agglutination durch isogenetisches und heterogenetisches Serum. Unten entsprechendes Schema für die Hämolysen. (Nach Friedberger und Schiff, teilweise ergänzt.)

Aus dem Schema ergibt sich also, entsprechend den vorausgegangenen Versuchen, noch einmal zusammengefaßt folgendes: Das frische und das mehrere Tage alte Hammelblutkörperchen hat wenigstens zwei bindende Gruppen, von denen eine vom Agglutinin des Isoserums, die andere von dem des Heteroserums verankert wird.

Bei Erhitzung auf 100° wird der Isorezeptor beträchtlich abgeschwächt, der Heterorezeptor ist thermostabil.

Rinderblutkörperchen werden vom Iso- und Heteroserum weder agglutiniert noch gebunden. Es fehlt also sowohl der Iso- wie der Heterorezeptor der Agglutination.

Da das frische Hammelblutkörperchen Iso- und Heterorezeptor hat, so enthält möglicherweise auch das Isoserum neben dem Isoagglutinin noch ein Heteroagglutinin, das aber bis jetzt nicht mit Sicherheit nachweisbar ist, weil Meerschweinchenniere die untersuchten Iso sera im Gegensatz zu den Hetero sera nicht schwächte.

Vergleichen wir das Verhalten der Agglutinine mit dem aus den früheren Untersuchungen bekannten Verhalten der Hämolsine, so zeigte es sich, daß Hämolsine und Agglutinine sich nicht völlig übereinstimmend verhalten. Das ergibt sich aus dem unter dem Agglutinationsschema noch einmal aufgezeichneten Hämolseschema nach der Arbeit von Friedberger und Schiff.

Im Bindungsversuch übereinstimmend verhalten sich nur die Agglutinine und die Hämolsine der heterogenetischen durch Vorbehandlung mit Meerschweinchenorganen gewonnenen Immusera. Der Immunkörper wird hier durch Meerschweinchenorgane sowie durch frische und erhitzte Hammelblutkörperchen gebunden.

In isogenetischen Seris dagegen sind Unterschiede zwischen Hämolsinen und Agglutininen vorhanden. Das beruht auf dem verschiedenen Verhalten der Agglutinine und Hämolsine gegenüber Rinderblut und Meerschweinchenniere.

Das Hämolsin der isogenetischen Sera wird zu einem Teil ausgefällt durch Rinderblutkörperchen, zu einem anderen Teil durch heterogenetische Organe und durch erhitzte Hammelblutkörperchen. Das Agglutinin der iso-

genetischen Sera dagegen wird weder durch Rinderblutkörperchen noch durch Meerschweinchenorgane ausgefällt, sondern lediglich durch frische und durch erhitzte Hammelblutkörperchen. Dem Agglutinin der isogenetischen Sera fehlt also der Rinderanteil und der durch heterogenetische Organe ausfällbare Anteil. Mit dem Verhalten der Hämolyse stimmt ferner nicht überein, daß zwischen erhitzten Hammelblutkörperchen und Meerschweinchenorganen im Bindungsvermögen Unterschiede bestehen. Diese Unterschiede weisen darauf hin, daß der Bau des thermostabilen Anteils im Rezeptorenapparat weniger einfach ist, als dies auf Grund der Hämolyseversuche bisher angenommen wurde.

Zusammenfassung.

1) In heterogenetischen Antihammelblutseris läßt sich unter gewöhnlichen Verhältnissen, wie in Bestätigung älterer Versuche von Forssman sowie Friedberger und Schiff gezeigt wird, ein Hämagglutinin für Hammelblut nicht nachweisen.

2) Auch die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen wird unter Zusatz von heterogenetischem Serum im Gegensatz zum isogenetischen nicht beschleunigt.

3) Gleichwohl enthält auch das heterogenetische Antiserum spezifische Agglutinine gegen Hammelblutkörperchen; sie lassen sich jedoch nur unter Verwendung mehrerer Tage alten Blutes nachweisen.

4) Das heterogenetische Agglutinin ist spezifisch bezüglich des Serums und Antigens, d. h. es wirkt weder ein anderer Ambozeptor, z. B. Rinderambozeptor, auf altes Hammelblut noch wirkt das heterogenetische Hammelserum auf andere Blutkörperchenarten, z. B. altes Rinderblut.

5) Ein Unterschied in der Form der Flocken bei der Agglutination von Hammelblut durch isogenetische und heterogenetische Antihammelsera ließ sich nicht feststellen.

6) Die agglutinierende Fähigkeit beginnt erst bei 2 Tage altem Blut (Brutschrank) bis 3 Tage altem (Zimmertemperatur).

7) Die Bakterien der Suspensionsflüssigkeit scheinen auf das Zustandekommen der Agglutination ohne Einfluß zu sein.

8) Frische Blutkörperchen, in der Suspensionsflüssigkeit alter aufgeschwemmt, werden nicht agglutiniert.

9) Es ist nicht gelungen, durch Behandlung mit Hitze, Alkohol, Aether und Osmiumsäure Hammelblutkörperchen in gleicher Weise für das heterogenetische Agglutinin empfindlich zu machen wie durch Lagern.

10) Gegenüber der Einwirkung höherer Temperaturen besteht zwischen isogenetischem und heterogenetischem Agglutinin kein Unterschied.

11) Die Bindungsversuche geben folgendes Resultat:

Das isogenetische Agglutinin wird durch frische und gälterte Blutkörperchen völlig, durch auf 100° erhitzte teilweise, durch Rinderblutkörperchen wie durch Meerschweinchennierenzellen nicht gebunden; das heterogenetische Agglutinin wird durch dieselben Substrate gebunden wie das isogenetische, außerdem aber noch durch Meerschweinchennierenzellen. Danach existieren zwei Agglutinine: solche, die durch Meerschweinchenniere gebunden werden und solche, die zu Meerschweinchenniere in keiner nachweisbaren Beziehung stehen.

Das frische und das mehrere Tage alte Hammelblutkörperchen hat wenigstens zwei bindende Gruppen, von denen eine vom Agglutinin des Iso-serums, die andere von dem des Heteroserums verankert wird.

Bei Erhitzung des Blutes auf 100° wird der Iso-rezeptor beträchtlich abgeschwächt, der Heterorezeptor ist thermostabil.

Rinderblutkörperchen werden vom Iso- und Heteroserum weder agglutiniert noch gebunden. Es fehlt also sowohl der Iso- wie der Heterorezeptor der Agglutination.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hyg.-bakt. Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.]

**Ueber die Konstitution isogenetischer und heterogenetischer Hammelbluthämolysine und ihrer Antigene.
(Hämolysinstudien III.)**

Von Dr. Fritz v. Gutfeld.

Mit 1 Schema im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Mai 1922.)

Im Jahre 1911 hat Forssman (1) gezeigt, daß es gelingt, durch Injektion von Meerschweinchenorganen bei Kaninchen Hammelbluthämolysine zu erzeugen, die einen ähnlichen Wirkungsmechanismus besitzen, wie die durch Injektion von Hammelerythrocyten gebildeten Hämolysine. Aus welcher Ueberlegung heraus Forssman seine heterogenetischen Antisera gerade am Hammelblut geprüft hat, geht aus seiner Arbeit nicht hervor. Vor ihm haben schon im Jahre 1906 Michaelis und Fleischmann (2) ebenfalls Organe von Meerschweinchen zur Injektion bei Kaninchen verwendet. Sie haben aber das so erhaltene Antiserum nur mit der Blutart des organspendenden Tieres geprüft.

Die Forssmanschen Hammelbluthämolysine sind zahlreichen Untersuchungen unterworfen worden. Ihre Anwendungsmöglichkeit für praktische Zwecke (Nachweis gekochten Pferdefleisches nach Sachs und Georgi (3) hat sich leider als recht beschränkt erwiesen (4, 5).

Im folgenden werden einige theoretische Fragen untersucht, die sich an die Eigenschaften der Forssmanschen und der durch Hammelblutinjektion erzeugten Hämolysine und ihrer Antigene knüpfen. Zur Anwendung gelangten Immunsera, die von Kaninchen und Meerschweinchen durch Injektion von frischem Hammelblut (isogenetische) und von Kaninchen durch Injektion von Meerschweinchenniere und -nebenniere

(heterogenetische¹⁾) gewonnen waren. Als Antigene (rezeptorenhaltiges Material) dienten Hammelblut, Rinderblut und Meerschweinchenorgane.

Mit Hilfe von Bindungsversuchen wurde die Frage bearbeitet, inwiefern zwischen den Rezeptoren der verschiedenen Antigene untereinander und den durch sie erzeugten Antikörpern untereinander Identität oder Verschiedenheit besteht.

Zunächst wurden Kaninchen mit frischem Hammelblut immunisiert. Diese Versuche sollten eine genaue Analyse geben von der Zusammensetzung der isogenetischen Hammelbluthämolyse. Die Fragestellung war folgende: Welche Partialambozeptoren, die im Bindungsversuch nachweisbar sind, entstehen, wenn man Kaninchen mit frischem Hammelblut immunisiert?

Seit den grundlegenden Versuchen von Ehrlich und Morgenroth ist es bekannt, daß das Serum mit frischen Hammelerythrozyten behandelter Kaninchen die Blutkörperchen von Hammel, Ziege und Rind aufzulösen vermag. Digeriert man das so erhaltene Serum mit der zur Erzeugung verwendeten Blutart, so werden alle Ambozeptoren daraus entfernt; bei Vorbehandlung mit einer der anderen Blutarten wird der Partialambozeptor für diese völlig entfernt, der für die homologe in wechselndem Maße vermindert. Orudschiew (6) hat nun isogenetisches Hammelblutimmunserum mit Meerschweinchenorganzellen vorbehandelt und dabei eine relativ geringe, aber doch deutliche Verankerung der Hämolyse für Hammelblut feststellen können, während die Rinderblutambozeptoren fast in ganzer Menge ungebunden blieben. Er schloß daraus, daß die Meerschweinchenleber Hammelblutrezeptoren, nicht aber, oder nur wenig, Rinderblutrezeptoren besitzt. Offenbar hielt Orudschiew die Rezeptoren der Meerschweinchenleber für identisch mit den Rezeptoren der Hammelerythrozyten und nur quantitative Unterschiede für bestehend. Wenn das wirklich der Fall wäre, so müßte es gelingen, ein isogenetisches Hammelblutimmunserum durch wiederholtes Digerieren mit Organen von heterogenetischem Typus seiner hammelhämolytischen Fähigkeit zu berauben. Bevor wir auf

1) Die Nomenklatur schließt sich an die von Friedberger, Schiff, Friedemann gewählte an.

die entsprechenden Versuche eingehen, muß die Feststellung Friedemanns (7) erwähnt werden, der gefunden hat, daß die Normalhämolyse des Kaninchens zum heterophilen Typus gehören. Da fast alle Kaninchen mehr oder minder große Mengen Normalhämolyse für Hammelblut besitzen, war von vornherein zu erwarten, daß auch ein durch Injektion von Hammelblut erzeugtes „isogenetisches“ Hämolyse schon infolge Vorhandenseins eben dieser Normalhämolyse eine gewisse „heterophile“ Quote besitzen müsse, also die Erzeugung eines rein isophilen Hammelblut-Immunhämolyse beim Kaninchen unmöglich sei.

Versuch vom 15. IX. 1921.

Drei Kaninchen werden mit frischem Hammelblut immunisiert; vor einer jeden Injektion und 9 Tage nach der letzten wird das Serum unter Verwendung von Meerschweinchenkomplement auf seine hämolytische Kraft geprüft. Jedesmal werden 2 Reihen angesetzt: H = Hämolyse von Hammelblut, Hv = Hämolyse von Hammelblut nach einmaliger Vorbehandlung des Immunserums mit Meerschweinchenorganen. Die Zahlen geben an, bei welcher Immunserumverdünnung noch komplette Hämolyse eingetreten ist.

Tabelle I.

| Anzahl der Injektionen | Kaninchen 95 | | Kaninchen 96 | | Kaninchen 97 | |
|------------------------|--------------|------|--------------|-----|--------------|-----|
| | H | Hv | H | Hv | H | Hv |
| 0 | 0 | 0 | < 5 | 0 | < 5 | 0 |
| 1 | 40 | 0 | 80 | 40 | 80 | 0 |
| 2 | 320 | 320 | 1280 | 640 | 1280 | 320 |
| 3 | 2560 | 1280 | 1280 | 640 | 1280 | 640 |

Der Versuch zeigt zunächst in groben Umrissen, daß die Vorbehandlung eines durch Hammelblutinjektion erzeugten Kaninchenimmunserums mit Organen vom heterogenetischen Typus in der Regel eine erhebliche Verminderung des hämolytischen Titors für Hammelblut bewirkt. Die Immunsera enthielten also sicherlich eine gewisse Quantität von „heterophilen“ Ambozeptoren. Diese Tatsache wurde an mehreren anderen Kaninchenserum in gleicher Weise festgestellt; der Gehalt der so untersuchten Sera an heterophilen Ambozeptoren schwankte.

Eine Betrachtung der Tabelle I zeigt folgendes: Die Kaninchen 96 und 97 besitzen in ihrem Serum bereits vor der Behandlung eine geringe Menge heterophiler Ambozeptoren, Kaninchen 95 nicht. Noch nach der zweiten Injektion sind

beim Kaninchen 95 keine heterophilen Ambozeptoren nachweisbar; der Titer des mit Meerschweinchenorganen behandelten Serums bleibt unverändert. Erst nach der dritten Injektion ist es zur Bildung von heterophilen Ambozeptoren neben den isophilen gekommen: der Titer des Serums wurde durch die einmalige Behandlung mit Meerschweinchenorganen auf die Hälfte herabgesetzt ¹⁾).

Es wurde nun versucht, festzustellen, wie weit man aus einem „isogenetischen“ Kaninchen-Hammelbluthämolysin durch Digestion mit heterogenem ²⁾ Rezeptorenmaterial seine hammelblutlösende Eigenschaft entfernen kann. Wir benutzten zu diesen Versuchen Sera, deren rinderblutlösende Quote durch mehrfache Vorbehandlung mit frischem Rinderblut quantitativ entfernt worden war, also nur noch Hammelbluthämolysine enthielt. Von den zahlreichen gleichsinnig verlaufenen Versuchen sei nur der eine ausführlicher wiedergegeben.

Versuch vom 22. III. 1921.

Isogenetisches Kaninchen-Hammelblutimmenserum mit Rinderblut vorbehandelt. Titer für Hammelblut 1:4000; für Rinderblut = 0. Organe von Meerschweinchen und Kaninchen feingehackt und gekocht; die Organaufschwemmung bis zu völliger Klarheit der überstehenden Flüssigkeit mit Kochsalzlösung gewaschen. Es werden drei Reihen angesetzt:

- M 1) 4 ccm Meerschweinchenorganaufschwemmung + 12 ccm Ambozeptorverdünnung 400 lösende Dosen enthaltend;
- K 1) 4 ccm Kaninchenorganaufschwemmung + 12 ccm Ambozeptorverdünnung 400 lösende Dosen enthaltend;
- Kontrolle 1) 4 ccm Kochsalzlösung + 12 ccm Ambozeptorverdünnung 400 lösende Dosen enthaltend.

1) Anmerkung bei der Korrektur: In einer inzwischen erschienenen Arbeit weist Kurt Meyer (Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 34, Heft 3) darauf hin, in einer früheren Veröffentlichung von mir (11) sei behauptet worden, daß eine Bindung von Hammelblut-Immenserum an Organe vom heterogenetischen Typus oder an deren Auszüge nicht stattfindet. Die Annahme Meyers beruht auf einem Mißverständnis. Es lag uns seinerzeit daran, festzustellen (wie auch im Schlußsatz 3 der genannten Veröffentlichung ausgesprochen), daß der spezifische Hammelblut-Immunoambozeptor, d. h. der isophile Anteil, nicht gebunden wird. Wir befinden uns hierin, sowohl in den früheren wie in den jetzigen Versuchen, die die Bedeutung des heterophilen Anteils beleuchten, durchaus in Uebereinstimmung mit K. Meyer.

2) Wir bezeichnen diejenige Funktion von Zellen, welche heterophile Ambozeptoren bilden oder binden, als „heterogen“; die entsprechende für isophile Ambozeptoren als „isogen“.

Nach einstündigem Verweilen im Wasserbad bei 37° wird ein Teil der drei Flüssigkeiten (1 und 2 nach Zentrifugieren) austitriert.

Tabelle II.

| Abgußmenge aufgefüllt auf 1 ccm | Darin enthal- tene Menge lösender Dosen berechnet | M 1 | K 1 | Kontr. 1 |
|---------------------------------------|--|------|------|----------|
| 0,4 ccm | 10 lös. Dosen | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,2 " | 5 " " | ++++ | ++++ | ++++ |
| 1,0 " ^{1/10} | 2,5 " " | ++ | ++++ | ++++ |
| 0,8 " " | 2 " " | + | ++++ | ++++ |
| 0,6 " " | 1,5 " " | (±) | ++++ | ++++ |
| 0,4 " " | 1 " " | — | ++++ | ++++ |
| 0,2 " " | 0,5 " " | — | ++ | ++ |

++++ = komplette Hämolyse, — = komplette Hemmung.

Der Versuch zeigt, daß die Behandlung des Ambozeptors mit Meerschweinchenorganen die hammelblutlösende Wirkung auf den fünften Teil reduziert hat. Digestion mit Kaninchenorganen ist wirkungslos; es handelt sich also im ersten Falle um spezifische Bindung einer Ambozeptorquote an die heterogenen „Rezeptoren“ der Meerschweinchenorgane.

Die Reste der oben benutzten drei Flüssigkeiten werden nun wieder mit Meerschweinchenorganaufschwemmung (M 2), Kaninchenorganaufschwemmung (K 2), Kochsalzlösung (Kontr. 2)

versetzt. In jedes Röhrchen kommen gleiche Mengen lösender Dosen, Volumen überall das gleiche. Aus der Tabelle II ist ersichtlich, daß 0,2 ccm von dem Abguß M 1 eine lösende Dosis enthalten, demnach 9 ccm = 45 lösende Dosen. In 0,04 ccm der Abgüsse K 1 und Kontr. 1 ist ebenfalls je eine lösende Dosis enthalten, also 45 lösende Dosen in 1,8 ccm. Es werden daher vom Abguß M 1 9 ccm, von den Abgüssen K 1 und Kontr. 1 je 1,8 ccm (aufgefüllt auf 9 ccm) mit je 3 ccm Organaufschwemmung bzw. Kochsalzauflösung versetzt. In 12 ccm Flüssigkeit befinden sich dann in sämtlichen drei Röhrchen je 45 lösende Dosen.

Die Austitrierung nach einstündigem Aufenthalt bei 37° im Wasserbad ergab folgendes:

Tabelle III.

| Abgußmenge aufgefüllt auf 1 ccm | Darin enthal- tene Menge lösender Dosen berechnet | M 2 | K 2 | Kontr. 2 |
|---------------------------------------|--|--------|--------|----------|
| 0,5 ccm | 1,9 lös. Dosen | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,4 " | 1,5 " " | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,3 " | 1,1 " " | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,25 " | 0,9 " " | +++(+) | +++(+) | +++(+) |
| 0,2 " | 0,75 " " | +++ | +++ | +++ |

Bei der zweiten Behandlung änderte sich also der Titer nicht mehr. Die Reste der Flüssigkeiten wurden nochmals derselben Prozedur unterzogen, ohne daß eine Aenderung im Titer des mit Meerschweinchenorganaufschwemmung digerierten Ambozeptors gegenüber den Kontrollen eintrat.

Es ist also nicht möglich, die hammelblutlösende Kraft eines durch Injektion von Hammelblut beim Kaninchen erzeugten „isogenetischen“ Ambozeptors durch Behandlung mit Organen vom heterogenetischen Typus zu erschöpfen, während eine mehr oder minder starke Verringerung in der Regel gelingt.

Die gebräuchlichen Kaninchen-Hammelblut-immunsera sind zwar mit Recht als „isogenetische“ zu bezeichnen; sie enthalten aber nicht nur „isophile“ Ambozeptoren für Hammelblut (und Partialambozeptoren für Rinderblut), sondern auch eine mitunter beträchtliche Menge von „heterophilen“ Ambozeptoren. Diese sind durch die Behandlung der Tiere mit Hammelblut künstlich gesteigert, in manchen Fällen neu erzeugt worden.

Hans Schmidt (8) hat in anderem Zusammenhang bereits auf diese Dinge hingewiesen; er führt die Entstehung der heterophilen Ambozeptoren in isogenetischen Seren auf die antigene Wirkung des koktostabilen Anteils der Hammelerythrozyten zurück (s. auch weiter unten).

Es ist also nicht möglich, bei Kaninchen durch Injektion von frischem Hammelblut reine isophile Hammelbluthämolsine zu erzeugen. Wohl aber gelingt es, durch Injektion von Organen vom heterogenetischen Typus rein heterophile Ambozeptoren zu gewinnen. Als Kriterium der Heterophilie gilt die quantitative Entfernbarkeit des Hämolsins aus dem Serum durch Digestion mit Organen vom heterogenetischen Typus.

Ein isogenetisches, rein isophiles hammelhämolytisches Immunserum gewinnt man durch Injektion von frischem Hammelblut bei Meerschweinchen. Derartige Sera haben Schiff (9), Hans Schmidt (8) und andere benutzt. Schiff stellte fest, daß die Hammelblut-Meerschweinchenambozeptoren weder von frischem Rinderblut noch von den Organen des heterogenetischen Typus gebunden werden. Auch gekochtes Hammelblut vermochte in seinen Versuchen den isogenetischen Hammel-

blut-Meerschweinchenambozeptor nicht zu verankern. Letzgenanntes Verhalten hält Schiff zwar für die Regel; er glaubt aber, daß unter Umständen doch eine Bindung des durch natives Hammelblut vom Meerschweinchen gewonnenen Ambozeptors an gekochtes Hammelblut vorkommen könne.

Da wir zu unseren Versuchen rein isophile Sera verwenden mußten, erschienen uns zu deren Gewinnung zwei Wege gangbar. Es gelingt erstens, ein isogenetisches Hammelblut-Kaninchenimmunserum durch Vorbehandlung mit frischem Rinderblut und Organen des heterogenetischen Typus von den Rinderblut-Partial- und den heterophilen Ambozeptoren zu befreien. Bei diesem Verfahren konnten wir regelmäßig außer einem Rückgang des Titers eine starke hämolytische Verfärbung des Serums feststellen. Da wir befürchteten, durch die notwendige mehrmalige Vorbehandlung unkontrollierbare Beimengungen zum Ambozeptor oder Veränderungen zu erhalten, entschlossen wir uns, vom Meerschweinchen gewonnenen, rein isophilen Ambozeptor zu benutzen¹⁾. Durch Vorversuche wurde festgestellt, daß die von uns verwendeten Hammelblut-Meerschweinchenimmunsera nur von dem zur Gewinnung benutzten frischen Hammelblut, nicht aber von Organen des heterogenetischen Typus und auch nicht von gekochtem Hammelblut verankert wurden.

Nachdem wir so in der Lage waren, mit reinen iso- und heterophilen Hämolysinen zu arbeiten, gingen wir an die Untersuchung des Rezeptorenapparates der frischen Hammelerythrozyten. Zunächst wurde versucht, aus quantitativen Bindungsversuchen Schlüsse auf die Menge der in den Erythrozyten enthaltenen Partialrezeptoren zu ziehen. Die sehr zahlreichen Bindungsversuche, die im Laufe mehrerer Jahre angesetzt wurden, zeigten zunächst, daß es nicht möglich ist, ein für allemal zu bestimmen, wieviel lösende Dosen Ambozeptor von einer Einheit Hammelblut gebunden werden. Die Menge des gebundenen Ambozeptors (sowohl iso- als auch

1) Wir waren uns dabei der Tatsache bewußt, daß es gewisse Bedenken hat, Immunsera, die von verschiedenen Tierarten gewonnen sind, zu Vergleichen zu benutzen. Immerhin sind unbehandelte Meerschweinchenimmunsera den zwecks Entfernung der störenden Partialambozeptoren mehrfach vorbehandelten Kaninchenseren vorzuziehen.

heterophilen) ist abhängig von seinem Titer, seiner Konzentration, dem Gesamtvolumen des Gemisches, der Anzahl der Beschickungen, dem Alter des verwendeten Blutes und vielleicht noch von anderen, unbekanntem Einflüssen. Es ist also nur möglich, Vergleiche zu ziehen zwischen der Bindungsfähigkeit gleicher Mengen Hammelblut für verschiedene Ambozeptoren am gleichen Tage unter gleichen Verhältnissen. Die so angesetzten Versuche ergaben übereinstimmend, daß die absolute Bindungsfähigkeit der frischen Hammelerythrozyten für heterophile Ambozeptoren ausnahmslos beträchtlich größer ist als für isophile¹⁾.

Nachdem so das Verhältnis der quantitativen Bindungsfähigkeit der Erythrozyten ermittelt war, wurde versucht, mittels der Ambozeptorbindung Aufschluß über die Qualität der bindenden Funktionen der Hammelerythrozyten zu erhalten. Bekannt sind folgende Tatsachen:

1) Frische Blutkörperchen erzeugen bei Kaninchen und Meerschweinchen Hämolysine, die durch Behandlung mit frischen Hammelerythrozyten quantitativ entfernt werden können.

2) Organe vom heterogenetischen Typus und gekochte Hammelblutkörperchen erzeugen bei Kaninchen heterophile Hämolysine, die quantitativ sowohl durch Behandlung mit dem zur Gewinnung benutzten Antigen wie auch mit frischen Hammelerythrozyten entfernt werden können.

Es sollte versucht werden, die bindenden Funktionen dieser beiden Antigene der frischen Hammelerythrozyten zur Darstellung zu bringen. Der Versuchsplan war folgender:

Frise Hammelerythrozyten werden mit reinem isophilen Ambozeptor bis zur Absättigung vorbehandelt. Dann wird die Bindungsfähigkeit der Erythrozyten für heterophilen Ambozeptor geprüft. Im Gegenversuch wird zuerst mit heterophilem Ambozeptor abgesättigt, dann die Bindungsfähigkeit für isophilen ermittelt. Die Versuchsanordnung²⁾ gestaltete sich folgendermaßen:

1) Die Versuche wurden so angestellt, daß zu gleichen Mengen frischen Hammelblutes gleiche Mengen lösender Dosen isophilen und heterophilen Ambozeptors im gleichen Volumen zugesetzt wurden.

2) Sämtliche Versuche sind mehrfach mit stets gleichem Resultat ausgeführt worden.

Versuch vom 27. X. 1921.

8 ccm 5-proz. frisches Hammelblut werden mit 8 ccm der Verdünnung 1:4 eines vom Meerschweinchen gewonnenen Hammelblutambozeptors (Titer 1:800) gemischt, die Mischung in vier Zentrifugenröhrchen zu je 4 ccm abgefüllt. Die Röhrchen bleiben über Nacht im Zimmer stehen. Die abzentrifugierten Flüssigkeiten besitzen noch erhebliche Mengen Hämolyisin; aus dem weiteren Verlauf des Versuches ergibt sich, daß in diesem Falle die vollständige Absättigung erreicht war. Die abgesättigten Sedimente werden einmal mit Kochsalzlösung gewaschen¹⁾. Die Röhrchen werden nach Auffüllung der Sedimente mit Kochsalzlösung auf je 1 ccm mit 1—4 bezeichnet. Zwei Röhrchen werden nun mit dem zur Absättigung benutzten isophilen, die beiden anderen mit heterophilem Ambozeptor (Titer 1:800) beschickt. Die Röhrchen erhalten:

Röhrchen 1: 8 lösende Dosen heterophilen Ambozeptor

„ 2: 16 „ „ „ „
 „ 3: 8 „ „ isophilen „
 „ 4: 16 „ „ „ „

4 Kontrollröhrchen (Kontrollen zu 1—4) erhalten die gleichen Ambozeptormengen ohne Hammelblut. Sämtliche 8 Röhrchen werden mit Kochsalzlösung auf je 4 ccm aufgefüllt. Nach einstündiger Bindung im Wasserbad bei 37° werden die Röhrchen zentrifugiert und die Abgüsse auf ihre hämolytische Wirkung geprüft.

Tabelle IV.

| Abgußmenge aufgefüllt auf 1 ccm | Darin enthal- tene Menge lösender Dosen berechnet | 1 | Kontr. zu 1 | 3 | Kontr. zu 3 |
|---------------------------------------|--|---|----------------|------|----------------|
| 1,0 ccm | 2 lös. Dosen | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,8 „ | 1,6 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,6 „ | 1,2 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,5 „ | 1,0 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |

Fortsetzung von Tabelle IV.

| Abgußmenge aufgefüllt auf 1 ccm | Darin enthal- tene Menge lösender Dosen berechnet | 2 | Kontr. zu 2 | 4 | Kontr. zu 4 |
|---------------------------------------|--|---|----------------|------|----------------|
| 1,0 ccm | 4 lös. Dosen | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,8 „ | 3,2 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,6 „ | 2,4 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,5 „ | 2 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,3 „ | 1,2 „ „ | — | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,2 „ | 0,8 „ „ | — | +++ | +++ | +++ |

1) Eine Abspregung gebundenen Ambozeptors findet hierbei nicht statt, wie eigene Untersuchungen mit kurzer Waschungsdauer bei Zimmertemperatur ergaben (vgl. hierzu auch Munter, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 94).

Der Versuch zeigt zunächst, daß die erstmalige Beschickung des Hammelblutes mit isophilem Ambozeptor die Rezeptoren für diesen völlig besetzt hatte (daß völlige Absättigung erreicht worden war), da von den bei der zweiten Beladung dargereichten 8 bzw. 16 lösenden Dosen isophilen Ambozeptors (Reihe 3 und 4) keine Spur mehr gebunden wurde, wie der Vergleich mit den dazu gehörigen Kontrollreihen lehrt.

Der Versuch zeigt ferner, daß trotz der Absättigung des Hammelblutes mit isophilem Ambozeptor noch die ganze nachträglich dargereichte Menge des heterophilen Ambozeptors (8 bzw. 16 lösende Dosen in Reihe 1 und 2) verankert wurde. Es scheint somit, als ob diejenigen Faktoren, welche die Verankerung des isophilen Ambozeptors an die Hammelerythrozyten bewirken, von den heterophilen „Rezeptoren“ verschieden sind. Einen strikten Beweis liefert der soeben beschriebene Versuch nicht, da, wie oben gesagt, die Hammelerythrozyten bedeutend mehr heterophilen Ambozeptor zu binden vermögen, als isophilen. Aber gerade dieser letztgenannte Umstand spricht für die Dualität der bindenden Funktionen, da nicht einzusehen ist, weshalb der gleiche „Rezeptor“ von dem einen Ambozeptor wenig, vom anderen viel binden sollte.

Es wäre nun nach dem Gesagten zu erwarten, daß ein mit heterophilem Ambozeptor abgesättigtes frisches Hammelblut noch imstande ist, isophilen Ambozeptor zu verankern (cf. Sachs in Kolle-Wassermann 2, II). Unsere diesbezüglichen Versuche, die ein Gegenstück zu den oben geschilderten darstellen, haben zu einem anderen Ergebnis geführt.

Versuch vom 5. I. 1922.

8 ccm 3-proz. frisches Hammelblut werden mit 8 ccm 1:2 verdünnten Organantiserums (Titer 1:800) vermischt, die Mischung in 4 Zentrifugenröhrchen zu je 4 ccm abgefüllt. Nach mehrstündiger Bindung bei 37° und im Eischrank wird an einer Probe festgestellt, daß fast der gesamte Ambozeptor verankert ist. Daher erhalten sämtliche 4 Röhrchen nochmals Organantiserum 1:8 verdünnt, Volumen überall 4 ccm. 1 Stunde 37°, dann über Nacht Zimmertemperatur. Die Abgüsse enthalten jetzt reichliche Mengen Ambozeptor, es hat also — wie auch aus dem weiteren Verlauf ersichtlich — völlige Absättigung stattgefunden. Die Sedimente werden mit Kochsalzlösung gewaschen, auf je 1 ccm aufgefüllt und mit 1—4 bezeichnet. 2 Röhrchen werden nun mit dem zur Absättigung benutzten

heterophilen, die beiden anderen mit isophilem (vom Meerschweinchen gewonnenen) Ambozeptor (Titer 1:250) beschickt.

Die Röhrrchen enthalten:

Röhrrchen 1: 16 lösende Dosen heterophilen Ambozeptor

„ 2: 32 „ „ „ „

„ 3: 16 „ „ isophilen „

„ 4: 32 „ „ „ „

4 Kontrollröhrrchen (Kontrollen 1–4) erhalten die gleichen Ambozeptormengen ohne Hammelblut. Sämtliche 8 Röhrrchen werden mit Kochsalzlösung auf je 4 ccm aufgefüllt. Nach einstündiger Bindung im Wasserbad bei 37° werden die Röhrrchen zentrifugiert und die Abgüsse auf ihren Ambozeptorgehalt geprüft.

Tabelle V.

| Abgußmenge aufgef. auf 1 ccm | Darin enthaltene Mengen lösender Dosen berechnet | 1 | Kontr. zu 1 | 3 | Kontr. zu 3 |
|------------------------------|--|------|-------------|------|-------------|
| 1,0 ccm | 4 lös. Dosen | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,8 „ | 3,2 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,6 „ | 2,4 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,5 „ | 2 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,3 „ | 1,2 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,2 „ | 0,8 „ „ | +++ | +++ | +++ | +++ |

Fortsetzung von Tabelle V.

| Abgußmenge aufgef. auf 1 ccm | Darin enthaltene Mengen lösender Dosen berechnet | 2 | Kontr. zu 2 | 4 | Kontr. zu 4 |
|------------------------------|--|--------|-------------|--------|-------------|
| 1,0 ccm | 8 lös. Dosen | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,5 „ | 4 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,25 „ | 2 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 1,0 ccm $\frac{1}{5}$ | 1,6 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,8 „ „ | 1,28 „ „ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 0,6 „ „ | 0,96 „ „ | +++(+) | +++(+) | +++(+) | +++(+) |
| 0,4 „ „ | 0,64 „ „ | +++ | +++ | +++ | +++ |

Der Versuch zeigt zunächst, daß die zweimalige Beschickung mit heterophilem Ambozeptor zur vollkommenen Absättigung der heterophilen „Rezeptoren“ geführt hatte, da von den im Hauptversuch (Reihen 1 und 2) dargereichten 16 bzw. 32 lösenden Dosen Organantiserum keine Spur mehr verankert wurde. Das überraschende Ergebnis ist aber, daß auch vom isophilen Ambozeptor offenbar nichts gebunden wurde, da die Abgüsse der Röhrrchen 3 und 4 genau so viel hämolytischen Ambozeptor enthalten, wie die zugehörigen Kontrollen.

Betrachtet man die beiden geschilderten Versuche, so ergibt sich folgendes Resultat: Mit isophilem Ambozeptor abgesättigtes Hammelblut vermag zwar heterophilen Ambozeptor zu binden, nicht aber kann ein mit heterophilem Ambozeptor abgesättigtes Hammelblut isophilen Ambozeptor verankern. Während aus dem ersten Versuch eine Dualität der bindenden Funktionen hervorzugehen scheint, zeigt der zweite Versuch offenbar, daß es dieselben „Rezeptoren“ sind, welche die verschiedenen Ambozeptoren verankern.

Bevor wir versuchen wollen, diesen Widerspruch zu erklären, muß noch ein Einwand entkräftet werden, der sich gegen den letztbeschriebenen Versuch erheben läßt.

Sättigt man Hammelblut mit heterophilem Ambozeptor ab und gibt dann isophilen Ambozeptor zum Sediment, so erscheint ebensoviel Hämolysin im Abguß, als isophiler Ambozeptor hinzugefügt worden war. Es wäre nun denkbar, daß dieses Hämolysin gar nicht das zuletzt zugefügte isophile wäre, sondern daß dieses äquivalente Mengen des zuerst gebundenen heterophilen Ambozeptors aus dem Sediment abgesprengt hätte und an dessen Stelle verankert worden wäre. Es mußte also die Qualität des im Abguß eines mit heterophilem Ambozeptor abgesättigten, dann mit isophilem Ambozeptor beschickten Hammelbluts gefundenen Hämolysins ermittelt werden.

Versuch vom 12. I. 1922.

2 ccm 3-proz. frisches Hammelblut werden mit 2 ccm Organantiserum (Titer 1 : 800) vermischt, 1 Stunde im Wasserbad bei 37° gehalten. Nach Zentrifugieren werden zu dem Sediment nochmals 0,25 ccm Organantiserum zugegeben, Gesamtvolumen 4 ccm. Als Kontrolle erhält ein Röhrchen ebenfalls 0,25 ccm Organantiserum + 3,75 ccm Kochsalzlösung. Die beiden Röhrchen kommen für 1 Stunde ins Wasserbad bei 37° und werden bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt. Nach Zentrifugieren wird austitriert: Beide Flüssigkeiten enthalten gleiche Mengen Hämolysin¹⁾, das Sediment war also vollkommen mit Organantiserum abgesättigt. Das Sediment wird mit Kochsalzlösung gewaschen (Dauer der Waschung 6 Minuten). Zum Sediment werden 24 lösende Dosen Meerschweinchen-Hammelblutimmenserum (Titer 1 : 1600) zugegeben; Volumen 8 ccm. Eine Kontrolle erhält die gleiche Menge desselben Ambozeptors in 8 ccm Kochsalzlösung. Nach einstündigem Aufenthalt beider Röhrchen im Wasserbad

1) Der Raumerparnis halber nicht in Protokollform wiedergegeben.

bei 37° wird zentrifugiert. Ein Teil des Abgusses wird im Vergleich mit der Kontrolle austitriert.

Tabelle VI.

| Abgußmenge aufgefüllt auf 1 ccm | Darin enthaltene Mengen lösender Dosen berechnet | Abguß vom Sediment | Kontrolle |
|---------------------------------------|--|-----------------------|-----------|
| 1,0 ccm | 3 lös. Dosen | ++++ | ++++ |
| 0,5 " | 1,5 " " | ++++ | ++++ |
| 0,4 " | 1,2 " " | ++++ | ++++ |
| 0,3 " | 0,9 " " | +++(+) | +++(+) |
| 0,2 " | 0,6 " " | +++ | +++ |
| 0,15 " | 0,45 " " | ++ | ++ |
| 0,1 " | 0,3 " " | + | + |

Die gesamte Anzahl der bei der zweiten Beladung zugesetzten lösenden Dosen ist also ungebunden geblieben.

Es werden nun 5 ccm des Abgusses vom Sediment, enthaltend 15 lösende Dosen Ambozeptor, mit 1 ccm einer dichten gekochten Meerschweinchennierenaufschwemmung¹⁾ versetzt, 1 Stunde unter mehrfachem Umrühren mit einem Glasstab im Wasserbad bei 37° gehalten und zentrifugiert. Der vollkommen klare Abguß wird austitriert.

Tabelle VII.

| Abgußmenge aufgefüllt auf 1 ccm | 1,0 | 0,8 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 |
|---|------|------|------|------|------|------|-----|
| Darin enthaltene Mengen lösender Dosen berechnet | 2,5 | 2,0 | 1,5 | 1,25 | 1,0 | 0,75 | 0,5 |
| | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ |

Der nach der zweiten Beladung im Abguß gefundene Ambozeptor wurde also nicht von der Meerschweinchennierenaufschwemmung gebunden, d. h. es war der bei dieser Beladung dargereichte isophile Ambozeptor.

Wir ziehen daraus den Schluß, daß die Avidität des isophilen Ambozeptors zum Hammelblut nicht so groß ist, daß durch nachträglich zugefügten isophilen Ambozeptor ein bereits verankerter heterophiler verdrängt wird. Es blieb nun noch übrig, festzustellen, ob bei geeigneter Versuchsanordnung das

1) In einem besonderen Versuch wurde festgestellt, daß die benutzte Meerschweinchennierenaufschwemmung ein gutes Bindungsvermögen für Organantiserum besitzt, sowie, daß ein Kochsalzextrakt aus derselben Aufschwemmung keine Spur hämolytischer Wirkung (auch nicht in Gegenwart von Komplement) hat.

Umgehrte vielleicht der Fall ist. Da die Bindungsfähigkeit des frischen Hammelbluts für heterophilen Ambozeptor bedeutend größer ist als für isophilen, lag der Gedanke nahe, daß der heterophile eine größere Avidität besitzt und vielleicht imstande wäre, unter gewissen Bedingungen den isophilen aus der Bindung an die Erythrozyten zu verdrängen. Folgende Versuchsanordnung schien zur Lösung dieser Frage geeignet: Hammelblut wird mit isophilem Ambozeptor abgesättigt. Dann wird heterophiler Ambozeptor im Ueberschuß zugesetzt, so daß nach Ablauf der Bindungszeit der Abguß noch Hämolysin enthält. Wird dieses Hämolysin von den Organen des heterogenetischen Typus restlos verankert, so war es nur der Ueberschuß an Organantiserum. Bleibt hingegen nach Behandlung des Abgusses mit genügenden Mengen Meerschweinchenniere noch Hämolysin übrig, so ist dieses Hämolysin das isophile, welches durch die Aviditätswirkung des heterophilen aus seiner Bindung an die Erythrozyten verdrängt (abgesprengt) worden war.

Versuch vom 29. III. 1922.

2 ccm 5-proz. frisches Hammelblut werden mit 2 ccm eines 1:2 verdünnten Meerschweinchen-Hammelblutimmuncrums (Titer 1:200) vermischt, in zwei gleiche Teile geteilt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. In den Abgüssen sind noch reichliche Mengen Hämolysin nachweisbar; der weitere Verlauf des Versuches zeigt, daß eine vollkommene Absättigung der Sedimente mit isophilem Ambozeptor stattgefunden hat. Die Sedimente, bezeichnet mit 1 und 2, werden einmal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen (Dauer dieser Manipulation 6 Minuten). Nun wird festgestellt, ob tatsächlich die beiden Sedimente mit isophilem Ambozeptor abgesättigt sind. Zu diesem Zweck erhält Röhrchen 2 16 lösende Dosen isophilen Ambozeptors: Gesamtvolumen 8 ccm. Eine Kontrolle erhält die gleiche Menge des gleichen Ambozeptors in Kochsalzlösung. Nach einstündiger Bindung bei 37° im Wasserbad werden die Flüssigkeiten aus diesen beiden Röhrchen austitriert. Hierbei wird festgestellt, daß der Hämolysingehalt beider gleich groß ist, das heißt, daß das Sediment bei der zweiten Beladung keinen isophilen Ambozeptor mehr gebunden hatte, daß also die erstmalige Beschickung mit isophilem Ambozeptor zur vollkommenen Absättigung der Sedimente 1 und 2 mit diesem geführt hatte¹⁾. Inzwischen hatte das Röhrchen 1 400 lösende Dosen heterophilen Ambozeptor (Titer 1:600) im Gesamtvolumen von 8 ccm erhalten. Ebenso wurde eine Kontrolle K angelegt, die die gleiche Menge Organantiserum mit Kochsalzlösung vermischt im gleichen Volumen enthielt. Die Röhrchen 1 und K werden nach einstündigem Aufenthalt im Wasserbad bei

37° zentrifugiert, ein Teil der überstehenden Flüssigkeiten wird aus-
titriert¹⁾).

Es zeigt sich, daß etwa $\frac{3}{4}$ des vorgelegten heterophilen
Ambozeptors verankert sind, daß aber der Abguß noch einen
Ueberschuß von Hämolysin enthält.

Nun werden je 3,0 ccm aus Röhrchen I und Röhrchen K mit je
1,0 ccm einer dichten gekochten Meerschweinchennierenaufschwemmung
vermischt eine Stunde im Wasserbad bei 37° gehalten. Nach Zentrifugieren
ergibt die Prüfung dieser beiden Abgüsse, daß sie keine Spur Hämolysin
mehr enthalten¹⁾).

Hierdurch ist bewiesen, daß das im ersten Abguß I ent-
halten gewesene Hämolysin nur das heterophile war, daß
also keine Verdrängung des ursprünglich an das Hammelblut
gebundenen isophilen Ambozeptors durch die nachträgliche
Beschickung mit heterophilem stattgefunden hatte. Ein
Aviditätsunterschied der beiden verschiedenen Ambozeptoren
in bezug auf frisches Hammelblut scheint demnach nicht zu
bestehen.

Daß es tatsächlich möglich ist, in einem Gemisch, das
große Mengen heterophilen, aber nur geringe Mengen isophilen
Ambozeptors enthält, die Anwesenheit des letzteren zur Dar-
stellung zu bringen, zeigt der folgende Versuch, der als Er-
gänzung zu dem vorigen notwendig erschien.

Wenn nämlich wirklich, wie es tatsächlich ja nicht der
Fall ist, der Zusatz einer großen Menge heterophilen Ambo-
zeptors zu dem mit isophilem Ambozeptor abgesättigten
Hammelblut diesen ganz oder teilweise absprengt, so würde
ein Gemisch entstehen, das eine große Menge heterophilen,
aber sehr wenig isophilen Ambozeptor enthält. Es wäre
immerhin denkbar, daß die verhältnismäßig geringen in dem
Gemisch enthaltenen Mengen des isophilen Ambozeptors sich
dem Nachweise entziehen. Der nachstehend beschriebene
Versuch zeigt, daß das nicht der Fall ist.

Versuch vom 30. III. 1922.

Ein Röhrchen erhält 150 lösende Dosen Organantiserum und 8 lösende
Dosen Meerschweinchen-Hammelblutimmunserum; ein Kontrollröhrchen
160 lösende Dosen Organantiserum. Zu beiden Röhrchen wird je 1 ccm

1) Der Raumerparnis halber wird das Ergebnis nicht in Protokoll-
form wiedergegeben.

einer dichten gekochten Meerschweinchennierenaufschwemmung und Kochsalzlösung zur Auffüllung auf je 4 ccm zugegeben. Nach einstündigem Aufenthalt im Wasserbad bei 37° wird zentrifugiert und austitriert. Es zeigt sich, daß sämtliches Hämolysin des Kontrollröhrchens an die Organzellensuspension verankert ist, daß also die verwendete Menge Nierenaufschwemmung imstande war, mindestens 160 lösende Dosen Organantiserum zu binden. Der Abguß des anderen Röhrchens zeigt im Hämolyseversuch folgendes Bild:

Tabelle VIII.

| Abgußmenge auf- gefüllt auf 1 ccm | 1,0 | 0,8 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 |
|--------------------------------------|------|------|------|------|-----|-----|
| | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ |

Unter der Voraussetzung, daß die Organzellensuspension aus dem Gemisch, welches 150 lösende Dosen heterophilen und 8 lösende Dosen isophilen Ambozeptor enthielt, nur den ersteren verankert, müssen die angesetzten Hämolyseröhrchen nach der Berechnung folgende Mengen des isophilen Ambozeptors enthalten: 2, 1,6, 1,2, 1,0, 0,8, 0,6 lösende Dosen. Das oben wiedergegebene Protokoll zeigt, daß der tatsächlich nachweisbare Hämolysingehalt der Berechnung genau entspricht, daß es also gelingt, auch geringe Mengen isophilen Ambozeptors in einem Gemisch, das außerdem die fast zwanzigfache Menge heterophilen Ambozeptors enthält, zur Darstellung zu bringen.

Im Anschluß hieran seien noch kurz einige ähnliche Versuche erwähnt, die im Zusammenhang damit stehen.

v. Eisler (10) hatte gefunden, daß die Mischung isogenetischer hammelblutlösender Kaninchenimmunsera nach 2—3 Wochen in vielen Fällen eine Zunahme ihrer Lösungskraft bedingt. Wir haben Gemische aus isogenetischen und heterogenetischen Kaninchen-Hammelblutambozeptoren hergestellt und die Titer des Gemisches und seiner Komponenten bestimmt. Dabei wurde folgendes gefunden: Stellt man Gemische in verschiedenen Verhältnissen her, so entspricht der Titer des Gemisches unmittelbar nach der Mischung dem arithmetischen Mittel aus den Titern der Komponenten.

Um den Einfluß der Lagerung auf den Titer eines Gemisches im Vergleich mit dem seiner Komponenten festzustellen, wurde folgender Versuch unternommen:

Versuch vom 30. V. 21—1. IX. 21.

Am 30. V. 21 werden folgende Sera eingeschmolzen:

- 1) Organantiserum unverdünnt¹⁾.
- 2) Isogenetischer Kaninchen-Hammelblutambozeptor unverdünnt.
- 3) Gemisch aus gleichen Teilen 1 und 2.
- 4) Organantiserum mit physiologischer Kochsalzlösung 1:10 verdünnt.
- 5) Isogenetischer Kaninchen-Hammelblutambozeptor mit physiologischer Kochsalzlösung 1:10 verdünnt.
- 6) Gemisch aus gleichen Teilen 4 und 5.

Nach dreimonatigem Aufenthalt im Eisschrank haben die Sera folgende Titer (1. IX. 21):

Tabelle IX.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1:1600 | 1:3200 | 1:2400 | 1:1600 | 1:3200 | 1:2400 |

Nun werden die Sera 4 bis 6 mit Meerschweinchenniere digeriert. Danach ist der Titer:

Tabelle X.

| 4 | 5 | 6 |
|---|--------|-------|
| ∅ | 1:1000 | 1:500 |

Es hatte also im vorliegenden Fall die dreimonatige Lagerung keine Steigerung der hammelblutlösenden Kraft des Gemisches gegenüber den Komponenten bedingt; der Titer des Gemisches entsprach dem arithmetischen Mittel aus den Titern seiner Bestandteile. Auch die Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung hatte keinen Einfluß auf die Titerhöhe ausgeübt. Die Behandlung mit Meerschweinchenorganzellen ergab komplette Bindungsfähigkeit des heterogenetischen Ambozeptors, Vorhandensein einer beträchtlichen Quote heterophilen Ambozeptors im isogenetischen Immunserum, sowie einen Titer für den isophilen Anteil des Gemisches, der dem arithmetischen Mittel aus den Titern seiner Bestandteile (0 bzw. 1:1000) gleich ist.

1) Die Titer der Sera am Tage des Einschmelzens wurden nicht bestimmt, da es nur darauf ankam, zu ermitteln, ob die Lagerung den Titer des Gemisches im Vergleich mit dem der in gleicher Weise gelagerten Einzelsera erhöht.

Erklärungsversuche.

Die Ergebnisse der Hauptversuche sind folgende: Frisches Hammelblut bindet isophilen und heterophilen Ambozeptor, letzteren in höherem Maße (mehr lösende Dosen). Sättigt man Hammelblut mit isophilem Ambozeptor ab, so wird noch heterophiler gebunden; ein mit heterophilem Ambozeptor gesättigtes Hammelblut vermag aber nicht mehr isophilen Ambozeptor zu binden. Stellt man sich also die Aufgabe, sämtliche bindenden Qualitäten des frischen Hammelbluts zur Funktion zu bringen, so spielt dabei die Reihenfolge eine entscheidende Rolle (vgl. Karczag, Biochem. Zeitschr., Bd. 122). Im Sinne der Seitenkettentheorie besitzt das frische Hammelblut zwei Rezeptoren: einen isogenen, welcher koktolabil ist, und einen heterogenen, welcher koktostabil ist (die Partialrezeptoren für Rinderblut können für die vorliegenden Betrachtungen außer acht gelassen werden). Diese Rezeptoren vermögen die beiden verschiedenen Ambozeptoren zu verankern; sie sind im frischen Hammelblut gleichzeitig nebeneinander in funktionsfähigem Zustande vorhanden. Ihre antigene Wirksamkeit im Tierversuch ist je nach der Tierart verschieden; beim Meerschweinchen kommt nur die isogene Hammelblutquote, beim Kaninchen kommen beide Anteile zur Wirkung. Daß im Meerschweinchenorganismus die antigene Wirkung der heterogenen Hammelblutquote nicht zur Geltung kommt, liegt daran, daß das Meerschweinchen in seinen Organen gleichartige Antigene besitzt; eine Antikörperbildung gegen diese kommt entweder gar nicht zustande, oder die etwa gebildeten Antikörper werden gewissermaßen in statu nascendi von den Organen gebunden, können daher nicht zum Vorschein kommen. Daß der heterogene Anteil der Hammelerythrozyten beim Kaninchen eine antigene Wirkung ausübt, ist zwar nicht strikte zu beweisen, da die meisten Kaninchen schon normalerweise heterophile Hammelblutambozeptoren in ihrem Serum besitzen, deren starke Steigerung im Verlaufe der Immunisierung mit frischem Hammelblut zu einem gewissen Grade als Reizwirkung aufgefaßt werden könnte. Immerhin besteht keine Veranlassung, die starke Vermehrung (und bei manchen Tieren Neubildung) der heterophilen Hämolysine nur als Reizwirkung erklären zu müssen; wir schließen uns daher

der Auffassung von Hans Schmidt an, welcher der heterogenen Quote der frischen Hammelblutkörperchen eine echte antigene Wirkung auf den Kaninchenorganismus zuschreibt.

Wenn wir nun versuchen, uns eine Vorstellung über die Natur der beiden im frischen Hammelblut enthaltenen Antigene zu bilden, so müssen wir folgende Tatsachen betrachten. Das frische Hammelblut enthält ein koktolabiles, isophile Ambozeptoren bildendes und bindendes, sowie ein koktostabiles (Doerr und Pick, 12), heterophile Ambozeptoren bindendes und (beim Kaninchen) bildendes Antigen. Eine Reindarstellung des koktolabilen Antigens ist unmöglich, die Reingewinnung des koktostabilen gelingt leicht. Aus der Koktolabilität des isogenen Antigens müssen wir schließen, daß es eiweißartiger Natur ist; durch Erhitzung wird das Eiweiß denaturiert und demzufolge als Antigen unwirksam. Die Natur des koktostabilen Antigens ist nicht rein eiweißartiger Natur; dafür sprechen erstens seine Kochbeständigkeit und zweitens seine Löslichkeit in Alkohol (11). Man könnte daran denken, daß das koktostabile Antigen ein lipoidartiger Körper ist; mit dieser Annahme wären Thermoresistenz und Alkohollöslichkeit vereinbar.

Nach Landsteiner (13) sind Alkoholextrakte aus Pferdeniere imstande, heterogenetisches Hämolysin zu binden, nicht aber es zu erzeugen. Er nimmt an, daß das Antigen aus einem für die Immunisierung notwendigen Eiweißanteil und einem antikörperbindenden, alkohollöslichen, wahrscheinlich lipoiden Anteil, den er als „Hapten“ bezeichnet, besteht.

Tatsachen und Deutungsmöglichkeiten ähneln den Verhältnissen, wie sie auch bei den Antigenen zur Wassermannschen Reaktion vorliegen. Auch hier Alkohollöslichkeit der bindenden, aber nicht der antikörperbildenden Eigenschaften. Seligmann (14) hatte daher schon 1910 entsprechende Schlußfolgerungen auf die Natur des Antigens der Wassermannschen Extrakte gezogen: ein Lipoid (Diamidophosphatid), das in wässriger Lösung als Lipoideiweißverbindung, in alkoholischen Extrakten als reines Lipoid vorhanden ist.

Unsere eigenen Versuche lassen sich in ähnlichem Sinne deuten. Wir müssen ein in den frischen Hammelerythrozyten vorhandenes eiweißartiges Antigen annehmen, das den isophilen Ambozeptor bindet. Dasjenige Antigen, welches den heterophilen Ambozeptor bindet (das heterogene), ist lipoider Natur, steht aber in innigster Beziehung zu dem vorgenannten eiweißartigen; denn durch Besetzung der heterogenen „Re-

zeptoren“ werden gleichzeitig auch die isogenen „Rezeptoren“ blockiert, so daß sie nicht mehr isophilen Ambozeptor binden können¹⁾. Zur Bindung des heterophilen Ambozeptors genügt die Lipoidkomponente allein, da auch mit isophilem Ambozeptor abgesättigtes Hammelblut, dessen Eiweißkomponente also bereits besetzt ist, sowie gekochtes Hammelblut, bei dem die Eiweißkomponente zerstört ist, heterophilen Ambozeptor zu binden imstande sind. Das gleiche gilt für die alkoholischen Extrakte, in denen nur der Lipoidanteil gelöst ist; auch sie binden heterophilen Ambozeptor. Die antikörperbildende Fähigkeit fehlt dem isolierten Lipoidanteil (Alkoholextrakt)²⁾; sie bleibt ihm aber erhalten, wenn die Eiweißkomponente, selbst in geschädigtem Zustande, zugegen ist (erhitztes Antigen).

Da wir festgestellt haben, daß von einem bestimmten Quantum frischen Hammelbluts bedeutend mehr lösende Dosen des heterophilen Ambozeptors gebunden werden als vom isophilen, so müssen wir annehmen, daß die heterogenen lipoiden Rezeptoren in größerer Anzahl an den Blutkörperchen vorhanden sind, als die eiweißartigen isogenen Rezeptoren.

Wir unterscheiden also:

1) Die Fähigkeit, isophilen Ambozeptor bei Meerschweinchen und Kaninchen zu bilden, kommt dem Eiweißanteil der frischen Hammelblutkörperchen zu.

2) Die Fähigkeit, heterophilen Ambozeptor beim Kaninchen zu bilden, kommt einem Lipoideiweißkomplex zu; das darin enthaltene Eiweiß ist das unter 1) erwähnte. Der Lipoideiweißkomplex entfaltet seine antigene Wirkung auch dann noch, wenn sein Eiweißanteil denaturiert (erhitzt) ist.

3) Die Bindung des isophilen Ambozeptors an frisches Hammelblut wird durch das eiweißartige Antigen bewirkt.

1) Ein Vorgang, der in der Stereochemie seine Parallelen hat.

2) Dem scheinen jedoch Versuche von Friedberger und Suto (15) zu widersprechen, die gefunden haben, daß ein „Alkoholextrakt“ aus antigenhaltigem Material (Pferdeharn) Hammelbluthämolysine beim Kaninchen erzeugen kann. Immerhin liegt in diesen Versuchen die Möglichkeit vor, daß infolge des Zusammenwirkens von Alkohol und Harn ein wässrig-alkoholischer Extrakt resultiert, der auch noch Reste des eiweißartigen Antigenanteils enthält.

4) Die Bindung des heterophilen Ambozeptors an frisches unbehandeltes Hammelblut wird durch den Lipoideiweißkomplex bewirkt. „Haptophore Gruppe“ („Hapten“ Landsteiners) hierfür ist allein der Lipoidanteil. Dieser ist auch noch fähig, heterophilen Ambozeptor zu verankern, wenn der Eiweißanteil durch isophilen Ambozeptor besetzt ist.

5) Bei der Bindung des heterophilen Ambozeptors an alkoholische Extrakte ist der Lipoidanteil allein wirksam.

6) Entsprechend ist das Antigen der Meerschweinchenorgane ein komplexes. Auch hier liegt eine Lipoideiweißkombination vor, die den gleichen Bedingungen gehorcht, wie die der Hammelblutkörperchen. Der grundlegende Unterschied ist der, daß die Eiweißkomponente des Meerschweinchenantigens als Trägerin der artspezifischen Funktion von der im Hammelblut vorhandenen biologisch verschieden ist. Sie vermag nicht, isophilen Hammelblutambozeptor zu binden.

7) Im Schema der Ehrlichschen Anschauungsweise würden sich die Verhältnisse folgendermaßen darstellen:

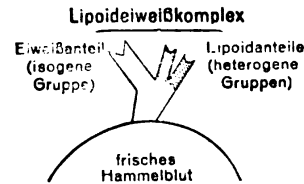


Fig. 1.



Fig. 2.

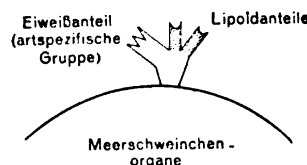


Fig. 3.

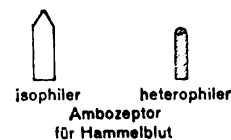


Fig. 4.

Zusammenfassung.

1) Durch Injektion von frischem Hammelblut bei Kaninchen gewonnenes, isogenetisches Immuneserum enthält in der Regel neben den isophilen Ambozeptoren eine mehr oder minder beträchtliche Menge heterophiler Ambozeptoren, die sich durch Behandlung des Immuneserums mit Organen vom

heterogenetischen Typus oder mit gekochtem Hammelblut entfernen lassen.

2) Ein rein isophiles Hammelblutimmunserum (frei von heterophilen und Rinderblutambozeptoren) erhält man durch Injektion frischen Hammelbluts bei Meerschweinchen.

3) Aus rein isophilen bzw. heterophilen Antiseren bindet frisches Hammelblut bedeutend mehr heterophilen Ambozeptor als isophilen. Aviditätsunterschiede ließen sich in unseren Versuchen nicht nachweisen.

4) Mit isophilem Ambozeptor abgesättigtes Hammelblut vermag noch heterophilen Ambozeptor zu binden. Mit heterophilem Ambozeptor abgesättigtes Hammelblut ist dagegen nicht mehr imstande, isophilen Ambozeptor zu binden.

5) Es gelingt, in einem Gemisch, das große Mengen heterophilen neben geringen Mengen isophilen Ambozeptors enthält, nach Abbindung des heterophilen den isophilen quantitativ nachzuweisen.

6) Das Substrat für die antikörperbindenden und -bildenden Funktionen der Hammelblutkörperchen und der Meerschweinchenorgane sind Lipoid-eiweißkomplexe, deren biologisches Verhalten erörtert wird.

Literatur.

- 1) Forssman, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 37.
- 2) Michaelis und Fleischmann, *Zeitschr. f. klin. Med.*, Bd. 58
- 3) Sachs und Georgi, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 21.
- 4) Seligmann und von Gutfeld, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1919.
- 5) Gaethgens, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 31.
- 6) Orudschiew, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 16.
- 7) Friedemann, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 88.
- 8) Schmidt, *Beitr. z. Klin. d. Tub.*, Bd. 47.
- 9) Schiff, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 20.
- 10) von Eisler, *Zentralbl. f. Bakt., Orig.*, Bd. 83.
- 11) von Gutfeld, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 33.
- 12) Doerr und Pick, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 50.
- 13) Landsteiner, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 119.
- 14) Seligmann und F. Pinkus, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 5.
- 15) Friedberger und Suto, *Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig.*, Bd. 28.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 5016
