

CLASS
BOOK



Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von:

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

herausgegeben von:

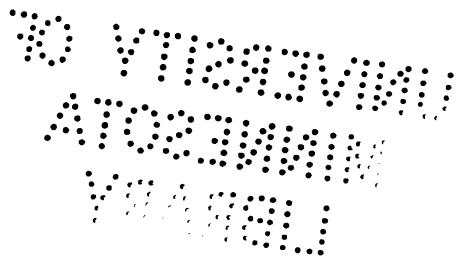
E. FRIEDBERGER (Berlin.) **R. KRAUS** (Wien.) **H. SACHS** (Frankfurt a. M.) **P. UHLENHUTH** (Gr.-Lichterfelde-Berlin.)

Vierter Band.

Mit 25 Figuren und 31 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1910



Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1 und 2. (Ausgegeben am 16. Dezember 1909.)

	Seite
Ohkubo, Sakaye , Ueber die opsonische Wirkung des Behringschen Diphtherieantiserums. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität München; Vorstand: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. v. Gruber]	1
Carrière, H. , und Tomarkin, E. , Experimentelle Studien zur Frage der Serumtherapie der Cholera asiatica. [Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten der Universität Bern; Direktor: Prof. W. Kolle]	30
Jacobaeus, H. C. , und Backman, E. Louis , Ueber verschiedene Modifikationen der Wassermannschen Reaktion. [Aus dem klinischen Laboratorium des Kgl. Serafimerlazarets, Stockholm]	78
Sellgmann, E. , und Klopstock, F. , Versuche zur Deutung der pneumonischen Krisis. [Aus dem Städtischen Untersuchungsamte und der II. Inneren Abteilung des Krankenhauses im Friedrichshain zu Berlin]	103
Blanck und Friedemann, U. , Ueber thermoreversible Zustandsänderungen der bei der Wassermannschen Reaktion verwendeten alkoholischen Leberextrakte	108
Biedl, A. , und Kraus, R. , Ueber passive Anaphylaxie (Serumanaphylaxie). [Aus dem staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien und dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf)]	115
Bücher, St. , und Laub, M. , Zur Wirkungsweise des Dysenterieserums. [Aus dem staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf]	124
De Waele, Henri , Sur l'interprétation de l'incubation. [Travail du Laboratoire d'Hygiène et de Bactériologie de l'Université de Gand]	148
Atkin, E. E. , Experiments upon the Immunising Property of heated Vibriolysin, and its Neutralisation by Antilysin. [From the Danish State Serum Institute.] With 4 Charts	156

119830

	Seite
Breinl, A., und Nierenstein, M., Beitrag zur Kenntnis des Arsenophenylglycins. [Aus dem Runcorn Research Laboratories der Liverpool School of Tropical Medicine]	169
Bonhoff, H., und Tsuzuki, M., Ueber die Schnellimmunisierungsmethode von Fornet und Müller (Präzipitine und Hämolsine). [Aus der Hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg a. L.]	180
Tsuzuki, M., Ueber die Schnellimmunisierung nach Fornet und Müller (Agglutinine). [Aus der Hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg a. L.]	194
Angerer, Carl, und Hartoch, Oskar, Ueber Beschleunigung der Bakteriolyse im Peritoneum von Meerschweinchen. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	210
Friedberger, E., und Hartoch, O., Ueber Beschleunigung und Verstärkung der Opsoninwirkung durch präzipitierende Sera. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	218
Döblin, Alfred, Ueber den Nachweis von Antitrypsin im Urin. [Aus der I. inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Am Urban (Prof. Alb. Fränkel) und dem Bakteriologischen Laboratorium (Prof. Leonor Michaelis)]	224
Döblin, Alfred, Untersuchungen über die Natur des Antitrypsins. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Krankenhauses Urban Berlin (Prof. L. Michaelis)]	229
Rous, Peyton, On the Reaction of Tumor Mice to Injections of Tumor Emulsion. [From the Laboratories of the Rockefeller Institute for Medical Research New York]	238
Angerer, Carl, Ueber Amobozeptorwirkung in Salzlösung verschiedener Konzentration. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	243
Ball, Oskar, und Weill, Edmund, Bemerkungen zu der Arbeit von Th. Holobut: Zur Frage der Bakterienanaphylaxie	249
Holobut, Th., Ueber Bakterienanaphylaxie	252
Pfeiffer, Hermann, Bemerkungen zum Artikel von J. Novotný: „Ist die Temperatursteigerung als Kriterium bei der passiven Uebertragung der Tuberkuloseüberempfindlichkeit anzusehen?“	254
Novotný, J., Erwiderung	256

Heft 3. (Ausgegeben am 28. Dezember 1909.)

	Seite
v. Dungern und Hirschfeld , Ueber lokale allergetische Reaktionen gegenüber artfremdem, artgleichem und individuumgleichem Hodengewebe nach spezifischer Vorbehandlung und bei trächtigen Tieren. [Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg; Direktor: Wirkl. Geh.-Rat Prof. Dr. V. Czerny]	257
Römer, Paul H., und Sames, Th. , Ueber die Haltbarkeit heterologen Antitoxins im Organismus. [Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg.] Mit 8 Kurven im Text	270
Levy, E., und Kreneker, E. , Ueber die Wirkung und therapeutische Verwertung der durch Galaktose abgetöteten Tuberkelbacillen (Tebean). [Aus der Medizinischen Abteilung II des Bürgerspitals zu Straßburg i. E.; Direktor: Prof. Dr. A. Cahn]	286
Barratt, J. O. Wakelin, und Yorke, Warrington , Ueber den Mechanismus der Entstehung der Hämoglobinurie bei Infektionen mit Piroplasma canis. [Aus den Runcorn Research Laboratories der Liverpool School of Tropical Medicine.] Mit 5 Figuren im Text	313
Eisenberg, Philipp, und Nitsch, Roman , Zur Technik und Theorie der Wassermannschen Reaktion. [Aus dem k. k. Hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität Krakau; Vorstand: Prof. O. Bujwid]	331
Benedixsohn , Psychiatrische Erfahrungen mit der Wassermannschen Reaktion. [Aus der Psychiatrischen- und Nervenklinik zu Greifswald]	349
Michaelis, Leonor, und Skwirsky, Peter , Der Einfluß der Reaktion auf die spezifische Hämolyse. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhause Am Urban, Berlin]	357

Heft 4. (Ausgegeben am 21. Januar 1910.)

Brezina, Ernst, und Ranzi, Egon , Präzipitogene des Kotes und der Ausscheidungen sowie der zelligen Auskleidung des Magen-Darmtraktes. [Aus dem Hygienischen Institut (Vorstand: Prof. Schattenfroh) und der I. chirurgischen Klinik (Vorstand: Prof. Freih. v. Eiselsberg) der k. k. Universität in Wien]	378
Pfeiffer, Hermann, und Mita, S. , Studien über Eiweiß-Anaphylaxie. [Aus dem Institute für gerichtliche Medizin der k. k. Universität in Graz (Vorstand: Prof. Dr. J. Kratter).] Mit 15 Kurven im Text	410
Pfeiffer, Hermann , Zur Frage des Nachweises eines anaphylaktischen Reaktionskörpers im Blute von Tumorkranken. [Aus dem Institute für gerichtliche Medizin der k. k. Universität in Graz (Vorstand: Prof. Dr. J. Kratter).] Mit 4 Kurven im Text	455

VI

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Baill, Oskar , Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit. [Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag; Vorstand: Prof. F. Hueppe]	470
Nassetti, Francesco , Ueber den Einfluß der Saughyperämie auf den Mäusekrebs. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).] Mit 20 Figuren im Text	486
Schuberg und Mantoufel , Ueber erworbene Immunität gegen Rekurrens bei <i>Ornithodoros moubata</i>	512
Streng, Osv. , Aléxin oder Proagglutinoid?	515
v. Dungern, E., und Hirschfeld, L. , Ueber Nachweis und Vererbung biochemischer Strukturen. I. [Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Wirkl. Geheimrat Czerny).]	531
Simon, Siegfried , Ueber Tuberkulinanaphylaxie. [Aus der Bakteriologischen Abteilung des Krankenhauses Am Urban, Berlin] . . .	547
Novotný, J., und Schick, B. , Ueber Diphtheriekutanreaktion beim Meerschweinchen. [Aus der k. k. Pädiatrischen Klinik (Vorstand: Hofrat Prof. Escherich) und dem k. k. Serotherapeutischen Institut (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf)]	550
Hamburger, F., und Moro, E. , Anaphylaxie und Präzipitinreaktion .	556

Heft 5. (Ausgegeben am 10. Februar 1910.)

Gaeltgens, Walter , Ueber die Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie zu Straßburg i. E., Abteilung für Typhusbekämpfung]	559
Joseph, Karl , Zur Theorie der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit. [Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg]	575
Landsteiner, Karl, und Prasek, Emil , Uebertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen. II. Mitteilung. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminen-Spitals und der Abteilung für Kinderkrankheiten (Prim. Foltanek) in Wien]	584
Braun, Hugo , Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit. [Aus dem Pharmakologischen Institute der deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. Dr. Pohl)]	590
Kraus, R., und Amiradžibi, Fürst S. , Ueber Bakterienanaphylaxie. Dritte Mitteilung. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf]	607
Tsuru, Jusen , Ueber Komplementabnahme bei den verschiedenen Formen der Anaphylaxie (Serum-, Bakterien-, Blut-, Pflanzenanaphylaxie) und über Einfluß normalen Serums auf den Komplementschwund. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf]	612

Inhaltsverzeichnis.

VII

	Seite
Michaëlis, Leonor, und Skwirsky, Peter, Der Einfluß der Reaktion auf die spezifische Hämolyse. Zweite Mitteilung. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin]	629
Friedberger, E., Weitere Untersuchungen über Eiweißanaphylaxie. IV. Mitteilung. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	636
Friedberger, E., und Burekhardt, J. L., Weitere Untersuchungen über Eiweißanaphylaxie. V. Mitteilung: Gibt es eine passive Uebertragung der Meerschweinchenanaphylaxie im präanaphylaktischen Stadium des aktiv präparierten Tieres? [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	690
Carl, Walther, Ein neues Verfahren zur Unterscheidung von Natur- und Kunsthonig	700

Heft 6. (Ausgegeben am 21. Februar 1910.)

Kiss, Julius, Experimentelle Beiträge zur Erklärung der Wassermannschen Reaktion. [Aus dem Hauptstädtischen Bakteriologischen Institut in Budapest (Leiter: Doz. Dr. Bernhard Vas)]	703
Jacoby, Martin, und Schütze, Albert, Ueber die Inaktivierung der Komplemente durch Schütteln. [Aus dem Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin]	730
Dunbar, W. P., Ueber das serobiologische Verhalten der Geschlechtszellen	740
Uhlenhuth und Haendel, Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxie zur Erkennung und Unterscheidung verschiedener Eiweißarten. [Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte zu Berlin]	761

Autorenverzeichnis.

- Angerer 243.
Angerer und Hartoch 210.
Atkin 156.
Bächer und Laub 124.
Bail 470.
Bail und Weil 249.
Barratt und Yorke 313.
Benedixsohn 349.
Biedl und Kraus 115.
Blanck und Friedemann 108.
Bonhoff und Tsuzuki 180.
Braun 590.
Breinl und Nierenstein 169.
Brezina und Ranzi 375.
Carl 700.
Carrière und Tomarkin 30.
De Waele 148.
Döblin 224, 229.
Dunbar 740.
v. Dungern und Hirschfeld 257, 531.
Eisenberg und Nitsch 331.
Friedberger 636.
Friedberger und Burckhardt 690.
Friedberger und Hartoch 218.
Gachtgens 559.
Hamburger und Moro 556.
Holobut 252.
Jacobaeus und Backman 78.
Jacoby und Schütze 730.
Joseph 575.
Kiss 703.
Kraus und Amiradžibi 607.
Landsteiner und Prasek 584.
Levy und Krencker 286.
Michaelis und Skwirsky 357, 629.
Nassetti 486.
Novotný 256.
Novotný und Schick 550.
Ohkubo 1.
Pfeiffer, H. 254, 455.
Pfeiffer, H., und Mita 410.
Römer und Sames 270.
Rous 238.
Schuberg und Manteufel 512.
Seligmann und Klopstock 103.
Simon 547.
Streng 515.
Tsuru 612.
Tsuzuki 194.
Uhlenhuth und Haendel 761.
-

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. IV. No. 1/2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität München;
Vorstand: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. v. Gruber.]

Ueber die opsonische Wirkung des Behringschen Diphtherieantiseraums.

Von Dr. **Sakaye Ohkubo**, Tokio.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. August 1909.)

Einleitung.

Solange man, den Angaben von Roux und Yersin¹⁾ folgend, annahm, daß die Diphtheriebacillen ausschließlich in den Pseudomembranen wuchern und in das Blut und die Organe nicht einzudringen vermögen, konnte man sich allenfalls mit der Vorstellung zufrieden geben, daß die Immunität bei Diphtherie eine rein antitoxische sei. Heute wissen wir aber, daß die Löfflerschen Stäbchen in den Blutkreislauf und in die Organe gelangen, und müssen wir eine Antwort auf die Frage suchen, warum sie sich hier nicht vermehren und wie sich der Organismus von ihnen befreit.

Schon vor längerer Zeit ist die Angabe gemacht worden, daß bei der Immunität gegen Diphtherie auch die Phagocytose eine wichtige Rolle spiele. Bereits im Jahre 1894 teilte Gabritschewsky²⁾ seine experimentellen Versuche über die Rolle der Leukocyten bei der diphtherischen Infektion mit. Er injizierte in die vordere Augenkammer immunisierter Kaninchen Diphtheriebacillen, untersuchte dann in gewissen Zeitabständen das Blut der Tiere und unterwarf endlich die enukleierten Augen einer mikroskopischen Durchmusterung. Das Hauptresultat faßte er im folgenden Satz: „les bacilles diphthériques dans l'organisme même sont détruits par l'activité

1) Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphthérie. Annales de l'Institut Pasteur, T. 2, 1888, No. 12.

2) Gabritschewsky, Du rôle leucocytes dans l'infection diphthérique. Annales de l'Institut Pasteur, T. 8, 1894, No. 10.

phagocyttaire des leucocytes.“ Im Jahre 1906 teilte Bandi¹⁾ mit, daß das Behringsche Heilserum eine gewisse opsonische Fähigkeit besitze, die daher rühre, daß ein Teil der Leibesbestandteile der Bacillen in die Filtrate der Kulturen übergeht und so zur Präparation der das Serum liefernden Tiere dient. Eine weit größere opsonische Stärke erwies ein bivalentes (antibakterielles, sowie antitoxisches) Diphtherieserum. Dagegen konstatierte Hektoen²⁾ (1907): „Antidiphtheric serum by itself has no influence upon the diphthery-opsonic index in normal persons judging from the result obtained in the case of a healthy man, who received 1200 units without any subsequent disturbance of the index.“ Auch Rogger, Weston und Clark³⁾ (1908) wiesen darauf hin, daß das Diphtherieantitoxin keinen sicheren Einfluß auf die Phagocytose der Diphtheriebacillen ausübe. Zugleich zeigten die genannten Autoren, daß das Blut normaler Personen keine opsonische Wirkung gegenüber dem Diphtheriebacillus hat, während dies bei Diphtheriekranken der Fall ist. Hier erreicht nach diesen Autoren die Phagocytose bei nicht mit Serum behandelten Patienten ihr Maximum ungefähr am 4. Tage. In jüngster Zeit hat Menabuoni⁴⁾ in der Kinderklinik zu Florenz die Beobachtung gemacht, daß das Blutserum von Personen, welche mit Antiserum behandelt worden sind, eine stark opsonische Wirkung habe, welche aber durch Erhitzen auf 56° verloren gehe. Die eingehendste Untersuchung dieser Frage verdanken wir E. Sauerbeck. Ihre Ergebnisse sind in der Abhandlung „Experimentelle Studien über Phagocytose“ niedergelegt, welche in Bd. 3 dieser Zeitschrift, p. 731, publiziert worden ist. Sauerbeck hat, von theoretischen Ueberlegungen ausgehend, unter anderem auch die Frage zu beantworten gesucht, ob Diphtherietoxin und Diphtherieantitoxin die Phago-

1) Bandi, Contributo allo studio dell' endotossina del bacillo di Löffler — Indice opsonico dei seri antidifterici. Atti della R. Accademia dei Fisiocritici in Siena, Serie 4, Vol. 18, 1906, No. 4.

2) Hektoen, The opsonic index in certain acute infectious diseases. Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 1907, Heft 5.

3) F. B. Rogger, P. G. Weston and G. F. Clark, A study of phagocytosis in diphtheria. Journal of med. research, Vol. 18, 1908, p. 108.

4) Nach Ref. in Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Ref., Bd. 1.

cytose von Diphtheriebacillen beeinflussen. Er machte dabei die theoretisch wie praktisch gleich wichtige Beobachtung, daß das Diphtherieheilserum zwar für sich allein ohne Einfluß auf die Phagocytose der Diphtheriebacillen ist, zusammen mit aktivem Normalserum aber die Phagocytose beträchtlich steigert. Auf Grund dieser Beobachtung macht Sauerbeck die Annahme, daß Antiserum neben dem Antitoxin noch einen zweiten Antikörper enthalte, den er mit dem lytischen Ambozeptor identifizierte. Zusammen mit dem Komplement präpariere er die Diphtheriebacillen für die Phagocytose. In höherer Konzentration vermöge er sie daneben auch geradezu aufzulösen. Im Gegensatz dazu soll nach Sauerbeck das Diphtherietoxin die Phagocytose hemmen. Sauerbeck wird durch diesen Befund, der allerdings nicht so prägnant war wie der beim Antitoxin, in seiner Auffassung bestärkt, daß die Aggressive Bails im wesentlichen nichts anderes seien als die Bakteriengifte. Herr Dr. Sauerbeck hat seine Abhandlung schon vor länger als einem Jahre Herrn Prof. Gruber bekannt gegeben. Ihr Inhalt schien Herrn Prof. Gruber so wichtig, daß er mich, im Einverständnis mit Dr. Sauerbeck, aufforderte, die Sauerbeckschen Versuche nachzuprüfen. Diese Versuche bedurften auch notwendig einer Ergänzung, die Dr. Sauerbeck aus äußeren Gründen nicht mehr zu liefern vermochte. Es mußte unbedingt noch untersucht werden, in welcher Weise das Normalpferdeserum die Phagocytose beeinflußt. Wie notwendig diese Prüfung ist, ergibt sich aus der Beobachtung, die Sauerbeck am Schlusse seiner Experimente machte, daß das Diphtherieantiserum genau so wie die Phagocytose der Diphtheriebacillen auch die Phagocytose der Streptokokken befördere. Danach mußte man zweifeln, ob bei dieser Förderung die spezifischen Antikörper überhaupt im Spiele seien und nicht normale Bestandteile des Pferdeserums. Die Hauptfragen, auf welche meine Untersuchungen gemacht waren, sind folgende:

- 1) Wirkt Diphtherieantiserum für sich allein oder vereint mit aktivem Blutserum oder mit Leukin abtötend auf den Diphtheriebacillus?
- 2) Wirkt es in dieser Hinsicht anders als normales Pferdeserum?

1*

3) Enthält das Diphtherieantiserum wirklich einen Antikörper, der nach Art eines Präparins mit dem Normalopsonin (Alexin) zusammen die Diphtheriebacillen für die Phagocytose vorbereitet?

4) Unterscheidet sich das Antiserum in dieser Beziehung von Normalpferdeserum?

5) Unterscheiden sich virulente und avirulente Diphtheriebacillen in bezug auf Bakterizidie und Phagocytose?

6) Wirkt Diphtherietoxin antiphagocytär?

Bevor ich über meine diesbezüglichen Versuche berichte, muß ich einige Mitteilungen über meine Methodik machen.

Material und allgemeine Versuchsmethode.

a) Herstellung der Bakterienaufschwemmung. Es wurde ein virulenter und ein avirulenter Stamm des Loefflerschen Bacillus verwendet. Der eine wurde frisch aus Tonsillarbelägen eines diphtheriekranken Kindes gezüchtet und konnte durch Meerschweinchenpassage in seiner Virulenz bedeutend gesteigert werden. Dieselbe war so hoch, daß die subkutane Darreichung von 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur an etwa 250 g schwere Meerschweinchen binnen 24 Stunden sicher den Tod herbeiführte. An der Impfstelle zeigte sich das charakteristische, weitverbreitete hämorrhagische Oedem. Da sich unsere Untersuchungen über längere Zeit erstreckten, so wurde alle 2 Wochen die Tierpassage vorgenommen, um die Virulenz zu erhalten. Als avirulenter Stamm gelangte eine sehr lange Zeit hindurch im hiesigen Laboratorium fortgezüchtete Kultur zur Verwendung. Die Fortzüchtung der Bacillen geschah bei 37° C auf Loefflerschen Rinderseerumplatten.

Für die Phagocytoseversuche wurden etwa 6—10 mg einer etwa 20-stündigen Kultur in 1 ccm der verwendeten Flüssigkeit sorgfältig zur feinen Aufschwemmung verteilt. Da die so bereitete Aufschwemmung doch noch nicht fein genug war, d. h. noch viele Bakterienklümpchen enthielt,

wurde sie stets kurze Zeit der Zentrifugierung ausgesetzt, um die größeren Anteile auszuscheiden.

b) Gewinnung der Leukocyten. Die Leukocyten wurden anfangs genau nach Angabe von Sauerbeck entnommen. Da wir aber mit dieser Methode manchmal nur geringe Mengen von Leukocyten erhielten, wurde später wieder die im hiesigen Institut übliche, von R. Schneider¹⁾ in seiner Arbeit ausführlich angegebene Methode geübt. Dem etwa 300—400 g wiegenden Meerschweinchen injiziert man 20—25 ccm einer 10-proz. Peptonbouillon in die Peritonealhöhle (bei Kaninchen 60—100 ccm). Gewöhnlich nach 20 Stunden wird das Exsudat mit Hilfe einer am Pavillon seitlich geöffneten, blind endigenden Kanüle entnommen, welche in der Mitte der Bauchdecke durch ein mit Hilfe eines Troikarts oder eines Paquelins erzeugtes Loch eingeführt wurde. Das Exsudat fließt unter Knetung des Bauches meist leicht heraus. Wenn nur wenig leukocytenhaltige Flüssigkeit vorhanden ist, wird 0,4-proz. Natriumcitrat-Kochsalzlösung eingespritzt, um die Leukocyten aufzuschwemmen und gleichzeitig die Gerinnung zu verhüten. Nachdem man die gewonnene Flüssigkeit mit Citratkochsalzlösung bis auf das Doppelte verdünnt hat, wird abzentrifugiert, der Bodensatz, welcher immer mehr oder minder reich an Erythrocyten ist, 3mal mit Citratkochsalz- oder Kochsalzlösung gewaschen. Die Zerteilung des Bodensatzes geschieht durch wiederholtes Aufsaugen der Flüssigkeit mit einer Pipette. Um die Leukocytenballen zu entfernen, wird die Aufschwemmung gleich den Bakterienaufschwemmungen kurz zentrifugiert. Zur schließlichen Herstellung einer stets annähernd gleich dichten Leukocyten- bzw. Bakterienaufschwemmung bedarf man einer gewissen Uebung.

c) Gewinnung des Blutserums. Im Anfange entnahm ich das Blut aus der freigelegten Carotis desselben Meerschweinchens (bei Kaninchen aus der Ohrvene), das auch die Leukocyten lieferte. Später wurde zur Blutlieferung stets ein anderes Tier gebraucht. Benutzt man ein und dasselbe Tier zu beiden Zwecken, so geht es meist zugrunde. Werden

1) R. Schneider, Die bakterizide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten und ihre Beziehungen zu den Leukocyten. Archiv f. Hygiene, Bd. 70, 1909.

aber die Tiere nach angemessenen Erholungspausen abwechselnd zur Blut- und Leukocytenlieferung verwendet, so können wir von ein und demselben Tiere bis zu 2mal Blut und 3-, ja 4mal Leukocyten entnehmen, was eine bedeutende Ersparnis bedeutet.

d) Ausführung des Phagocytoseversuches. Die wesentliche Modifikation unserer Technik beim Phagocytoseversuche liegt darin, daß wir die Phagocytose statt im gebräuchlichen Glasröhrchen im hängenden Tropfen vor sich gehen lassen. Bekanntlich werden die Leukocyten, nachdem sie gefressen haben, klebrig, schlagen sich an der Glaswand nieder und verklumpen sich gern zu großen Ballen und Häufchen. Dadurch wird dann das gleichmäßige Fortschreiten der Phagocytose gehindert und insbesondere die sichere Feststellung der Prozentzahl der fressenden Leukocyten und des phagocytären Index ungemein erschwert. Wir mischen daher die Flüssigkeiten (Bakterien-, Leukocytenaufschwemmung und Serum) im Röhrchen und übertragen dann möglichst rasch kleine gemessene Tröpfchen mit Hilfe einer dünn ausgezogenen Kapillare genau in die Mitte der Deckgläser. Die Deckgläser müssen natürlich vollkommen entfettet und neutralisiert sein. Den Abschluß stellen wir mit Paraffinum liquidum her. Die von der Außenluft abgeschlossenen Tropfen werden bei 38° C im Brutofen gehalten. Die Zahl der Tropfenpräparate, welche man anfertigt, richtet sich nach der Zahl der Beobachtungen, die man anzustellen beabsichtigt. In den bestimmten Zeitabständen wird immer ein Präparat herausgenommen. Als dann wird das Deckglas vorsichtig aufgehoben und umgedreht, das Verschlüßmittel sorgfältig weggewischt und der Tropfen mittels einer Platinnadel ohne viel zu reiben rasch gleichmäßig dünn auf dem Deckglas ausgebreitet, so daß ein rasches Austrocknen eintritt. Anfangs verwendeten wir die gewöhnlichen hohlgeschliffenen Objektträger. Es ergab sich aber bald, daß die Anwendung eines gewöhnlichen Hohl-objektträgers nicht sehr zweckmäßig war, weil der Tropfen wegen der geringen Tiefe des Ausschiffes leicht den Boden oder den Rand berührt und abfließt. Wir verwendeten daher später Böttchersche feuchte Kammern, die wir uns selbst durch Aufkitten eines eben abgeschliffenen Glasringes auf

einen gewöhnlichen Objektträger mittels Kanadabalsams herstellten.

In die Kammer geben wir hierbei vor Armierung des Deckglases mit den Versuchskomponenten einen Tropfen Wasser.

Die Fixierung der Präparate geschah ausschließlich mit Methylalkohol, die Färbung mit Giemsa's Eosin-Azurgemisch, das vor dem Gebrauch mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 verdünnt worden war. Die mikroskopische Untersuchung geschah direkt in Zedernöl ohne Einbettung in Kanadabalsam. Ein solches Präparat zeigt die Leukocyten recht gleichmäßig verteilt und nicht stark geschrumpft, so daß man den Prozentsatz der tätig gewesenen Leukocyten (das Phagocytenprozent) und die Zahl der gefressenen Bakterien (den phagocytären Index) ziemlich genau feststellen kann. Bei der Herstellung des Deckglaspräparates darf man keinen allzu großen Tropfen nehmen. Denn ein großer Tropfen trocknet zu langsam, was eine starke Schrumpfung der Leukocyten zur Folge hat und die Auszählung der gefressenen Bakterien erschwert. Sehr wichtig ist, daß man bei Herstellung der Mischung nicht zu wenig und nicht zu viel Bakterien im Verhältnis zur Leukocytenmenge nimmt. Nach unserer Erfahrung dürfte eine Aufschwemmung von etwa 6 mg Diphtheriebacillen in 1 ccm NaCl-Lösung gegenüber einer Aufschwemmung von etwa 0,1 ccm dichtem Leukocytenbrei in 1 ccm NaCl-Lösung gerade recht sein.

Zur Aufschwemmung der Bakterien und der Leukocyten benutzten wir anfangs die von Sauerbeck angegebene, isotonische Normalflüssigkeit (1 Proz. Natriumcitrat in 0,63-proz. Kochsalzlösung). Wir mußten dies aber sehr bald aufgeben, da wir mit unseren Citratpräparaten Lösungen erhielten, welche die Phagocytose fast völlig hemmten. Wir kehrten daher zu unserer bewährten 0,4-proz. Citrat-Kochsalzlösung zurück. Selbst in dieser ging die Phagocytose anscheinend etwas schlechter vor sich, als in physiologischer 0,85-proz. Kochsalzlösung allein, wie wir uns schließlich überzeugten. Offenbar enthielten die uns zugänglichen Natriumcitratpräparate irgendeine schädliche Verunreinigung, obwohl sie anscheinend tadellos waren.

Bakterizidieversuche.

Was die bakterizide Wirkung des Diphtherieheilserums anbetrifft, so zeigte Behring schon, daß das Antiserum die Diphtheriebacillen nicht zu vernichten vermag. Dies wurde von den meisten Forschern bestätigt. Dagegen glaubte F. Nicolas¹⁾ (1895), durch seine Untersuchungen nachgewiesen zu haben, daß das Diphtherieheilserum entwicklungshemmend auf den Diphtheriebacillus einwirke, während die Diphtheriebacillen im normalen Pferdeserum die Virulenz besser und länger halten. Im Jahre 1896 machte G. E. Arsamasskoff²⁾ die Angabe, daß das Diphtherieheilserum auf Diphtheriebacillen eine entschiedene, spezifisch bakterizide Wirkung ausübe, während im normalen Pferdeserum eine lebhafte Vegetation zustande komme.

H. van de Velde³⁾, der die verschiedenen Proben des im Handel vorkommenden Serums geprüft hatte, kam 1897 zu dem Ergebnisse, daß die mit starker antitoxischer Kraft begabten Antisera auch starke antiinfektiöse (bakterizide, antimikrobische) Kraft besitzen. Wie bereits zitiert, zog Sauerbeck aus seinen Untersuchungen über die Phagocytose den Schluß, daß das Diphtherieantitoxin bei Gegenwart von aktivem Serum, in mäßiger Menge zugesetzt, ausschließlich Steigerung der Phagocytose, reichlich zugesetzt, daneben auch Bakteriolyse bewirke. Bevor wir zu unseren diesbezüglichen Versuchen übergehen, möchten wir betonen, daß ein Antiserum, welches zum Bakterizidie- sowie Phagocytoseversuch bestimmt ist, auch nicht die kleinste Menge irgendeines antiseptischen Zusatzmittels enthalten darf. Das Diphtherieheilserum, das in unseren Untersuchungen zumeist verwendet wurde, verdanken wir dem lebenswürdigen Entgegenkommen der Farbwerke Meister, Lucius und Brünning in Höchst. Es war absolut frei

1) Nicolas, Pouvoir bactéricide du sérum antidiphthérique, Paris 1895.

2) Arsamasskoff, Von den bakteriziden Eigenschaften des Blutserums von normalen und gegen Diphtherie immunisierten Pferden. Diss. St. Petersburg, 1896, ref. im Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, p. 568.

3) H. van de Velde, Beitrag zur Kenntnis der antitoxischen und antiinfektiösen (bakterizide, antimikrobische) Kraft des Antidiphtherieserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 22, 1897, p. 527.

von Zusatz, sein Titer war 400-fach. Außerdem stand uns auch noch trockenes Antiserum mit dem Titer 500-fach zur Verfügung, das uns ebenfalls die Höchster Fabrik freundlichst gesendet hatte. Vor dem Versuche wurde sowohl das Antidiphtherie- als auch das zur Kontrolle dienende Pferdeserum eine halbe Stunde lang bei 56° C inaktiviert.

Versuch I.

Inhalt der Röhren je 0,55 ccm; davon 0,05 ccm avirulente Diphtheriebacillen-Aufschwemmung in 0,85-proz. NaCl-Lösung; Aussaat mittels einer 0,0125 ccm fassenden Oese.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Zahl der Kolonien			
	sofort	nach 1 ^h	nach 3 ^h	nach 7 ^h
0,5 ccm aktiviertes Meerschweinchenserum	519	fortschreitende Vermehrung		
0,5 „ aktiviertes Kaninchenserum	403	„	„	„
0,5 „ inaktiviertes Pferdeserum	471	„	„	„
0,5 „ inaktiviertes Antiserum	488	„	„	„
0,5 „ 0,85-proz. NaCl-Lösung	493	„	„	„

Zwei Wiederholungen, wobei einmal ein virulenter Stamm gebraucht wurde, ergaben dasselbe Resultat. Daraus geht also hervor, daß die verwendete Salzlösung und Sera für sich allein gar keinen bakteriziden Einfluß weder auf avirulente noch auf virulente Bacillen ausübten. Die Bacillen zeigten in allen Proben üppige Vegetation. Im folgenden Versuche wurde nun geprüft, ob etwa die Mischungen von Aktivserum und Antiserum bezw. Pferdeserum bakterizid wirken.

Versuch II.

Inhalt der Röhren 0,55 ccm; davon 0,05 ccm avirulente Diphtheriebacillen-Aufschwemmung in NaCl-Lösung; Aussaat mit einer 0,0125 ccm fassenden Oese; als aktives Serum wurde frisches Meerschweinchenserum verwendet.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Aktives Meerschw.-Serum	Zahl der Kolonien			
		sofort	nach 1 ^h	nach 3 ^h	nach 7 ^h
0,4 ccm inakt. Pferdeserum	0,1 ccm	312	fortwährende Vermehrung		
0,4 „ inakt. Antiserum	0,1 „	291	„	„	„
0,4 „ 0,85-proz. NaCl-Lösung	0,1 „	287	„	„	„

Auch dieser Versuch ist somit vollkommen negativ ausgefallen.

Es erschien interessant, auch noch festzustellen, wie sich die Diphtheriebacillen dem Leukin gegenüber verhalten, ob nicht etwa normales Pferde- oder Diphtherieheilserum den Leukocyten Veranlassung zur Abgabe von Leukinen geben, und ob nicht etwa die Leukine zusammen mit diesen Seris bakterizid wirken.

Versuch III.

0,5 ccm 3mal gewaschener Meerschweinchen-Leukocytenbrei wurde in 3 Teile geteilt und mit folgenden 3 Flüssigkeiten bei 37° C 25 Minuten digeriert.

1) 0,2 ccm aktiviertes Meerschweinchenserum + 0,4 ccm inaktiviertes Pferdeserum + 0,4 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung.

2) 0,2 ccm aktiviertes Meerschweinchenserum + 0,4 ccm inaktiviertes Diphtherieantiserum + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Als Kontrolle:

3) 1,0 ccm 5-proz. inaktiviertes Kaninchenserum — NaCl-Lösung (R. Schneider)¹⁾.

Die klaren, durch Zentrifugieren von den Leukocyten freien Extrakte wurden folgendermaßen verwendet.

Inhalt der Röhren 0,55 ccm; davon 0,05 Aufschwemmung von virulenten Diphtheriebacillen in NaCl-Lösung; Aussaat mit großer Oese von 0,0125 ccm Inhalt. Ergänzungsflüssigkeit war NaCl-Lösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Zahl der Kolonien			
	sofort	nach 1 ^h	nach 3 ^h	nach 7 ^h
0,5 ccm Pferdeserum-Extrakt	245	fortwährende Vermehrung		
0,1 " " "	258	"	"	"
0,5 " Antiserum-Extrakt	261	"	"	"
0,1 " " "	255	"	"	"
0,5 " 5-proz. inakt. Kaninchenser.-Extr.	273	"	"	"
0,1 " " "	234	"	"	"
0,5 " 0,85-proz. " NaCl-Lösung "	275	"	"	"

Wir sehen hieraus, daß die Meerschweinchenleukocyten weder an Pferde- resp. Antiserum noch an die Kontrollflüssigkeiten Leukin abgegeben haben.

Wie die Kaninchenleukocyten sich verhalten, geht aus folgendem Versuche hervor.

Versuch IV.

0,5 ccm Leukocytenbodensatz wurde genau wie bei Versuch III behandelt. Mit den klaren Extrakten wurde folgender Versuch angestellt. Inhalt der Röhren 0,55 ccm; davon 0,05 ccm Bacillenaufschwemmung

1) l. c.

in NaCl-Lösung; Ausfüllungsflüssigkeit bildete NaCl-Lösung. Aussaat mittels einer großen, 0,0125 ccm fassenden Oese.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Zahl der Kolonien			
	sofort	nach 1 ^h	nach 3 ^h	nach 7 ^h
0,5 ccm Pferdeserum-Extrakt	297	fortwährendes Wachstum		
0,1 " " " " " "	313	"	"	"
0,5 " Antiserum-Extrakt	323	"	"	"
0,1 " " " " " "	287	"	"	"
0,5 " 5-proz. inakt. Kaninchenser.-Extr.	0	0	0	0
0,1 " " " " " "	125	0	0	0
0,05 " " " " " "	273	fortwährendes Wachstum		
0,5 " 0,85-proz. NaCl-Lösung	284	"	"	"

Im Gegensatz zu der mächtigen Wirkung des 5-proz. Inaktivkaninchenserum-NaCl-Lösung-Extraktes zeigten sich also die Pferde- resp. Antiserumextrakte völlig unwirksam. Es wurden in dieser Richtung noch zwei Versuche angestellt, wobei einmal genau dasselbe Resultat erhalten wurde, das andere Mal sämtliche Proben vollkommen wirkungslos waren. Wenn auch 5-proz. Inaktivkaninchenserum-NaCl-Lösung-Extrakt außerordentlich starkes bakterizides Vermögen dem Diphtheriebacillus gegenüber zeigt, so kann man doch wohl einen Einfluß von Leukinen auf die Bacillen in unseren Phagocytoseversuchen aus dem Spiel lassen, weil erstens Pferde- bzw. Antiserum in der von uns verwendeten Konzentration keinesfalls eine Leukinwirkung auslöst und zweitens bei unseren Untersuchungen der Hauptsache nach Meerschweinchenleucocyten zur Verwendung kamen. Auf Grund der angegebenen Versuche glauben wir behaupten zu dürfen, daß weder Normalpferdeserum noch Diphtherieheilserum für sich allein oder in Verbindung mit aktivem Serum und Leukinen eine bakterizide Wirkung auf Diphtheriebacillen ausüben.

Phagocytoseversuche.

Unser Hauptaugenmerk richteten wir zunächst auf den Vergleich des normalen Pferdeserums mit dem spezifischen Antiserum. Es war von vornherein wahrscheinlich, daß auch das Normalpferdeserum eine gewisse Wirkung entfalten werde, nachdem Dieudonné¹⁾ gezeigt hat, daß normales Pferde-

1) Dieudonné, Ueber Diphtheriegift neutralisierende Wirkungen der Serumglobuline. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, Bd. 13, 1887, Heft 2, p. 279.

serum einen das Diphtheriegift neutralisierenden Antikörper enthält.

Zur ersten Orientierung stellten wir zunächst zwei Versuche mit frisch gewonnenen Normalpferdeserum vor und nach seiner Erhitzung auf 56° C an, wobei wir die Sera sowohl auf avirulente als auf virulente Bacillen wirken ließen. Als Kontrollmedium diente physiologische 0,85-proz. Kochsalzlösung. Neben dem Hohlobjektträger-Versuche ließen wir einen gewöhnlichen Röhrenversuch vor sich gehen.

Versuch V und VI.

Tabelle a. Avirulente Bacillen.

Mischungen	Phagocytischer Index			
	Hohlobjektträger			Glasröhren
	nach 10'	nach 20'	nach 30'	nach 30'
1 Vol. NaCl-Leukoc. + 1 Vol. akt. / Pferdeser. + 1 Vol. NaCl-Bacillen	0,75 (V)	1,25	1,95	2,13
	0,80 (VI)	1,28	2,61	2,95
1 Vol. NaCl-Leuk. + 1 Vol. inakt. / Pferdeser. + 1 Vol. NaCl-Bacillen	0,25 (V)	0,41	0,78	1,10
	0,37 (VI)	0,69	0,82	1,84
1 Vol. NaCl-Leuk. + 1 Vol. NaCl- Lösung + 1 Vol. NaCl-Bacillen	∅ (V)	∅	∅	∅
	∅ (VI)	∅	∅	∅

Tabelle b. Virulente Bacillen.

Mischungen	Phagocytischer Index			
	Hohlobjektträger			Glasröhren
	nach 10'	nach 20'	nach 30'	nach 30'
1 Vol. NaCl-Leukoc. + 1 Vol. akt. / Pferdeser. + 1 Vol. NaCl-Bacillen	0,35 (V)	0,53	1,30	1,55
	0,30 (VI)	0,69	1,13	1,87
1 Vol. NaCl-Leuk. + 1 Vol. inakt. / Pferdeser. + 1 Vol. NaCl-Bacillen	∅ (V)	∅	∅	∅
	∅ (VI)	∅	∅	∅
1 Vol. NaCl-Leukocyten + 1 Vol. / NaCl-Lös. + 1 Vol. NaCl-Bacillen	∅ (V)	∅	∅	∅
	∅ (VI)	∅	∅	∅

Es ergibt sich, daß aktives Normalpferdeserum in der Tat opsonisch wirkt; auf virulente Diphtheriebacillen allerdings erheblich schwächer als auf avirulente. Durch Erhitzen auf 56° C geht die opsonische Wirkung des Serums auf die virulenten Bacillen völlig verloren, während die avirulenten Bacillen auch im Inaktivserum noch in nicht unerheblichem

Maße gefressen werden. Mit Bezug auf die beiden Methoden sei folgendes beigefügt. Die Resultate scheinen nahe übereinzustimmen. Der Index fiel im Glasröhrchen (im Durchschnitt von 4 Gesichtsfeldern) etwas höher aus, als im Hohlobjektträger. Dies schiene für die Röhrchenmethode zu sprechen. Aber dieses Resultat ist sehr unsicher. In den einzelnen Gesichtsfeldern zeigte der Index sehr starke Schwankungen, die offenbar von der Häufchenbildung herrührten. Man könnte tatsächlich durch Auswahl der Gesichtsfelder den phagocytären Index nach Belieben um 30 Proz. erhöhen oder erniedrigen.

Bei den nächsten Versuchen verglichen wir das Pferdeserum mit dem „aktiven“ Antiserum, wie es uns von der Fabrik zugekommen war, bezüglich der Intensität der opsonischen Wirkung. Ferner prüften wir, ob sich Meerschweinchen- und Kaninchenleukocyten den beiden Seren gegenüber gleich oder verschieden verhalten.

Versuch VII.

Meerschweinchen- und Kaninchenleukocyten, sowie avirulente und virulente Bacillen wurden in 0,4-proz. Ci-NaCl-Lösung aufgeschwemmt.

Tabelle a. Meerschweinchenleukocyten.

Mischungen	Phagocyt. Index	
	nach 10'	nach 30'
1 Vol. avir. Bac. + 1 Vol. Leukoc. + 1 Vol. akt. Pferdeser.	0,37	1,50
1 " " " + 1 " " + 1 " " Antiser.	0,82	2,43
1 " vir. " + 1 " " + 1 " " Pferdeser.	0,20	0,95
1 " " " + 1 " " + 1 " " Antiser.	0,65	1,52
1 " avir. " + 1 " " + 1 " Citratlösung	ϕ	ϕ
1 " vir. " + 1 " " + 1 " "	ϕ	ϕ

Tabelle b. Kaninchenleukocyten.

Mischungen	Phagocyt. Index	
	nach 10'	nach 30'
1 Vol. avir. Bac. + 1 Vol. Leukoc. + 1 Vol. akt. Pferdeser.	0,32	1,25
1 " " " + 1 " " + 1 " " Antiser.	0,87	2,60
1 " vir. " + 1 " " + 1 " " Pferdeser.	0,25	0,85
1 " " " + 1 " " + 1 " " Antiser.	0,45	1,67
1 " avir. " + 1 " " + 1 " Citratlösung	ϕ	ϕ
1 " vir. " + 1 " " + 1 " "	ϕ	ϕ

In diesem Versuche wirkte also sowohl das Normalserum wie das Antiserum für sich allein opsonierend. Die Wirkung beider Seren auf die avirulenten Bacillen war wieder erheb-

lich stärker als die auf die virulenten. Die Freßfähigkeit der beiden Leukocytenarten ließ keinen auffälligen Unterschied erkennen. Die opsonisierende Wirkung des Antiserums war deutlich stärker als die des Normalserums; aber eigentlich doch überraschend gering!

Weitere Versuche zeigten, daß ebenso wie beim Normalserum, auch beim Antiserum die opsonische Wirksamkeit durch Erhitzen auf 56° C vollkommen beseitigt wird.

Zwei mit virulenten Bacillen angestellte Phagocytoseversuche über die Wirkung des inaktivierten Antiserums fielen völlig negativ aus. Das Antiserum enthält somit sicher kein spezifisches Bakteriotropin.

Was die Intensität der Wirkung des Antiserums anbelangt, so mußte man sich bei genauerer Ueberlegung sagen, daß der Vergleich der beiden Seren kein ganz korrekter war, da das Normalserum ganz frisch verwendet worden war, während das Antiserum schon längere Zeit gestanden hatte und dabei einen erheblichen Teil seines Alexins verloren haben mußte. Es wurden daher beide Sera inaktiviert und bei den Versuchen durch Zusatz von Aktivmeerschweinchenserum reaktiviert. Auf diese Weise war es ja auch nur möglich, festzustellen, ob die Sera thermostabile Präparate enthalten.

Versuch VIII.

Die Meerschweinchenleukocyten und die virulenten Bacillen in 0,4-proz. Citrat-Kochsalzlösung aufgeschwemmt; aktives Meerschweinchenserum. Die gesamte Menge der Versuchskomponenten je 0,55 ccm; davon Tröpfchen auf das Deckglas; die Proben bei 38° C eine halbe Stunde im Brutofen.

Mischungen				Aktivserum- menge in Proz.	Phagocyt. Index nach 30'
Akt. Meer- schweinch- serum	Leuko- cyten	Bacillen	0,4 proz. Ci-NaCl- Lösung		
0,3 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	60	0,62
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,10 ccm	40	0,54
0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,20 "	20	0,18
0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,25 "	10	Spur
0,025 "	0,1 "	0,1 "	0,275 "	5	∅
0,01 "	0,1 "	0,1 "	0,290 "	2	∅
∅	0,1 "	0,1 "	0,30 "	0	∅

Wir sehen also, daß die Phagocytose bei weniger als 10 Proz. aktives Meerschweinchenserum fast vollkommen aus-

bleibt, und daß die Grenze schwacher Wirksamkeit zwischen 20 Proz. und 10 Proz. liegt. Zweimal ausgeführte Nachprüfungen boten dasselbe Ergebnis.

Nun gingen wir daran, zu sehen, welchen Einfluß die Zugabe von inaktiviertem Pferde- resp. Diphtherieantiserum auf die Stärke der Phagocytose ausübt.

Versuch IX und X.

Die Prozedur dieselbe wie bei Versuch VIII. Die Versuchsanordnung und die Ergebnisse der beiden unabhängig voneinander angestellten Versuche sind in folgenden Tabellen zusammen angeführt. Temperatur 38° C. Das Aktivserum machte stets 20 Proz. der Mischung aus. Die Reaktionszeiten der Proben waren 10', 30', 1^h, 2^h, 3^h, 4^h und 7^h. In den Tabellen wurde aber nur die Freßzahl und der Phagocytenprozentsatz nach 30' angegeben.

Tabelle a. Inaktiviertes Normalpferdeserum.

Mischungen					Pferdeserummenge in %	Phagocyt. Index nach 30'	Phagocytenprozent
Aktiv-Serum	Inakt. Pferdeserum	Leuko-cyten	Bacillen	0,4 % Ci-NaCl-Lös.			
0,1 ccm	0,20 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	40	{ 1,39 (IX) 1,46 (X)	65 (IX) 72 (X)
0,1 "	0,15 "	0,1 "	0,1 "	0,05 ccm	30	{ 1,36 1,57	61 71
0,1 "	0,10 "	0,1 "	0,1 "	0,10 "	20	{ 0,34 0,52	23 34
0,1 "	0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,15 "	10	{ 0,19 0,23	12 17
0,1 "	0,025 "	0,1 "	0,1 "	1,175 "	5	{ 0,21 0,22	14 13
0,1 "	∅	0,1 "	0,1 "	0,20 "	0	{ ∅ 0,24	∅ 5

Tabelle b. Inaktiviertes Antiserum.

Mischungen					Antiserummenge in %	Phagocyt. Index nach 30'	Phagocytenprozent
Aktiv-serum	Inakt. Antiserum	Leuko-cyten	Bacillen	0,4 % Ci-NaCl-Lös.			
0,1 ccm	0,20 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	40	{ 3,33 (IX) 4,71 (X)	79 (IX) 85 (X)
0,1 "	0,15 "	0,1 "	0,1 "	0,05 ccm	30	{ 2,93 3,85	75 86
0,1 "	0,10 "	0,1 "	0,1 "	0,10 "	20	{ 2,47 2,89	69 71
0,1 "	0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,15 "	10	{ 2,37 2,51	64 69
0,1 "	0,025 "	0,1 "	0,1 "	0,175 "	5	{ 0,51 0,48	32 21

In diesen Versuchen tritt nun schlagend hervor, daß das Diphtherieantiserum das Normalserum an phagocytenverstärkender Wirkung gewaltig übertrifft. Von hohem Interesse ist es, daß auch das normale Pferdeserum, wenn auch minder stark als das Antiserum, die opsonische Fähigkeit des Aktivserums steigert. In bezug auf die Methode bemerkenswert ist, daß der phagocytäre Index und der Prozentsatz der tätig gewesenen Phagocyten im allgemeinen parallel gehen. So z. B. entsprach dem raschen Absinken der Freßzahl in der Tabelle a von 30 zu 20 Proz. Pferdeserum, in der Tabelle b von 10 zu 5 Proz. Antiserum der rapide Rückgang des Phagocytenprozentsatzes. Auch bei anderen Versuchen haben wir diesen Parallelismus bestätigt gefunden. Es ist dies wichtig, weil die Feststellung des Phagocytenprozentes viel weniger mühsam ist, als die des phagocytären Index. Seine Ausschläge sind namentlich bei den höheren Serumverdünnungen groß genug. Das Phagocytose befördernde Vermögen des Pferdeserums sinkt durch Verdünnung viel rascher herab als das des Antiserums, so daß dieses in der 5-proz. Konzentration die Phagocytose noch deutlich steigert, während das erstere schon in 10-proz. Verdünnung fast nicht mehr wirkt. Auch diese Tatsache beweist, daß das Antiserum viel reicher an Präparin ist, als das Normalserum.

Ganz übereinstimmend mit dem Versuche IX und X stellten wir einen Versuch mit Kaninchenleukocyten und Kaninchenserum an.

Versuch XI.

Tabelle a. Inaktiviertes Pferdeserum.

Mischungen					Pferdeserummenge in ‰	Phagocyt. Index nach 30'	Phagocytenprozent
Akt. Kan.-Ser.	Inakt. Pferdeserum	Leukocyten	Bacillen	0,4 ‰ Ci-NaCl-Lös.			
0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	40	1,56	54
0,1 "	0,15 "	0,1 "	0,1 "	0,05 ccm	30	1,26	55
0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,10 "	20	0,79	44
0,1 "	0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,15 "	10	0,37	23
0,1 "	0,025 "	0,1 "	0,1 "	0,175 "	5	0,10	5
0,1 "	∅	0,1 "	0,1 "	0,20 "	0	0,15	7

Tabelle b. Inaktiviertes Antiserum.

Mischungen					Anti- serum- menge in %	Phagocyt. Index nach 30'	Phago- cyten- prozent
Akt. Kan- Ser.	Inakt. Pferde- serum	Leuko- cyten	Bacillen	0,4 % Ci- NaCl-Lös.			
0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	40	3,70	67
0,1 "	0,15 "	0,1 "	0,1 "	0,05 ccm	30	3,32	63
0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,10 "	20	2,58	59
0,1 "	0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,15 "	10	0,98	49
0,1 "	0,025 "	0,1 "	0,1 "	0,175 "	5	0,30	24

Kaninchenleukocyten bzw. Kaninchenserum verhalten sich somit dem Diphtheriebacillus und den verstärkenden Seris gegenüber fast völlig gleich wie Meerschweinchenleukocyten resp. Meerschweinchenserum.

Durch die folgenden Versuche sollte festgestellt werden, ob die beiden zur Phagocytose erforderlichen Substanzen wirklich so wie Präparin und Alexin (Ambozeptor und Komplement) zusammenwirken. Dies konnte durch den Absorptionsversuch entschieden werden.

Versuch XII und XIII.

Je 10 mg virulente Diphtheriebacillen von 20-stündiger Kultur wurden in 1 ccm inaktiviertes Pferdeserum bzw. inaktiviertes Antiserum aufgeschwemmt, 1 Stunde bei 37° C digeriert, dann zentrifugiert. Die Bodensätze wurden 3mal mit 0,85-proz. NaCl-Lösung in der Zentrifuge gewaschen, dann in 0,4-proz. Ci-NaCl-Lösung (etwa 6 mg in 1 ccm) verteilt und in folgenden Mengenverhältnissen mit Meerschweinchenleukocyten und mit Meerschweinchenserum zusammengebracht. Die Proben wurden bei 38° C aufbewahrt und in Zeitabständen von 10', 30', 1^h, 2^h, 3^h, 4^h und 7^h der Prozeß unterbrochen.

Tabelle a. Mit inaktiviertem Pferdeserum präparierte Bacillen.

Mischungen				Phagocyt. Index nach 30'	
Akt. Meer- schweinchen- serum	Präparierte Bacillen	Leukocyten	0,4 % Ci-NaCl- Lösung	XII	XIII
0,3 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	1,14	1,55
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,1 ccm	1,12	1,32
0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,2 "	0,92	1,17
0,1 ccm	0,1 ccm nicht präp.	0,1 ccm	0,2 ccm	0,25	0,19

Tabelle b. Mit inaktiviertem Antiserum präparierte Bacillen.

Akt. Meer- schweinchen- serum	Mischungen			Phagocyt.-Index nach 30'	
	Präparierte Bacillen	Leukocyten	0,4 % Ci-NaCl- Lösung	XII	XIII
0,3 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	4,12	6,35
0,2 „	0,1 „	0,1 „	0,1 ccm	3,84	5,71
0,1 „	0,1 „	0,1 „	0,2 „	3,86	5,23

Aus diesen beiden Versuchen geht die Antwort mit voller Deutlichkeit hervor. Die Bacillen werden tatsächlich durch den Aufenthalt im Inaktivserum für das thermolabile Opsonin und somit für die Phagocytose präpariert. Die Unterschiede in der Größe des phagocytären Index sind sehr bedeutend. Z. B. stieg der phagocytäre Index bei den mit Normalpferdeserum vorbehandelten Bacillen auf 0,92 (XII) bzw. 1,17 (XIII, Tabelle a) und bei den mit Aktivserum behandelten auf 3,86 (XII) bzw. 5,23 (XIII, Tabelle b), während er bei den nicht vorbehandelten Bacillen in der Kontrollprobe bei der gleichen Menge Aktivserum (20 Proz.) nur 0,25 (XII) bzw. 0,19 (XIII) betrug. Die Präparation mit Normalserum steigerte somit die Phagocytose auf das 4,75-fache, die Präparation mit Antiserum auf das 20,7-fache. Bemerkenswert ist, daß bei gleicher Präparation die größere und kleinere Menge Aktivserum keinen nennenswerten Einfluß auf die Intensität der Phagocytose hatte. Der phagocytäre Index ist fast gleich groß, ob die Mischung 20 oder 60 Proz. Aktivserum enthielt.

Die Gegenprobe zu Versuch XIII bildet der folgende Versuch.

Versuch XIV.

Ca. 30 mg virulente Diphtheriebacillen wurden in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, eine Stunde bis auf 50° C erhitzt, in 2 gleiche Teile geteilt und zentrifugiert. Die eine Hälfte der Bodensätze wurde in 1,5 ccm inaktiviertes Pferdeserum, die andere in derselben Menge inaktiviertes Antiserum aufgeschwemmt. Die klaren Serumanteile wurden vorsichtig abpipettiert. Die Bodensätze wurden 3mal mit 0,85-proz. NaCl-Lösung gewaschen und im Nebenversuche auf ihre Phagocytierbarkeit geprüft. Die sonstigen Versuchskomponenten waren dieselben wie bei Versuch XIII. Als Diphtherieantiserum diente hier das getrocknete Präparat in 8-proz. Lösung.

Tabelle a. Vorbehandeltes Pferdeserum.

	Mischungen				Phago- cytärer Index nach 30'	Phago- cyten- prozent	
	Aktives Meersch.- Serum	Vorbehand. Pferde- serum	Leuko- cyten	Bacillen			0,4 % Ci-NaCl- Lösung
Kontrolle	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	0,39	23
	0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,1 ccm	0,45	15
	0,1 "	0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,15 "	Spur	0
	0,1 "	∅	0,1 "	0,1 "	0,2 "	0,21	12
	0,1 "	0,2 ccm (inaktives Pferdeser.)	0,1 "	0,1 "	∅	1,96	55
	0,1 "	0,2 ccm (inaktives Pferdeser.)	0,1 "	0,1 " (präpar. Bacillen)	∅	2,21	72

Tabelle b. Vorbehandeltes Antiserum.

	Mischungen				Phago- cytärer Index nach 30'	Phago- cyten- prozent	
	Aktives Meersch.- Serum	Vorbehand. Antiserum	Leuko- cyten	Bacillen			0,4 % Ci-NaCl- Lösung
Kontrolle	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	2,51	50
	0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,1 ccm	2,43	43
	0,1 "	0,05 "	0,1 "	0,1 "	0,15 "	1,45	44
	0,1 "	0,2 "	0,1 "	0,1 "	∅	5,77	79
	0,1 "	(inaktives Antiserum)	0,1 "	0,1 "	∅	6,32	83
	0,1 "	0,2 ccm (inaktives Antiserum)	0,1 "	0,1 " (präpar. Bacillen)	∅	6,32	83

Der Versuch beweist somit, daß sowohl das Normalserum als das Antiserum durch die Vorbehandlung mit Diphtheriebacillen einen sehr erheblichen Teil ihrer Wirksamkeit eingebüßt haben, wenn es auch nicht gelungen war, sie vollständig aufzuheben. Offenbar war dazu die angewendete Bacillenmenge zu gering oder die Zeitdauer ihrer Einwirkung zu kurz gewesen. Die präparierten Bacillen zeigten wieder eine enorme Steigerung ihrer Phagocytierbarkeit.

Wir stellten noch einen Versuch an, welcher den Zweck hatte, nachzuweisen, ob mit inaktiviertem Antiserum präparierte Bacillen aus aktivem Serum Alexin absorbieren und dadurch für die Phagocytose zugänglich werden, so daß später kein Aktivserum zugesetzt zu werden braucht.

Versuch XV.

Ca. 10 mg virulente Diphtheriebacillen wurden in 1 ccm Antiserum bei 38° C 1 Stunde digeriert und dann abzentrifugiert. Der Rückstand

wurde 1 Stunde bei 38° C mit 0,5 ccm aktivem Meerschweinchenserum digeriert und wieder ausgeschleudert. Die Flüssigkeit wurde in abgestuften Verdünnungen mit präparierten Hammelblutkörperchen auf Hämolyse geprüft. Zur Kontrolle diente aktives Meerschweinchenserum in den gleichen Verdünnungen. Der Bacillenrückstand wurde mit 0,85-proz. NaCl-Lösung 3mal gewaschen, in NaCl-Lösung aufgeschwemmt und mit Meerschweinchenseleukocyten in bei 56° C eine halbe Stunde inaktiviertem Meerschweinchenserum zusammengebracht. Zur Kontrolle wurden unbehandelte Diphtheriebacillen genommen, die 2 Stunden bei 38° C in einer Probe des gleichen inaktivierten Meerschweinchenserums gestanden waren.

Tabelle a. Phagocytoseversuch.

Mischungen				Phagocyt. Index nach 30'
Inaktives Meer- schweinchens- serum	Präparierte Bacillen	Leukocyten in NaCl-Lösung	NaCl- Lösung	
0,3 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	∅	7,45
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,1 ccm	6,94
0,1 "	0,1 "	0,1 "	0,2 "	7,76
0,3 ccm	0,1 ccm (unbeh. Bacillen)	0,1 ccm	∅	fast ∅

Tabelle b. Hämolytischer Versuch.

Gewaschene Hammelblutkörperchen wurden bei Zimmertemperatur 1 Stunde in inaktiviertem Hammelblut-Antiserum präpariert, dessen Titer 1:2750 bzw. auf 0,1 ccm aktives Meerschweinchenserum war. Die präparierten Blutkörperchen wurden 2mal mit 0,85-proz. NaCl-Lösung gewaschen und zur 5-proz. Blutemulsion aufgeschwemmt. Zu je 0,4 ccm dieser Blutemulsion wurden abgestufte Mengen des vorbehandelten bzw. aktiven Meerschweinchenserums zugesetzt. Die Proben wurden bei 37° C 2 Stunden gehalten.

Aufschwemmung der präparierten Hammel- blutkörperchen	Vorbehandeltes resp. aktives Meerschweinchenserum	Hämolyse	
0,4 ccm	0,08 ccm	komplett	
0,4 "	0,06 "	Spur	
0,4 "	0,04 "	∅	
0,4 "	0,03 "	∅	
0,4 "	0,02 "	∅	
0,4 "	0,01 "	∅	
0,4 "	0,005 "	∅	
Kontrolle {	0,4 "	0,08 ccm akt. Serum	komplett
	0,4 "	0,06 " " "	"
	0,4 "	0,04 " " "	"
	0,4 "	0,03 " " "	etwas
	0,4 "	0,02 " " "	inkomplett
	0,4 "	0,01 " " "	∅
	0,4 "	0,005 " " "	∅

Dieser Versuch zeigt, daß die mit inaktiviertem Antiserum präparierten Diphtheriebacillen in der Tat das Alexin binden. Wir können also mit Bestimmtheit behaupten, daß die Osponisierung der Diphtheriebacillen genau nach dem Schema der Präparin-Alexin- (Ambozeptor-Komplement-)Wirkung verläuft; sowie das bei der Bakteriolyse mit dem Präparin beladene Bakterium das Alexin absorbiert, so absorbiert der mit dem thermostabilen Hilfskörper beladene Diphtheriebacillus das Normalopsonin.

Weitere Versuche galten der Behauptung Sauerbecks daß das Diphtherietoxin die Phagocytose hemme. Wir konnten sie aber nicht bestätigen. Zunächst gehört hierher ein Versuch, den wir anstellten, um Aufschluß über die Ursache der ungleichen Freßbarkeit der avirulenten und virulenten Bacillen zu bekommen. Wenn die geringe Phagocytose der virulenten Bacillen Folge der Schädigung der Leukocyten durch die giftigen Stoffwechselprodukte der virulenten Bacillen wäre, müßte die Phagocytose um so schlechter werden, je längere Zeit die Toxine haben, um auf die Leukocyten einzuwirken. Wir ließen daher in

Versuch XVI und XVII

gleiche Teile der Leukocyten- und Bacillenaufschwemmung in Glasröhrchen einmal (bei Versuch XVI) bei Zimmertemperatur, das andere Mal (bei Versuch XVII) bei 38° C eine halbe Stunde miteinander in Berührung und fügten dann erst das aktive Pferde- resp. Antiserum hinzu. Das Resultat zeigen die folgenden Tabellen.

Tabelle a. Meerschweinchenleukocyten.

Mischungen	Phagocyt. Index	
	nach 10'	nach 30'
1 Vol. avir. Bac. + 1 Vol. Leukoc. + 1 Vol. akt. Pferdeser.	0,32 (XVI) 0,21 (XVII)	1,42 1,08
1 „ „ „ + 1 „ „ + 1 „ „ Antiser.	0,93 0,72	2,73 1,64
1 „ vir. „ + 1 „ „ + 1 „ „ Pferdeser.	0,25 0,31	0,85 0,75
1 „ „ „ + 1 „ „ + 1 „ „ Antiser.	0,70 0,55	1,85 1,92
1 „ avir. „ + 1 „ „ + 1 „ Citratlösung	0	0
1 „ vir. „ + 1 „ „ + 1 „ „	0	0

Tabelle b. Kaninchenleukocyten.

Mischungen	Phagocyt. Index	
	nach 10'	nach 30'
1 Vol. avir. Bac. + 1 Vol. Leukoc. + 1 Vol. akt. Pferdeser.	0,42 (XVI)	1,21
	0,52 (XVII)	1,01
1 „ „ „ + 1 „ „ + 1 „ „ Antiser.	0,95	2,85
	0,89	1,31
1 „ vir. „ + 1 „ „ + 1 „ „ Pferdeser.	0,28	0,88
	0,21	0,71
1 „ „ „ + 1 „ „ + 1 „ „ Antiser.	0,80	2,25
	0,57	1,85
1 „ avir. „ + 1 „ „ + 1 „ „ Citratlösung	0	0
	0	0
1 „ vir. „ + 1 „ „ + 1 „ „	0	0
	0	0

Das Resultat wird als negativ bezeichnet werden müssen, wenn man es mit dem des Versuches VII vergleicht. Insbesondere sind die Indices gerade für die virulenten Bacillen nahezu identisch, eher etwas höher bei den vorbehandelten Leukocyten als bei den frischen. Die niedrigeren Zahlen, welche bei den avirulenten Diphtheriebacillen mit den bei 38° C vorbehandelten Leukocyten erhalten wurden, dürften vielleicht auf die schon früher erwähnten Leukocytenhäufchenbildung zurückzuführen sein, welche hierbei beobachtet wurde.

Unsere Versuche über die Wirkung des Toxins selbst gestalteten sich folgendermaßen. Das Toxin verdanken wir ebenfalls der Güte der Höchster Fabrik. Es war frei von Konservierungsmitteln und hatte den Titre 2,5-fach.

Es kam zum Teil unverdünnt, zum Teil in 50-proz. (I), 25-proz. (II), 20-proz. (III) und 10-proz. (IV) Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung zur Verwendung.

Versuch XVIII.

Gewaschene Meerschweinchenleukocyten und virulente Bacillen in 0,4-proz. Ci-NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Die Reaktionszeiten 10' bis 7^h.

Mischungen				Toxin- menge in Proz.	Phago- cytärer Index nach 30'	Phago- cyten- prozent- satz
Akt. Meer- schwein- chenserum	Leuko- cyten	Bacillen	Toxin			
0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	20	0,67	61
			(konz. Tox.)			
0,2 „	0,1 „	0,1 „	0,1 ccm (I)	10	0,71	57
0,2 „	0,1 „	0,1 „	0,1 „ (II)	5	0,63	59
0,2 „	0,1 „	0,1 „	0,1 „ (III)	4	0,59	55
0,2 „	0,1 „	0,1 „	0,1 „ (IV)	2	0,66	53
0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm NaCl-Lös.	0	0,64	62

Nach diesem Versuche waren wir gegen unsere Erwartung nicht imstande, einen Einfluß des Diphtheriegiftes auf die Phagocytose zu erbringen. Die Leukocyten zeigten keine Degenerationserscheinungen, sondern fraßen unabhängig von der Menge des zugegebenen Toxins so gut wie in der toxinfreien Probe.

Versuch XIX.

Um dem Toxin mehr Zeit zur Wirkung auf die Leukocyten zu lassen, wurden Leukocyten-, Bacillenaufschwemmungen und Toxin zusammengebracht und wie bei dem früheren Versuche eine halbe Stunde bei 37° C stehen gelassen, bevor das aktive Meerschweinchenserum zugegeben wurde. Die sonstigen Bedingungen genau wie bei Versuch XVIII.

Akt. Meer- schwein- chenserum	Mischungen			Toxin- menge in Proz.	Phago- cytärer Index nach 30'	Phago- cyten- prozent- satz
	Leuko- cyten	Bacillen	Toxin			
0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm (konz. Tox.)	20	0,56	52
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,1 ccm (I)	10	0,53	49
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,1 " (II)	5	0,61	51
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,1 " (III)	4	0,55	57
0,2 "	0,1 "	0,1 "	0,1 " (IV)	2	0,42	41
0,2 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm NaCl-Lös.	0	0,44	45

Wenn das Diphtherietoxin für sich oder mit den Bacillen zusammen die Leukocyten schädigen sollte, so mußte der Effekt in diesem Versuche deutlich hervortreten. Aber wieder war nichts davon zu sehen. Im Gegenteil war der phagocytäre Index ebenso wie das Phagocytenprozent in den toxinhaltigen Präparaten etwas größer als in den Kontrollpräparaten. Wir müssen also Sauerbeck widersprechen: das Diphtherietoxin hat keinen Einfluß auf die Freßfähigkeit der Leukocyten. Damit wollen wir selbstverständlich nicht die Möglichkeit in Abrede stellen, daß ein Toxin von anderer Herkunft einmal auch Phagocytose hemmende Wirkung ausüben könne. Das Wirksame ist aber dann sicher nicht das Toxin, sondern andere Stoffwechselprodukte. Das Ergebnis der Sauerbeck'schen Versuche selbst dürfte sich wohl daraus erklären, daß das von ihm verwendete Toxin Karbolsäure enthielt, obwohl er angibt, daß sich dieser Zusatz bei seinen Versuchen nicht

störend bemerkbar machte. Wir selber haben die Erfahrung gemacht, daß der geringste Karbolgehalt des Antiserums seine Phagocytose fördernde Kraft völlig unterdrücken kann.

Wie sich aus dem Bisherigen ergibt, konnten wir die Beobachtung Sauerbecks bestätigen, daß das Diphtherieantiserum neben dem Antitoxin noch einen zweiten Antikörper enthält, der zusammen mit dem normalen thermolabilen Oponin die Diphtheriebacillen der Phagocytose zuführt. Um die Tragweite dieses Befundes für die Heilwirkung des Serums beurteilen zu können, ist es notwendig, zu wissen, welches Schicksal jener Diphtheriebacillen harrt, welche von Leukocyten gefressen worden sind.

Wie bereits besprochen, erstreckten sich unsere Beobachtungen der Phagocytose von 10 Minuten bis zu 7 Stunden und ergaben übereinstimmend mit anderen Erfahrungen, daß die Phagocytose sehr rasch erfolgt und in vitro gewöhnlich binnen einer halben Stunde, spätestens binnen einer Stunde ihre maximale Höhe erreicht. Das weitere Schicksal der gefressenen Bacillen aber festzustellen, ist nicht leicht, weil der Diphtheriebacillus bekanntermaßen zu den schwer auflösbaren Bakterien gehört und infolgedessen die Formveränderungen der phagocytierten Bacillen langsam vor sich gehen, während die Leukocyten bei 38° C in vitro ihre Lebenstätigkeit nach wenigen Stunden einstellen. Sicher ist, daß durchaus nicht alle gefressenen Bakterien zugrunde gehen, denn gar nicht selten beobachtet man ausgiebige intracelluläre Vermehrung der gefressenen Keime, wenn eine starke Aufnahme stattgefunden hat. Andererseits kann aber kein Zweifel darüber bestehen, daß die Diphtheriebacillen im Innern der Leukocyten auch ihren Untergang finden können und in erheblichem Umfange finden. Unterwirft man solche Präparate einer genauen Durchmusterung, so erkennt man abgetötete Bacillen in erster Linie schon durch ihr verändertes Verhalten gegenüber der Giemsa'schen Farblösung; solche Bacillen färben sich schmutzig-blaß rötlich, während lebende Keime einen blau-violetten Ton annehmen. Als morphologische Veränderungen

der vom Phagocyten getöteten Bacillen ergibt sich eine mehr oder minder starke Aufquellung, selbst eine Zerstückelung der Bacillen. Daß es sich dabei um Zerstörung der Bacillen handelt, ergibt sich auch aus der Abnahme des phagocytären Index bei längerer Dauer des Versuches. Wie aus den beiliegenden Tabellen von Versuch IX, X und XI ersichtlich ist, tritt sie nach etwa 2-stündigem Aufenthalt im Brutofen deutlich hervor.

Versuch IX. Tabelle a — inaktiviertes Normalpferdeserum.

Nach 30':	1,39	1,36	0,34	0,19	0,21	—
„ 2 ^h :	0,97	0,92	0,14	0,12	0,11	—

Tabelle b — inaktiviertes Antiserum.

Nach 30':	3,33	2,93	2,47	2,37	0,51	—
„ 2 ^h :	2,12	1,85	1,14	1,17	0,34	—

Versuch X. Tabelle a — inaktiviertes Normalpferdeserum.

Nach 30':	1,46	1,57	0,52	0,23	0,22	0,24
„ 2 ^h :	1,11	1,18	0,31	0,13	0,17	0,23

Tabelle b — Inaktiviertes Antiserum.

Nach 30':	4,71	3,85	2,89	2,51	0,48	0,24
„ 2 ^h :	3,59	2,27	1,96	1,22	0,32	0,23

Versuch XI. Tabelle a — inaktiviertes Normalpferdeserum.

Nach 30':	1,56	1,26	0,79	0,37	0,10	0,15
„ 2 ^h :	1,02	0,93	0,51	0,22	—	—

Tabelle b — inaktiviertes Antiserum.

Nach 30':	3,70	3,32	2,58	0,98	0,30	0,15
„ 2 ^h :	2,21	2,02	1,29	0,74	0,25	—

In späteren Stunden scheint sich die Vitalitätigkeit der Phagocyten fast gänzlich zu erschöpfen. Dem entspricht, daß die intracelluläre Vermehrung der Bacillen, von der oben die Rede war, nach unserer Erfahrung erst nach der 2. Stunde des Phagocytoseversuches ihren Anfang zu nehmen pflegt. In späteren Stunden kann sie einen enormen Grad erreichen, so daß der Zelleib des Phagocyten mit Bakterien auf das dichteste ausgefüllt wird. Hervorzuheben ist, daß die intracelluläre Keimvermehrung bei den mit Antiserum präparierten

Bacillen (Versuch XII, XIII und XIV) wenig deutlich war, während die extracellulär liegende Bacillen in demselben Präparate üppige Vegetation zeigten. Auch dies beweist wohl, daß die Phagocyten nicht bloß die Gräber der durch die gelösten Stoffe zugrunde gerichteten Bakterien sind, sondern zu deren Vernichtung durch ihre eigene Tätigkeit beitragen; denn die nicht gefressenen Bacillen waren ja der Flüssigkeit in weit höherem Maße ausgesetzt gewesen, als die gefressenen. Daß die intracelluläre Vermehrung von solchen Bacillen, welche der Vorbehandlung mit Antiserum unterzogen worden waren, in viel geringerem Umfange erfolgte, findet vielleicht darin die Erklärung, daß solche, schon vor dem Zusatze der Leukocyten präparierte Bacillen mit außerordentlicher Raschheit aufgenommen werden (Versuch XII, XIII und XIV), so daß sie länger als nicht präparierte der Einwirkung des Zellsaftes vollkräftiger Phagocyten ausgesetzt sind und dabei entweder abgetötet oder doch so schwer geschädigt werden, daß sie außerstande sind, sich später wieder zu erholen. Von großer Bedeutung für das Endsicksal der gefressenen Bacillen ist natürlich die Größe der verwendeten Bakterienmenge. An die Phagocyten dürfen keine zu hohen Anforderungen gestellt werden.

Schlußbetrachtungen.

Die mitgeteilten Versuche haben, kurz zusammengefaßt, folgende Tatsache ergeben: Das Behringsche Diphtherieantiserum hat ebensowenig wie Normalpferdeserum bakterizide Wirkung auf Diphtheriebacillen, weder für sich allein noch zusammen mit aktivem Normalserum vom Meerschweinchen und Kaninchen. Sowohl aktives Pferdeserum als Diphtherieantiserum wirken opsonisierend auf die Diphtheriebacillen. Die Wirkung des Antiserums ist jedoch bedeutend kräftiger. Avirulente Bacillen werden ausgiebiger phagocytiert als virulente. Im inaktivierten Zustande hat weder Normalpferdeserum noch Diphtherieheil-

serum gegenüber den Löfflerschen Bacillen eine opsonische Kraft. Dagegen wird ihre opsonische Wirkung durch solche Mengen aktiven Serums, welche an sich fast gar nicht oder nur schwach opsonisch wirken, reaktiviert. Es handelt sich also bei der Opsonisierung durch die aktiven Sera um das Zusammenwirken zweier Komponenten, einer thermostabilen und einer thermolabilen. Gerade so wie bei der Bakteriolyse der Antikörper aus den inaktivierten Seris durch die Bakterien absorbiert wird, erfolgt auch in unserem Falle die Absorption der thermostabilen Komponenten und werden die Bakterien dadurch für die Phagocytose in aktivem Normalserum präpariert. Aus den Versuchen (XVIII und XIX) läßt sich erkennen, daß die phagocytosefördernde Wirkung der beiden Sera nicht auf der Neutralisation des Diphtherietoxins durch das Diphtherieantitoxin beruht, denn wenn das Diphtherietoxin die von Sauerbeck behauptete phagocytosehemmende Wirkung hätte, hätten diese Versuche im positiven Sinne ausfallen müssen, was durchweg nicht der Fall war. Es enthält also, wie auch schon Sauerbeck annahm, das Antiserum neben dem Antitoxin noch einen zweiten Antikörper. Dieser Antikörper ist kein Bakteriotropin, sondern verhält sich wie ein bakteriolytisches Präparin (Ambozeptor), indem er nur zusammen mit einer bei 56° C labilen Komponente wirksam ist. Ob diese labile Komponente ein besonderes Opsonin ist oder mit dem Alexin (Komplement) identisch ist, muß dahingestellt bleiben, ebenso wie die Frage, ob der Antikörper in Bau und chemischer Wirkung völlig mit einem lytischen Ambozeptor übereinstimmt, da den Gemischen von Antiserum und Aktiv-Normalserum jede Spur einer lytischen Wirkung auf Diphtheriebacillen abgeht, was sowohl auf einer Verschiedenheit der wirksamen Substanzen als auf der für die Lyse nicht geeigneten Beschaffenheit des Diphtheriebacillus beruhen kann. Sicher ist jedenfalls, daß die spezifische Opsonisierung der Diphtheriebacillen gerade so vor sich geht, wie in vielen Fällen die Opsonisierung der Bakterien durch Normalsera, wo auch das thermolabile Opsonin der Mitwirkung eines Hilfskörpers bedarf, um Phagocytose zu veranlassen.

Ich verweise z. B. auf die Befunde von Cowie und Chapin¹⁾, von Meyer²⁾ und Hata³⁾.

Cowie und Chapin⁴⁾ gelang es zuerst, durch Absorption des Serums (fast ausschließlich von Menschen) mit Bakterien bei 0° C dem Serum den opsonischen Antikörper (Ambozeptor) allein zu entziehen. Das vorbehandelte Serum besaß kein opsonisches Vermögen mehr gegenüber den betreffenden Bakterien; erhielt es aber wieder durch Zugabe von inaktiviertem Serum (Ambozeptor). Meyer⁵⁾ und Hata⁶⁾ kamen zu den gleichen Resultaten.

Was die Frage anbelangt, ob die im Pferde- und Antiserum vorhandenen Antikörper identisch und nur in verschiedenen Mengen vorhanden oder qualitativ verschieden sind, so begnügen wir uns, darauf hinzuweisen, daß unsere Untersuchungen keinen prinzipiellen Unterschied zwischen beiden Substanzen erkennen ließen.

Aus dem Mitgeteilten erwächst für die Heilwirkung des Diphtherieantisera eine erweiterte Erklärung. Durch zahlreiche klinische Beobachtungen und sorgfältige Tierversuche ist überzeugend dargestellt, daß das Diphtherietoxin eine Leukocytose hervorruft, die als eine vitale Reaktion des Knochenmarkes auf das Toxin betrachtet wird. Daß Antitoxingaben ebenfalls eine mehr oder minder starke Vermehrung der Leukocyten, und zwar der polynukleären, bewirken können, wurde durch zahlreiche Arbeiten, zumal die von J. Erwing⁷⁾, J. S.

1) T. M. Cowie and W. S. Chapin, On the reactivation of heated normal human opsonic serum with fresh diluted serum. A contribution to the study of the structure of opsonins. *Journal of medical Research*, Vol. 17, 1907, p. 57. — Experiments in favor of the amboceptor-complement structure of the opsonin of the normal human serum for the *Staphylococcus albus*. *Ebenda*, p. 97. — The separation of opsonic amboceptor and complement in the cold. *Ebenda* p. 213.

2) K. Meyer, Ueber die phagocytosebefördernden Substanzen des Blutserums. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1908, No. 20, p. 951.

3) S. Hata, Ueber Konstitution und Spezifität der Oponine im normalen Serum. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 61, 1908, p. 81.

4) Cowie and Chapin, l. c.

5) K. Meyer, l. c.

6) Hata, l. c.

7) J. Erwing, The leucocytosis of diphtheria under the influence of serum therapy. *New York Med. Journal*, 1895, 10 and 17.

Billinger¹⁾, E. Schlesinger²⁾, H. Roger und Josué³⁾, Bésredka⁴⁾, G. Kucharzewsky⁵⁾, L. G. Simon⁶⁾ und vielen anderen nachgewiesen.

Andererseits hat Menabuoni⁷⁾ in der Kinderklinik in Florenz neuestens nachgewiesen, daß das Serum von Personen, welche Injektionen von Diphtherieantiserum erhalten haben, eine erhöhte opsonisierende Wirkung auf Diphtheriebacillen tatsächlich besitzt.

Es ist daher kaum anzuzweifeln, daß die Injektion des Diphtherieheilserums bei Diphtheriekranken unter Mitwirkung der vermehrten Leukocyten sowohl im lokalen Erkrankungs-herde als allgemein im Körper eine erhöhte Vertilgung der Bacillen zur Folge hat.

1) J. S. Billinger, The blood corpuscles in diphtheria; with especial reference to the effects produced upon them by the antitoxin of diphtheria. New York Med. Record, Vol. 49, 1896, No. 577.

2) E. Schlesinger, Die Leukocytose bei Diphtherie. Arch. f. Kinderheilkunde, Bd. 19, 1896, No. 5 u. 6, p. 400.

3) H. Roger et Josué, Action de la toxine et de l'antitoxine diphthériques sur la moelle osseuse. Comptes rendus de la Soc. de Biol., Série 10, T. 4, 1897, p. 265.

4) Bésredka, De la leucocytose dans la diphthérie. Étude expérimentale et clinique. Annales de l'Institut Pasteur, 1898, No. 5, p. 305.

5) H. Kucharzewsky, De l'influence des toxines diphthérique et tétanique sur l'hémoglobine, la morphologie et le poids spécifique du sang. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903, p. 381.

6) L. G. Simon, Des variations leucocytaires chez les malades atteints de diphthérie et traités par le sérum antidiphthérique. Journal de Phys. et de Patholog. génér., 1903, sept.

7) Menabuoni, l. c.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten der
Universität Bern; Direktor: Prof. W. Kolle.]

Experimentelle Studien zur Frage der Serumtherapie der Cholera asiatica.

Von

Dr. H. Carrière, und **Dr. E. Tomarkin,**
Vizedirektor des Schweizerischen Vorsteher der Vaccine-Abteilung des
Gesundheitsamtes. Schweizer. Serum- u. Impfinstitutes.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. September 1909.)

Einleitung.

Die Serumtherapie der Cholera ist bis jetzt trotz der vielfachen Tierversuche, die mit Choleraserum angestellt worden sind, wenig bei cholera-kranken Menschen angewandt worden. Das erklärt sich vielleicht dadurch, daß die toxigenen Fähigkeiten des Erregers zum wenigsten in den Kulturen nicht klar und eindeutig zutage treten, während derselbe im Organismus auf der Höhe der Infektion so heftige Giftwirkungen entfaltet, daß die Krankheit den Charakter einer reinen Vergiftung, wie es zuerst Robert Koch festgestellt hat, gewinnt. Man suchte nach Gegengiften; die Herstellung eines rein antitoxischen Serums ist aber, wie wir sehen werden, noch jetzt problematisch. Deshalb sind die therapeutischen Versuche beim kranken Menschen auch wenig zahlreich.

Im folgenden geben wir einen kurzen Abriß von der Lehre der Giftwirkung der Choleravibrionen, wie sie sich historisch entwickelt hat und von den Anschauungen, die hierüber gegenwärtig bestehen.

Robert Koch hat im Jahre 1884 die Vergiftungserscheinungen, die die Cholera asiatica im Stadium algidum darbietet, auf die Wirkung eines spezifischen Giftes zurückgeführt.

Der Nachweis dieses Giftes wurde in der Folge verschiedentlich versucht.

Brieger, Klebs und Villier stellten aus Cholerakulturen bzw. aus dem Darminhalt von Choleraleichen giftige Ptomaine dar.

Brieger und Fränkel gewannen aus älteren Cholerakulturen ein filtrierbares Gift, welches sie „Toxo-albumin“ nannten.

Winter und Lesage erhielten aus Cholerakulturen durch Fällung mit Schwefelsäure giftige Produkte.

Petri stellte aus den Filtraten von Cholerakulturen eine thermostabile als Toxozepton bezeichnete giftige Substanz dar.

Klebs, Wassermann und Voges versuchten aus Cholerakulturen das giftige Agens vermittelst Alkoholfällung zu gewinnen.

Wesbrook sah Giftbildung bei Züchtung von Choleravibriolen auf Nährböden von bestimmter Zusammensetzung.

Hueppe und später Scholl und Hammerl betrachteten gewisse, durch die Choleravibriolen bedingte Abspaltungsprodukte des Körperweißes als das Gift der Cholera. Das führte zur Aufstellung der sogenannten „Eiertheorie“.

Gruber und Wiener, Pfeiffer, Dönitz und Zenthöfer wiesen die Unhaltbarkeit dieser Theorie nach.

Emmerich und Tsuboi sahen im Stadium algidum der Cholera eine Nitritvergiftung.

Klemperer führte die Giftwirkungen der Cholera auf die Bildung von Nukleinen zurück.

Centani sen. sprach schon im Jahre 1885 als erster die Vermutung aus, daß die Intoxikationserscheinungen bei der Cholera asiatica durch endogene Gifte hervorgerufen werden.

Diese Ansicht führte zu der späteren Lehre von den Endotoxinen.

Pfeiffer wies nach, daß abgetötete Choleravibriolen Meerschweinchen bei intraperitonealer Einverleibung in gleicher Weise wie lebende Vibriolen zu töten vermögen, und schloß daraus, daß es die in den Bakterienleibern enthaltenen Gifte sind, welche diesen toxischen Effekt auslösen. In weiteren Arbeiten zeigten Pfeiffer und Wassermann, Pfeiffer und Friedberger u. a., daß Serum von Tieren, die vermittelst lebender oder abgetöteter Vibriolen vorbehandelt wurden, die homologen Bakterien auflösen, ohne aber imstande zu sein, einen entgiftenden Einfluß auf die aufgelösten Produkte auszuüben. Pfeiffer gelangte dabei zu der Auffassung, „daß die Vergiftung bei der Infektion durch die Resorption der toxischen Bakterienleibessubstanz entsteht und daß bei der Immunisierung Stoffe entstehen, welche die Bakterien zerstören, aber gegen die endotoxische Substanz ohne neutralisierende Wirkung sind“.

Aus den experimentellen Grundlagen dieser Lehre, die die Intoxikationserscheinungen bei der Cholera ausschließlich auf die Wirkung endogener Gifte zurückführt, ergab sich, daß die Wirkung der spezifischen Sera nur in ihrem Auflösungsvermögen zu suchen sei, nicht aber in antitoxischen Fähigkeiten, und Pfeiffer hebt demgemäß hervor, „daß es bei der Serumwirkung darauf ankommt, wie rasch durch die Vermehrung der Vibriolen die letale Dosis der endotoxisch wirkenden Bakteriensubstanzen gebildet wird. Erst von diesem Augenblicke an erliegen die Meerschweinchen, auch wenn die Infektion selbst durch die Vibriolenauflösung glatt abgeschnitten ist.“ Einflüsse scheinbar antitoxischer Natur, die sich hier und da in solchen Versuchen geltend machen, seien auf Rechnung einer nicht-spezifischen Wirkung des Serums zu setzen, das, wie übrigens auch

das Normalserum, durch Verlangsamung der Giftresorption wirkt. Eventuell käme hier auch die Sättigung der Bakterienrezeptoren mit dem zugehörigen Ambozeptor in Betracht, wodurch ihre Avidität für die empfindlichen Zellen des Organismus geschwächt wird. Die Serumwirkung ist ausschließlich eine bakterizide. Antitoxische Komponenten, die gegen das Endotoxin gerichtet sind, fehlen.

Dieser Lehre von der Bedeutung der Endotoxine und der Funktion der spezifischen Sera stehen nun andere Beobachtungen und Auffassungen gegenüber, die teils einen vollkommenen Gegensatz zu den Anschauungen von Pfeiffer bilden.

Zunächst sei erwähnt, daß Gamaleia die Untersuchung von Pfeiffer bestätigen konnte. Er stellte eine thermolabile und eine thermostabile giftige Substanz aus den Cholerakulturen dar.

Gruber und Wiener hingegen halten die Cholerabakterien für völlig ungiftig; die Gifte sollen erst sekundär unter ihrem Einflusse im Tierkörper entstehen.

Issaëff und Kollé und weiter R. Pfeiffer wiesen das Unhaltbare dieser Hypothese nach.

Ransom und Behring fanden in älteren Cholerabouillonkulturen ein lösliches, filtrierbares, hitzebeständiges und akut wirkendes Gift, mit welchem sich bei Vorbehandlung von Tieren Antitoxine herstellen ließen.

Klemperer stellte aus Cholerabouillonkulturen ein thermolabiles spezifisches Gift dar, mit welchem sich Antitoxine erhalten ließen, und ein hitzebeständiges Produkt, das keine spezifischen Eigenschaften besaß.

Metchnikoff, Roux und Salimbeni wiesen im Jahre 1894 nach, daß lebende Choleravibrionen, die, in Kollodiunisäckchen eingeschlossen, Meerschweinchen intraperitoneal eingeführt wurden, die Tiere durch lösliche diffundible Toxine in gleicher Weise töten, wie bei direkter Infektion mit lebenden Bakterien. Eine solche Giftbildung fand auch in den Kulturen außerhalb des Tierkörpers statt. Diese Gifte waren filtrierbar und lieferten bei Vorbehandlung von Tieren ein Serum, das neutralisierende und schützende Fähigkeiten hatte. Die Unmöglichkeit, mit endogenen Substanzen wirksame Sera zu erhalten, führen die Autoren darauf zurück, daß bei der Immunisierung durch formerhaltene Bakterien letztere von den Leukocyten aufgenommen werden und ihr Gift dabei zerstört wird.

M. Hahn gewann aus Bakterienkulturen giftige Preßsäfte, mit welchen ein dieses Gift neutralisierendes Serum erhalten werden konnte.

Brau und Denier sahen in älteren Cholerakulturen die Bildung eines filtrierbaren Giftes, welches sie als ein Endotoxin betrachteten, entstanden durch den Zerfall der Vibrionen. Mittels intravenöser Injektion dieser Bouillongifte konnten antitoxische Sera erhalten werden. Wirksamere Sera gewannen die Verfasser jedoch durch intravenöse Einführung lebender Choleravibrionen.

Kraus konnte die Angaben von Brau und Denier bestätigen. Seine Versuche werden später näher besprochen werden.

Besredka gibt ebenfalls an, daß vermitteltst intravenöser Injektionen lebender Kulturen ein wirksameres antiendotoxisches Serum sich gewinnen lasse als bei Immunisierung mit Endotoxinen.

Salembeni wies im Jahre 1908 nach, daß in flüssigen Cholera-kulturen das Entstehen zweier scheinbar verschiedener Gifte zu beobachten ist, eines thermolabilen, sehr wirksamen, durch geringe Serumdosen beeinflussbaren, in jüngeren Kulturen, vielleicht ein echtes, sezerniertes Toxin — und eines thermostabilen, weniger aktiven Toxins in älteren Kulturen, das nur durch große Serumdosen neutralisiert werden kann. Dieses letztere Gift zeigt die gleichen Eigenschaften wie die Substanz, die durch direkte Mazeration der Vibriolen gewonnen wird, und ist wahrscheinlich mit ihr identisch.

Weitere Versuche auf diesem Gebiete stammen von jenen Autoren, die sich mit der Frage der Gewinnung und Aufschließung des Endotoxins beschäftigten.

Um das endocelluläre Gift zu gewinnen, sind verschiedene Verfahren angegeben worden.

Mac Fadyen führt die Aufschließung der Bakterien bei Gefrier-temperatur herbei. Junge Agarkulturen werden mit destilliertem Wasser abgespült, zentrifugiert, das Sediment bei der Temperatur der flüssigen Luft verrieben, das Verreibungsprodukt in verdünnter Kalilauge aufgenommen, wieder zentrifugiert und die klare Flüssigkeit, die einen 10-proz. Extrakt der Zellsäfte darstellt, vermittelst Chloroform sterilisiert. Durch diese Methode gelang es Mac Fadyen, aus festen Cholerakulturen filtrierbare Gifte zu gewinnen, die thermolabil und nicht haltbar waren.

Besredka gewann antiendotoxische Substanzen durch Trocknen der abgespülten und abgetöteten Cholerakulturen im Vakuum, Verreiben im Mörser und nachträgliche Auflösung im Wasser. Die klar sedimentierte Flüssigkeit stellte eine außerordentliche stabile toxische Substanz dar, mit welcher Antitoxine sich erzeugen ließen.

Conradi, Neisser und Shiga, Meyer-Bergell gewannen das Endotoxin auf dem Wege der Autolyse.

Neben diesen Methoden ist noch das Verfahren der Schüttel-extrakte nach Brieger zu nennen.

Gegenüber diesen Forschern, die teils durch den Nachweis von Toxinen in den Kulturflüssigkeiten dem Cholera-vibrio die Fähigkeit zuschreiben, Toxine zu bilden, teils mittels endogener Bakterien-substanzen antitoxische Sera herzustellen imstande waren, wendet nun Pfeiffer ein, daß zunächst, was die toxinproduzierende Fähigkeit der Cholera-bakterien anbetrifft, diese löslichen Gifte wohl in der Hauptsache nichts anderes seien als „durch fermentative Prozesse abgebaute und dadurch löslich gewordene Bakterien-substanzen, welche zu dem originären Gift in demselben Verhältnis stehen, wie z. B. Peptone und Albumosen zu den nativen Eiweiß-körpern“. In bezug auf die auf mechanischem Wege gewonnenen endogenen Substanzen, deren antigener Charakter durch die Möglichkeit, mit ihrer Hilfe Antitoxine zu erzeugen, erwiesen ist, meint Pfeiffer, daß diese Stoffe durch autolytische Prozesse veränderte Substanzen sind, die wohl in dieser Form ein gegen sie gerichtetes Antitoxin zu bilden ver-

mögen, nicht aber gegen das unveränderte Endotoxin der Bakterienzelle, wie es im infizierten Organismus eine Rolle spielt. Immerhin gibt Pfeiffer die Möglichkeit der Herstellung eines antiendotoxischen Serums zu, nur verlangt er, „daß nur solchen Seris antiendotoxische Eigenschaften zuerkannt werden, welche imstande sind, lebende oder vorsichtig abgetötete toxische Bakterien zu entgiften und physiologisch indifferent zu machen.“

Zum Schlusse erübrigt es noch, auf die Versuche von Kraus einzugehen.

Kraus hat in Gemeinschaft mit seinen Mitarbeitern Pribram, Prantschoff und Russ die von F. Gotschlich isolierten El Tor-Stämme untersucht. Er fand, daß die 6 Stämme, welche in jeder Beziehung als identisch mit echten Choleravibrionen sich erwiesen hatten, dadurch ausgezeichnet waren, daß sie ein Hämolysin und ein akut wirkendes Toxin bildeten. Kraus und Russ, die noch weitere Cholerastämme in den Bereich ihrer Untersuchungen zogen, fanden, daß auch diese Stämme in der von den Autoren angegebenen Nährflüssigkeit filtrierbare Toxine bildeten, die Meerschweinchen unter gleichen Erscheinungen wie lebende Vibrionen töteten. Die Toxine waren labil und unterschieden sich von den El Tor-Giften unter anderem dadurch, daß sie weniger akut wirkten. Ob diese Toxine Sekretions- oder Zerfallsprodukte der Bakterien darstellen, wollen die Autoren nicht entscheiden; ihnen genügt die Tatsache, daß die Gifte durch ihre antigene Eigenschaft sich als echte Toxine ausgewiesen haben.

Im folgenden mögen einige Angaben über die Gewinnung von spezifischen Choleraseren vermitteltst endogener und ekto-gener Gifte Erwähnung finden.

Salimbeni hatte bei seinen oben angeführten Versuchen durch Immunisierung von Pferden mittels Mazerationsprodukte der Vibrionen ein Serum erhalten, das sehr starke agglutinatorische, jedoch keine antitoxischen Fähigkeiten besaß. Pferde, die mit dem löslichen Toxin der Bouillonkultur immunisiert wurden, lieferten ein Serum, dem erhebliche neutralisierende Eigenschaften zukamen. Dieses Serum wirkte auch agglutinierend und stark bakteriolysisch.

Mac Fadyen immunisierte mit den durch seine Gefriermethode gewonnenen Toxinen Kaninchen und Ziegen und erhielt namentlich von den Ziegen ein Serum, das sehr kräftige neutralisierende Fähigkeiten entfaltete.

Kraus immunisierte Pferde mittels Toxine, die aus älteren Cholera-bouillonkulturen gewonnen wurden. Das Serum dieser Tiere neutralisierte das Gift nur in doppelt tödlicher Dosis bei Anwendung von Serummengen von 0,2 bis 0,5 ccm. Völlig unwirksam erwies sich dieses Serum im Heilversuch, und zwar sowohl Toxinen gegenüber wie gegenüber lebenden Vibrionen. Kraus führt die geringe Wirksamkeit bzw. das vollkommene Versagen des Serums im Tierversuch auf die deletäre Wirkung der Gifte und die große Empfindlichkeit der Versuchstiere — Meerschweinchen —

zurück. Kurative Wirkungen sind von Kraus nur bei der Infektion der weniger empfindlichen Mäuse erzielt worden.

Die von Kraus untersuchten, mit Cholera identischen El Tor-Stämme bildeten in Bouillonkulturen ein Toxin, das die Versuchstiere, im Gegensatz zu den Cholera-toxinen, akut tötete. Auch mit diesen Toxinen, und zwar sowohl mit Kulturfiltraten, wie mit den Extrakten von Agarkulturen, konnte ein Serum gewonnen werden, das im Mischungsversuch neutralisierende Wirkungen ausübte, im Heilversuch aber, wie das Choleraserum, bei Meerschweinchen im Stiche ließ, und nur bei Mäusen kurative Einflüsse erkennen ließ. Da das El Tor-Serum neben anderen nicht-spezifischen El Tor-Vibriolen auch Cholera-vibriolen zu beeinflussen imstande war und bessere neutralisierende und kurative Wirkungen zeigte als das Choleraserum, bezeichnet es Kraus als ein Universalantitoxin. Auf Grund dieser seiner Untersuchungen kommt Kraus zu einer Auffassung, die zu der alten Lehre von den Endotoxinen im völligen Gegensatze steht.

Pfeiffer und Friedberger haben die Untersuchungen von Kraus nachgeprüft und sind dabei in prinzipieller Hinsicht zu anderen Resultaten gelangt. Sie fanden, wie Kraus, daß die El Tor-Vibriolen ein akut wirkendes, durch das homologe Serum neutralisierbares Gift bilden, daß aber dieses Serum gegenüber abgetöteten und lebenden El Tor-Vibriolen wie gegenüber lebenden Cholera-vibriolen sowohl im Mischungs- wie im Heilversuch von ganz gleicher Wirksamkeit wie ein rein bakterizides Serum ist. Dieses Serum vermag auf die im Laufe der Cholera-infektion der Meerschweinchen entstehende Vergiftung keinen Einfluß auszuüben. Wo Effekte dieser Art sichtbar werden, seien dieselben auf Rechnung des bakteriziden Anteils des Serums zu setzen. Die Autoren schließen: „Nicht die antitoxischen Eigenschaften, sondern die bakteriolytischen bestimmen den Wert des Serums, nicht allein für die Prophylaxe, sondern auch für die Therapie der Cholera-infektion.“

Auf der zweiten Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie im Jahre 1908 betonte Pfeiffer gegenüber Kraus, daß eine eigentliche Giftsekretion bei den Cholera-vibriolen nicht stattfindet und daß bei der Bekämpfung der Cholera-infektion hauptsächlich den antiinfektiösen Seren Bedeutung zukommt. In bezug auf die Erzeugung eines wirklich anti-endotoxischen Serums sagt Pfeiffer, daß es denkbar ist, „daß im Organismus Einrichtungen bestehen, welche das Endotoxin unschädlich machen und immunisatorisch steigerungsfähig sind“.

In seiner Entgegnung auf die Ausführungen Pfeiffers faßte Kraus die Ergebnisse seiner Untersuchungen zusammen. Diese Versuche hatten gezeigt, daß Serum, welches durch Immunisierung mit Cholera-bouillon-giften gewonnen war, nur die Gifte dieser Vibriolen neutralisierte, nicht aber die Gifte der El Tor Vibriolen. Bei präventiver und gleichzeitiger Injektion wirkte das Serum sowohl gegen die Infektion mit lebenden Cholera-vibriolen wie mit El Tor-Bakterien, weil es für beide Bakteriolytine besitze. Im Heilversuch hingegen versage das Choleraserum gegenüber der Infektion mit El Tor-Vibriolen, da es nur Antitoxine für die Cholera-vibriolen besitze. Damit sei die Toxinnatur der Cholera-gifte erwiesen. Kraus fährt

3*

dann fort: „Ob diese Gifte im Organismus sezerniert werden und auf diese Weise die Vergiftung ausmachen, oder ob sie durch Zerfall der Leibes-substanzen die Krankheitserscheinungen bedingen, wie Pfeiffer annimmt, dürfte, soweit es die praktische Frage betrifft, von nebensächlicher Bedeutung sein. Wichtig ist, daß sowohl die Filtratgifte, die allerdings durch Autolyse in den Bouillonkulturen entstanden sein konnten, als auch endocelluläre Gifte gleiche Krankheitserscheinungen auslösen und durch gleiches antitoxisches Serum neutralisiert werden können.

Weiter bespricht Kraus die von ihm festgestellte Tatsache, daß Serum, gewonnen mit El Tor-Bouillongiften, diese Gifte und die Gifte der Cholera-vibrien neutralisiert und daß sich El Tor-Serum im Heilversuch an Mäusen sowohl gegenüber der Vergiftung der Tiere mit Toxinen von El Tor und Cholera wie gegenüber der Infektion mit lebenden El Tor- und Cholera-vibrien in gleichem Maße wirksam erweise.

Zum Schlusse führt noch Kraus zum Beweise, daß die Auflösung der Bakterien zur Erklärung der Vergiftungserscheinungen nicht notwendig ist, Versuche an mit Serum, gewonnen mit Giften des Vibrio Nasik. Dieses Serum wirkt neutralisierend auf die El Tor-Vibrien, vermag sie aber nicht aufzulösen. Im Heilversuch bleiben die mit Nasik- und El Tor-Vibrien infizierten und mit Nasikserum behandelten Tiere in gleicher Weise am Leben, trotzdem bei den ersteren Tieren die Bakterien glatt aufgelöst werden, bei den letzteren aber intakt bleiben. Das spricht dafür, „daß die Vergiftungserscheinungen durch sezernierte Gifte ohne Zerfall der Leibes-substanz auch bei Vibrien zustande kommen könnten“. Und zum Schlusse: „Aus all den angeführten Versuchen geht mit voller Klarheit hervor, daß das pathogenetische Agens der Cholera und Vibrieninfektionen Gifte sind, denen wir Toxincharakter zuzusprechen haben.“

Kolle äußert sich auf der gleichen Tagung unter teilweisem Hinweis auf die vorliegende Arbeit dahin, daß die giftneutralisierende Wirkung der Cholerasera nicht parallel dem bakteriziden Titer gehe. Es kann im Gegenteil beobachtet werden, daß hochwertige bakterizide Menschen- und Kaninchensera, die durch intravenöse bzw. subkutane Injektionen von kleinen Mengen abgetöteter Cholera-bakterien gewonnen sind, viel weniger wirksam sind als Ziegen- und Pferdeserum von geringerem bakteriziden Titer. Die stärkste Wirkung zeigen Pferdesera, die durch langdauernde Vorbehandlung vermittelt intravenöser Einspritzung von großen Mengen abgetöteter Cholera-vibrien erhalten sind, allerdings muß gegenüber dieser Tatsache betont werden, daß auch dem normalen Pferdeserum antiendotoxische Wirkungen innewohnen. Es spielt also bei der Gewinnung von solchen Antikörpern die Tierart eine nicht unerhebliche Rolle. Uebrigens sei die giftneutralisierende Wirkung auch des Serums von Tieren, die lange Zeit mit großen Dosen von Vibrien oder deren Extrakten vorbehandelt worden sind, allgemein keine sehr ausgesprochene, und es sind verhältnismäßig große Dosen des Serums notwendig, um relativ kleine Mengen des Giftes zu neutralisieren.

Kolle schließt: „Der Nachweis von löslichen Giften der Cholera-bakterien, die ausnahmsweise von einzelnen Stämmen im mäßigen Umfange

in flüssigen Nährmedien sich finden mögen, wie z. B. El Tor-Vibrionen, kann als ein allgemein für die Vibrionen und daher alle Cholera-vibrionen erbrachter nicht gelten. Alle bisherigen Versuche sprechen vielmehr dafür, daß die giftigen Wirkungen der Cholera-bacillen, lebender sowohl wie toter, und ihrer Extrakte, auf der Wirkung von echten Endotoxinen im Sinne der Pfeifferschen Auffassung beruhen. Mit Hilfe dieser Annahme lassen sich auch alle klinischen Erscheinungen der Cholera bei Menschen wohl erklären. Weshalb ohne Not diese Theorie aufgeben?“

Wie wir gesehen haben, ist bis jetzt kein genügender Grund vorhanden, die Lehre von den Endotoxinen und ihrer Bedeutung bei der Cholera-infektion zu verlassen. Eingeschränkt muß zwar angesichts vieler neuer Tatsachen der früher vielfach vertretene Satz werden, daß gegen Endotoxine kein entsprechendes Antitoxin herstellbar sei. Diese Auffassung wurde hauptsächlich dadurch gestützt, daß in den Seren, welche durch Einverleibung von formerhaltenen Bakterien — lebenden oder toten — gewonnen wurden, keine Anreicherung anti-toxischer Substanzen stattfindet, und daß dementsprechend bei der experimentellen Cholera-infektion, wenn eine gewisse Grenze überschritten ist, die Tiere unter dem Einfluß der durch das Serum aufgelösten Bakterien zugrunde gehen. Gegenüber diesen Vorgängen darf wohl der Ansicht Ausdruck gegeben werden, daß bei der Immunisierung vermittelt formerhaltener Bakterien zunächst der gesamte reaktionsfähige Rezeptorenanteil der giftempfindlichen Zellen des Organismus in Anspruch genommen wird, für welchen das Gift eine Avidität besitzt. Ist nun einmal die Auflösung der Bakterien erfolgt und sind endogene Gifte frei geworden, so treten sie nun an eine Zelle heran, die bereits im Zustande der Erschöpfung sich befindet, und es ist fraglich, ob sie bei der Verankerung dieser endogenen Gifte noch imstande ist, neue Rezeptoren in genügendem Maße zu bilden und ins Blut ab-zustoßen.

Anders wäre es auch nach der Anschauung von Ehrlich schwer verständlich, warum ein verankerbares Gift nicht zugleich einen Reiz für die Neubildung von Ambozeptoren auslösen sollte, zumal gewisse Partialprodukte dieses Giftes — die Bakterienextrakte — ein entsprechendes Antitoxin in gewissem Grade zu erzeugen vermögen. Daß endotoxische Sub-

stanzen die Bildung entsprechender Ambozeptoren wirklich anregen können, geht unzweifelhaft aus den angeführten Versuchen hervor. Diese Substanzen jedoch stellen wahrscheinlich nicht das gesamte Endotoxin der Bakterienzelle in seiner originären Form dar und lösen die Bildung von Antikörpern aus, die nicht vollkommen den endogenen Giften der Bakterienzelle entsprechen. Die unvollkommene Wirksamkeit derartiger Sera muß also nicht unbedingt in der prinzipiellen Unmöglichkeit, anti-endotoxische Stoffe zu gewinnen, liegen, sondern vielleicht nur in der Unvollkommenheit der Immunisationsverfahren.

Experimenteller Teil.

Unsere Versuche waren in der Hauptsache darauf gerichtet, ohne Rücksicht auf alle Theorien und Spekulationen über die Natur des Choleragiftes vermittelt geeigneter Methoden ein therapeutisch wirksames Choleraserum zu erhalten, und zwar zunächst ein im Tierversuch wirksames Präparat. Von der Verwertung der in alten Bouillonkulturen enthaltenen Gifte für Zwecke einer nach der gezeichneten Richtung tendierenden Immunisierung haben wir von vornherein abgesehen, weil Cholerasträmme welche ein echtes lösliches Toxin in jungen Kulturen bilden, wohl zu den Ausnahmen gehören, wenn sie überhaupt vorkommen. Ferner sind die Beziehungen echter sezernierter Toxine zu den Cholera-Endotoxinen, deren dominierende Rolle bei der Cholerainfektion nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse nicht geleugnet werden darf, keineswegs geklärt. Die in alten Bouillonkulturen enthaltenen Gifte sind aber, wenn sie in erheblicher Masse angetroffen werden, als mehr oder weniger veränderte und modifizierte Abbauprodukte des zerfallenen Bakterienleibes aufzufassen.

Zur Gewinnung der Endotoxine und der in der Bakterienzelle enthaltenen Substanzen in löslicher bzw. leicht resorbierbarer Form stehen uns eine Reihe von Verfahren zur Verfügung, die bereits eingangs erwähnt sind. Sie haben alle zum Ziel, das Endotoxin in Freiheit zu setzen, und suchen

dies auf verschiedenen Wegen zu erreichen. Die Mittel, die dabei angewendet werden, sind im Hinblick auf das Endziel durchaus nicht einwandfrei, da sie in keiner Weise die Gewinnung des gesamten, in der Bakterienzelle enthaltenen originären Giftes und der Leibessubstanzen in unveränderter Form gewährleisten.

Unter den bestehenden Verfahren zur Herstellung von derartigen Bakterienextrakten haben wir die von Mac Fadyen beschriebene Methode und das Verfahren der sogenannten Schüttelextrakte gewählt. Auf die Methode der Autolyse der Kulturen ist hingegen verzichtet worden, weil auf diesem Wege Produkte resultieren, die stark verändert sein müssen.

Ausgegangen sind wir bei unseren Versuchen von einem Cholerastamm — in unserem Institute unter der Bezeichnung Cholera 74 fortgeführt — der aus der Choleraepidemie in Westpreußen im Jahre 1905 stammte. Dieser Stamm erwies sich sowohl in morphologisch-kultureller Beziehung, wie im Hinblick auf die biologischen Reaktionen als typisch. Die tödliche Dosis für Meerschweinchen bei peritonealer Infektion betrug anfänglich $\frac{1}{8}$ Oese und später bei allwöchentlicher Tierpassage $\frac{1}{20}$ Oese für 200 g Meerschweinchen.

Mit der Schrägagarkultur dieses Stammes wurden eine Anzahl Agarflaschen, von welchen jede eine Nährfläche darbot, die etwa 20—22 Schrägagarröhrchen entsprach, geimpft und die Kultur nach 18, spätestens 20-stündigem Wachstum bei 37° mit physiologischer Kochsalzlösung — das für die Schüttelextrakte bestimmte Material mit 10 ccm destillierten Wassers pro Flasche — abgeschwemmt. Die ersten Darstellungen lehnten sich ziemlich genau an die Vorschriften von Mac Fadyen an. Die mit Kochsalzlösung aufgeschwemmte Kulturmasse wurde scharf zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgossen und das Sediment im Vakuum eingengt. Der Inhalt von 20 Agarflaschen ergab gewöhnlich 2 g eingetrockneter Substanz, die während 2 Stunden mittels flüssiger Luft bei Gefriertemperatur in dem von Mac Fadyen beschriebenen Apparate verrieben wurde. Zu dem Verreibungsprodukte setzte man von einer Kalilaugelösung 1:1000 so viel zu, daß eine 10-proz. Lösung des Toxins in dieser Weise entstand. Dann wurde wieder scharf zentrifugiert und das klare Zentrifugat abgehoben und mit einigen Tropfen Chloroform versetzt. Später sind wir aus mancherlei Erwägungen von diesem Verfahren insofern abgewichen, als wir das bei Gefriertemperatur verriebene Pulver statt mit

Kalilauge mit Kochsalzlösung versetzten und zwar mit je 10 ccm per Agarflasche. Zu diesen Lösungen wurde in der ersten Zeit Phenol beigegeben bis zu einem Gehalte von 0,4 Proz., später erfolgte die Aufbewahrung unter Toluol.

Bei der Bereitung der Schüttelextrakte wurde die Kulturmasse mit 10 ccm destilliertem Wasser per Agarflasche aufgeschwemmt, der Inhalt der einzelnen Flasche in geeignete Gefäße gesammelt und während 48 Stunden im Schüttelapparat extrahiert. Nach beendeter Extraktion wurde scharf zentrifugiert und die vollkommen klare Flüssigkeit, die noch ganz spärliche Vibrionen enthielt, mit Toluol versetzt. Hierauf erfolgte nach hinreichender Einwirkung des Desinficiens nochmaliges Zentrifugieren, um den Rest der Bakterien aus der Flüssigkeit zu entfernen, und weiterer Zusatz von Toluol.

Die Prüfung der auf diese Weise erhaltenen Extrakte erstreckte sich sowohl auf die Ermittlung ihrer Toxizität wie auf ihre infektionsbefördernde Wirkung. Nebenbei wurde versucht, die Giftigkeit der verschiedenen Waschflüssigkeiten des von uns benutzten Stammes sowie derjenigen der 5 El Tor-Stämme von Gotschlich festzustellen und die Fähigkeit des Stammes 74, in Bouillonkulturen verschiedenen Alters Toxine zu bilden, klarzulegen. Schließlich wurde noch die Giftigkeit der durch Tonkerzen filtrierten Extrakte und ihre Resistenz gegen die Erwärmung studiert.

Toxizitätsprüfung des Extraktes Mac Fadyen.

Das in Kalilauge aufgelöste Extrakt tötete Meerschweinchen von 300 g bei intraperitonealer Einverleibung regelmäßig in Dosen von 0,15 bis 0,25 ccm. Die Extrakte in Kochsalzlösung (10 ccm physiologischer Kochsalzlösung pro Flasche) töteten die Tiere in Mengen von 1,5 bis 3 ccm, eine Quantität, die 0,25 bis 0,5 ccm der Konzentration der 10-proz. Kalilauge-lösung entspricht. Die Giftigkeit der Extrakte wird durch Filtration vermittelt Tonkerzen herabgesetzt und durch Erwärmung auf 55° während einer Stunde vernichtet.

Toxizitätsprüfung der Schüttelextrakte.

Der Tod der Tiere erfolgte bei Anwendung von Dosen von 1,2 bis 1,5 ccm. Filtration setzt die Toxizität der Ex-

trakte herab, Erwärmung auf 60° C während einer Stunde hebt sie auf.

Zu bemerken ist, daß die Toxizität der in physiologischer Kochsalzlösung aufgelösten Extrakte aus verschiedenen Darstellungen und zwar sowohl des Extraktes nach Mac Fadyen wie der Schüttelextrakte, keine gleichmäßige war. Hie und da resultierten Produkte, die trotz gleicher Gewinnungsart nur sehr schwach giftig waren. Worauf die Schwankungen beruhten, konnten wir nicht ermitteln.

Bestimmung der tödlichen Dosis der Extrakte, berechnet auf Meerschweinchen von 300 g Körpergewicht.

Datum der Herstellung	Datum der Prüfung	Schüttelextrakt cem	Extrakt nach Mac Fadyen cem
15. II.	15. II.	—	0,5
12. III.	12. III.	—	0,3
	27. III.	—	0,3
	9. IV.	—	0,3
6. IV.	15. IV.	0,5	0,5
		0,5 filtriert †, 0,5 60° lebt	0,5 filtriert lebt, 0,5 60° lebt
3. XII.	10. XII.	1,5	1,5
5. II.	10. II.	0,5	0,5
	29. II.	0,5	0,5
1. VII.	10. VII.	0,5	0,5
3. VII.	9. VII.	0,05	0,05
	9. VII.	0,25	0,25

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die tödliche Dosis der beiden Extrakte ungefähr die gleiche war. Wir stellten ferner fest, daß die Extrakte bei Aufbewahrung unter Toluol längere Zeit ihre Toxizität behalten können und daß die Giftigkeit auch der frischen Extrakte, unter anscheinend gleichen Bedingungen bereitet, nicht immer die gleiche ist.

Das Sektionsbild der eingegangenen Versuchstiere war meist ein typisches und gleichbleibendes: Hyperämie der Därme und der serösen Häute, blutreiche, etwas vergrößerte Milz, hyperämische Nebennieren, in der Bauchhöhle eine größere oder kleinere Menge klaren Exsudats, das manchmal etwas blutig tingiert war.

Toxizitätsprüfung der Waschflüssigkeit der Cholerakulturen.

Die Tatsache, daß aus jungen Dysenteriekulturen durch einfaches Waschen toxische Substanzen erhältlich sind, hat uns veranlaßt, in gleicher Weise Cholerakulturen und die Kulturen der El Tor-Vibrionen zu behandeln.

18-stündige Kulturen in großen Agarflaschen wurden mit je 10 ccm Kochsalzlösung bzw. destilliertem Wasser abgeschwemmt, die Spülflüssigkeit stark zentrifugiert und das Zentrifugat mit Toluol bzw. Chloroform versetzt. Die sterilen Flüssigkeiten töteten Meerschweinchen von 300 g bei peritonealer Einführung in Dosen von 2 bis 3 ccm. Diese Versuche, die an der Aufschwemmungsflüssigkeit der für die Herstellung der Extrakte benutzten Kulturen vorgenommen wurden, sind oft mit dem gleichen Resultat wiederholt worden.

In einem weiteren Versuche wurden 40 18-stündige Schrägagarkulturen mit im ganzen 30 ccm Kochsalzlösung ab gespült und die Waschflüssigkeit in der gleichen Weise gewonnen. Ein Tier, das intraperitoneal 1 ccm der Flüssigkeit erhalten hatte, blieb am Leben, die anderen mit 2, 3, 4 und 5 ccm behandelten gingen ein. Das Sektionsbild war sowohl bei dieser wie bei der vorigen Versuchsreihe das gleiche wie bei den Tieren, die mit den Extrakten geimpft wurden.

Die durch Tonkerzen (Reichelfilter) filtrierten Flüssigkeiten besaßen im Gegensatz zu den Extrakten die gleiche Giftigkeit wie die nicht filtrierten.

Von Wichtigkeit für die Frage nach der Natur der sog. El Tor-Vibrionen ist nun deren Verhalten bezüglich auswaschbarer Gifte.

Prüfung der Toxizität der Waschflüssigkeit von El Tor.

Ein weiterer Versuch wurde unternommen, um die Toxizität der Waschflüssigkeit der 5 El Tor-Stämme (Stamm 5 war eingegangen) im Verhältnis zu derjenigen des für unsere Versuche verwendeten Stammes 74 auszuprüfen. Man benutzte für jeden Stamm 40 18-stündige Schrägagarkulturen, die mit im ganzen 30 ccm Kochsalzlösung ab gespült wurden. Zentrifugieren und Filtrieren durch Reichelfilter. Das Resultat erhellt aus nachstehender Zusammenstellung.

Stamm	Injektionsmenge				
	1 ccm	2 ccm	3 ccm	4 ccm	5 ccm
El Tor I	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt
" " II	"	"	"	"	"
" " III	"	"	†	†	"
" " IV	"	"	lebt	lebt	"
" " VI	"	"	†	"	"

Die Tabelle zeigt, daß die filtrierten Waschflüssigkeiten von El Tor bei Stamm III und IV eine geringe Giftigkeit besaßen, die aber ganz unregelmäßig sich geltend machte.

Zur Feststellung der Unschädlichkeit der den Extrakten beigegebenen Desinficientien wurden einigen Tieren 5 ccm einer toluolisierten und 5 ccm einer mit Phenol 0,4 Proz. versetzten Bouillon intraperitoneal eingeführt. Die Tiere ertrugen die Einverleibung absolut ohne jede Reaktion.

Prüfung der Bouillongifte des Stammes 74.

Mehrere Bouillonkölbchen wurden mit einer Oese des Cholerastammes 74 geimpft und im Brutschrank bei 37° aufbewahrt. Nach verschiedenen Zeiträumen erfolgte die Entnahme von Proben, die im filtrierten sterilen Zustande Meer-schweinchen intraperitoneal einverleibt wurden.

Das Resultat war folgendes. Das Filtrat der 24-stündigen Kultur tötete die Tiere in Dosen von 5 ccm, bei der 5 Tage alten Kultur bleibt das mit 1 ccm und 3 ccm geimpfte Tier am Leben, während dasjenige, welches 2 ccm erhalten hatte, eingeht. Bei den 20 Tage alten Kulturen bleiben die Tiere mit 1 ccm und 2 ccm injiziert am Leben, das Tier mit 3 ccm stirbt.

Nach diesem Ergebnis hatten wir keinen Grund, unseren Stamm als einen Produzenten erheblicher Mengen löslicher Toxine anzusehen.

Prüfung der infektionsbefördernden Wirkung des Extraktes Mac Fadyen.

Die Tiere erhalten intraperitoneal untertödliche Dosen lebender Choleravibrionen des Stammes 74 und subkutan wechselnde Mengen des Extraktes mit folgendem Resultate:

	Menge des Extraktes ccm	Kultur- menge	Tier No.	Ausgang
Extrakt Mac Fadyen	0,4	$\frac{1}{5}$ Oese	1	†
	0,4	$\frac{1}{5}$ „	2	†
	0,2	$\frac{1}{15}$ „	3	†
	0,2	$\frac{1}{15}$ „	4	†
	0,4	$\frac{1}{10}$ „	5	†
	0,4	$\frac{1}{10}$ „	6	etwas krank, er- holt sich
	0,2	$\frac{1}{10}$ „	7	lebt
	0,2	$\frac{1}{10}$ „	8	„
Kontrolle	0,4	—	1	„
	0,2	—	2	„
	—	$\frac{1}{3}$ Oese	3	†
	—	$\frac{1}{5}$ „	4	lebt

Die Tabelle zeigt in unzweideutiger Weise die infektiionsbefördernde Wirkung des Extraktes.

Immunisierungsversuche.

Die dargelegte Vorprüfung hatte uns Aufschluß über die Wirksamkeit unserer Extrakte gegeben, und wir gingen nun zur Immunisierung von Tieren mit denselben über. Wir wählten Ziegen, die zunächst subkutan mit steigenden Dosen der betreffenden Extrakte vorbehandelt wurden. Später wurde die Behandlung auf intravenösem Wege fortgeführt. Zum Vergleich des therapeutischen Effektes wurden ferner rein bakterizide Seren hergestellt. Wir erhielten dieselben durch kurze Vorbehandlung von Kaninchen mit ganz kleinen Mengen abgetöteter Cholera vibriionen und durch Immunisierung von Menschen vermittels zweimaliger Einverleibung von einer bzw. zwei Oesen abgetöteter Kultur. Endlich diente als Vergleichsobjekt das Serum eines Pferdes, welches seit mehreren Jahren mit abgetöteten Cholera vibriionen vorbehandelt war.

Unter der Annahme, daß ein therapeutisch wirksames Choleraserum aber alle bisher bekannten Antikörper enthalten muß, wurde zu den Versuchen auch ein Choleraserum benutzt, welches durch lang dauernde intravenöse Vorbehandlung eines Pferdes mit abgetöteten Bakterien gewonnen war. Denn mehrere Versuche hatten uns gezeigt, daß auf diesem Wege erhebliche antiendotoxische Effekte neben den verschiedenen anderen Komponenten des Serums erzielt werden können. Es standen

uns somit schließlich zwei Arten Ziegenserum, bakterizides Menschenserum und bakterizides Kaninchenserum und Pferdeserum zur Verfügung.

Die Immunisierung der Ziegen begann vermittels subkutaner Einverleibung der vorher an Meerschweinchen genau ausgeprüften Schüttelextrakte bzw. der bei Gefriertemperatur gewonnenen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgelösten Extrakte. Den Anfang bildeten Dosen von 3 ccm, und in ziemlich rascher Folge wurden im Laufe von etwa 3 Monaten Enddosen von 30 ccm erreicht. Das nach Mac Fadyen bereite Extrakt bedingte bei den behandelten Tieren die stärksten Reaktionen; die Temperatur stieg namentlich im Beginn der Behandlung im Maximum bis zu 41,7. Die Temperaturbewegungen bei den mit Schüttelextrakten behandelten Tieren waren im allgemeinen viel mäßiger: 40,3 im Maximum, meistens einige Centigrade unter 40. In beiden Fällen sank die Temperatur im Laufe des nächsten Tages zur Norm. Von lokalen Reaktionen wurden hier und da Schwellungen an der Injektionsstelle beobachtet, die aber bald zurückgingen. Das Körpergewichtsverhältnis der Tiere blieb stets ein normales.

Zehn Tage nach der letzten subkutanen Einverleibung von 30 ccm Extrakt wurde von den beiden Tieren zu Versuchszwecken Blut entnommen und hierauf die Immunisierung vermittel intravenöser Injektionen fortgeführt. Sie begannen mit Dosen von 0,1 ccm und stiegen im Laufe von etwa 4 Monaten beim Schüttelextrakt bis zu Dosen von 15 ccm und 25 ccm bei dem Extrakt nach Mac Fadyen. Auch bei diesem Behandlungsmodus traten Temperaturerhöhungen auf, selbst bei der Injektion kleinster Mengen, sie kehrten jedoch ebenfalls bald wieder zur Norm zurück. Unterschiede in den Temperaturbewegungen zwischen den mit den einzelnen Extrakten intravenös behandelten Tieren waren nicht auffällig. Hingegen trat die allgemeine Reaktion mitunter so heftig auf, daß die Tiere nach vollzogener Injektion nicht mehr stehen konnten.

Zehn Tage nach der letzten Injektion erfolgte die Blutentnahme.

Die zwei folgenden Tabellen geben über den Gang der Immunisation Aufschluß.

Immunisierung einer Ziege vermittelt des Extraktes
Mac Fadyen.

Erste Periode der Immunisation auf subkutanem Wege.

Datum der Injektion	Quantität des Extraktes		Tempe- raturen		Gewicht kg	Bemerkungen
	per Injek- tion ccm	Total- menge ccm	mor- gens	abends		
22. Aug. 1907	3	3	38,6	40,3	55	
23. " "	—	—	38,9	—		
28. " "	3	6	38,2	39,2		Unbedeutende lokale Infiltra- tion
29. " "	—	—	38,8	—		
6. Sept. "	4	10	38,0	39,4		
7. " "	—	—	39,6	—		
8. " "	—	—	39,0	—	54 (am 11.)	
13. " "	5	15	38,9	39,6		Unbedeutende lokale Infiltra- tion
14. " "	—	—	39,1	—		
20. " "	7,5	22,5	38,8	39,6	55,5 (am 18.)	
21. " "	—	—	38,9	—		
27. " "	10	32,5	38,6	39,6		
28. " "	—	—	38,9	—	56 (am 25.)	
5. Okt. "	12,5	45	38,8	39,0	56 (am 2.)	
6. " "	—	—	39,2	—		
12. " "	8	53	38,6	40,0	59 (am 9.)	Frisch bereitetes Extrakt, des- halb geringere Injektionsdosis
13. " "	—	—	38,9	—		
19. " "	15	68	38,9	39,8	57 (am 16.)	
20. " "	—	—	38,4	—		
26. " "	20	88	38,4	39,4	57 (am 23.)	
27. " "	—	—	38,4	—		
4. Nov. "	30	118	38,6	38,8	55 (am 30. Okt.)	
5. " "	—	—	38,4	—		
11. " "	30	148	38,5	38,9		
12. " "	—	—	38,6	—		
20. " "	—	—	—	—		Erste Blutent- nahme (80 ccm)

Zweite Periode der Immunisierung auf intravenösem Wege.

Am 13. Jan. 1908 wird die Behandlung wieder aufgenommen; es werden zuerst 10 ccm Extrakt subkutan eingespritzt und die Immunisation hierauf intravenös weitergeführt.

Datum der Injektion	Quantität des Extraktes		Temperaturen		Gewicht kg	Bemerkungen
	per Injektion ccm	Totalmenge ccm	morgens	abends		
13. Jan. 1908	10	—	—	—		Subkutane Einspritzung
5. Febr. "	0,1	0,1	38,6	39,2	54 (am 4.)	Intravenöse Einspritzung. Mäßige Reaktion
6. " "	—	—	38,6	—		
12. " "	0,2	0,3	38,4	39,8	54 (am 11.)	
13. " "	—	—	38,3	—		
19. " "	0,5	0,8	38,2	39,8	54	
20. " "	—	—	38,7	—		
27. " "	2	2,8	38,7	39,2	55 (am 26.)	Aus Versehen wurde die injizierte Dosis vervierfacht statt verdoppelt. Das Tier hat die Injektion indessen gut vertragen (etwas Diarrhöe)
28. " "	—	—	38,4	—		
7. März "	3	5,8	38,6	39,6	52 (am 3.)	
8. " "	—	—	38,6	—		
13. " "	4	9,8	38,7	39,8	56 (am 10.)	
14. " "	—	—	38,6	—		
21. " "	6	15,8	38,6	39,0	57 (am 17.)	
22. " "	—	—	38,7	—		
31. " "	8	23,8	38,8	41,3	54	
1. April "	—	—	38,9	—		
21. " "	10	33,8	38,6	40,1		Vom 3.—7. April hat das Tier eine starke Reaktion gezeigt (Temperatur bis 41,1°)
22. " "	—	—	38,7	—	52	Zweite Blutentnahme (80 ccm)
2. Mai "	—	—	38,9	39,6	52 (am 5.)	
16. " "	12	45,8	38,6	40,5	52 (am 12.)	
17. " "	—	—	—	—		
26. " "	15	60,8	38,6	40,5	50	
27. " "	—	—	38,7	—		
12. Juni "	20	80,8	38,9	40,4	52 (am 10.)	
13. " "	—	—	38,8	—		
20. " "	25	105,8	38,9	39,8		
21. " "	—	—	38,7	—		
24. " "	—	—	39,1	—	52	Blutentnahme
10. Juli "	2	107,8	88,9	40,6	54	Es wird ein frisches Extrakt eingespritzt, das sehr toxisch ist, deshalb die geringe Dosis
11. " "	—	—	38,4	—		
23. " "	3	110,8	38,8	39,6	52	
24. " "	—	—	38,9	—		
31. " "	4	114,8	38,7	39,8	52	Die Ziege zeigt Infektionserscheinungen (Gelenkschwellungen an den Vorderbeinen und pleuritische Erscheinungen). In der Gelenkflüssigkeit findet man Staphylokokken und Streptokokken. Die Ziege wird am 20. Aug. getötet. Das injizierte Extrakt hat sich als steril erwiesen.

Immunisierung einer Ziege vermittelst des Schüttel-
extraktes.

Erste Periode der Immunisation auf subkutanem Wege.

Datum der Injektion	Menge des Toxins		Tempera- turen		Gewicht kg	Bemerkungen
	per Injek- tion ccm	Total- menge ccm	morgens	abends		
22. Aug. 1907	3	3	38,4	41,6	44	
23. " "	—	—	38,4	—		
28. " "	3	6	38,0	41,6		Mäßige lokale Reaktion
29. " "	—	—	38,5	—		
6. Sept. "	3	9	38,1	40,1		Geringe lokale Reaktion
7. " "	—	—	—	—		
13. " "	5	14	38,8	39,5	43 (am 11.)	dgl.
14. " "	—	—	38,8	—		
20. " "	7	21,5	38,6	40,4	44 (am 18.)	dgl.
21. " "	—	—	39,0	—		
27. " "	10,5	31	38,8	39,8	44 (am 28.)	dgl.
28. " "	—	—	39,8	—		
5. Okt. "	12	44	38,4	40,4	44 (am 2.)	dgl.
6. " "	—	—	39,4	—		
12. " "	8	52	39,0	39,8	44,5 (am 9.)	Es wird ein fri- sches Extr. ein- gespritzt, wes- halb die Dosis herabgesetzt wird
13. " "	—	—	39,0	—		
19. " "	15	67	38,8	40,4	43 (am 16.)	
20. " "	—	—	38,8	—		
26. " "	20	87	38,6	39,6	44 (am 23.)	
27. " "	—	—	38,7	—		
4. Nov. "	30	117	38,2	39,8	42 (am 31. Okt.)	
5. " "	—	—	38,9	—		
11. " "	—	—	—	—		Da das Tier nach der letzten In- jektion einige beunruhigende Symptome ge- zeigt hat (Ap- petitverlust, Husten etc.), wird an diesem Tage auf eine Einspritzung verzichtet
20. " "	—	—	—	—		Erste Blutent- nahme (80 ccm)

Zweite Periode der Immunisierung auf intravenösem Wege.

Am 14. Januar 1908 wird die Behandlung wieder aufgenommen; es werden zuerst 10 ccm Extrakt subkutan eingespritzt und dann die Immunisation intravenös fortgeführt.

Datum der Injektion	Menge des Toxins		Temperaturen		Gewicht kg	Bemerkungen
	per Injektion ccm	Totalmenge ccm	morgens	abends		
14. Jan. 1908	10	—	—	—		
5. Febr. "	0,06	0,06	38,4	39,9	46	Subkutane Einspritzung. Intravenöse Einspritzung. Mäßige Reaktion
6. " "	—	—	37,2	—		
12. " "	0,1	0,16	38,6	40,3	44 (am 11.)	
13. " "	—	—	38,0	—		Reaktion stärker als am 5.
19. " "	0,2	0,36	38,6	39,6	44	
20. " "	—	—	38,4	—		
27. " "	1	1,36	38,8	40,0	45 (am 26.)	Aus Versehen wurde die Dosis verfünffacht statt verdoppelt. Etwas Diarrhöe
28. " "	—	—	38,4	—		
7. März "	1,5	1,86	39,0	39,8		
8. " "	—	—	39,1	—		
13. " "	2	3,86	38,8	39,8	42 (am 10.)	
14. " "	—	—	38,2	—		
21. " "	3	6,86	38,4	39,6	44 (am 17.)	Kleine Attaque nach der Ein- spritzung
22. " "	—	—	39,6	—		
31. " "	3,5	10,36	38,7	40,6	44	
1. April "	—	—	38,1	—		
21. " "	3,5	13,86	38,8	39,6	44 (am 19.)	
2. Mai "	—	—	38,9	—		Zweite Blutentnahme (80 ccm)
16. " "	4	17,86	38,8	40,2	46 (am 12.)	
17. " "	—	—	38,9	—		
26. " "	6	23,86	38,7	41,1	42	
27. " "	—	—	38,9	—		
12. Juni "	12	35,86	39,0	41,7	41	
13. " "	—	—	39,9	—		
20. " "	15	50,86	38,8	39,2		Nach der Injektion fiel die Ziege nieder, erholte sich aber sehr rasch
24. " "	—	—	39,0	—	42	
25. " "	—	—	39,2	—		
10. Juli "	2	52,86	39,0	40,0	41	
11. " "	—	—	39,0	—		
23. " "	3	55,86	39,9	40,9	44 (am 23.)	
24. " "	—	—	38,3	—		
31. " "	4	59,86	39,0	39,9	44 (am 29.)	Kurze Zeit nachher wurde die Ziege total entblutet und das Serum zu Heilversuchen ver- wendet.

Die Pferde wurden in verschiedenen Etappen mit hochvirulenten abgetöteten Kulturen geimpft. Es wurde mit der Einverleibung einer Agarkultur begonnen und im Laufe von 5 Wochen zu 12 ganzen Kulturen gestiegen. Die ersten Einverleibungen hatten ziemlich hohe Temperaturbewegungen, 38,8 bis 39,4°, zur Folge. Im Laufe von 4 bis 5 Tagen sank dann die Temperatur zur Norm wieder zurück. Das Pferd lieferte am Schlusse dieser ersten Immunisationsperiode ein Serum, das einen Agglutinationstiter von 1:10 000 aufwies. Bei der weiteren Immunisierung, die jedesmal nach Einschaltung bestimmter Pausen einsetzte, zeigten die Tiere, im Gegensatz zu den mit Extrakten behandelten Ziegen, niemals stürmische Reaktionen. Sie hatten im Laufe von etwa zwei Jahren 120 Agarkulturen erhalten, und das Serum, welches nach der zweiten Immunisierungsperiode einen Agglutinationstiter von 1:20 000 zeigte, behielt denselben konstant bis zum Schluß.

Prüfung der Sera.

Es standen uns zur Verfügung:

1) Ziegenserum, gewonnen durch subkutane bzw. intravenöse Behandlung während längerer Zeit mit Schüttelextrakten. Injizierte Totalmenge 117 ccm subkutan und ca. 60 ccm intravenös, bezeichnet als „Ziegenserum Sch“.

2) Ziegenserum, gewonnen durch subkutane bzw. intravenöse Behandlung während längerer Zeit mit Extrakten nach Mac Fadyen. Injizierte Totalmenge subkutan 148 ccm und intravenös ca. 115 ccm, bezeichnet als „Ziegenserum M“.

3) Serum vom Pferd, intravenös behandelt mit steigenden Dosen abgetöteter Cholerakulturen des Stammes 74 während längerer Zeiträume. Injizierte Totalmenge 120 Agarkulturen.

4) Serum von Kaninchen, zweimal intravenös behandelt mit einer bzw. zwei Oesen abgetöteter Choleravibrionen.

5) Sera von Menschen, behandelt subkutan mit einer bzw. zwei Oesen abgetöteter Cholerakulturen No. 74, bezeichnet als „Serum C“ und „Serum T“.

Von sämtlichen Serumspendern wurde vor Beginn der Behandlung Blut als Normalserum entnommen

1. Gehalt der Sera an Agglutininen.

Zunächst wurden sämtliche Sera gegenüber dem zur Immunisierung benutzten Stamm (Cholera 74) bzw. gegenüber heterologen Stämmen (Cholera I und V) auf ihren Gehalt an Agglutininen ausgeprüft. Die Agglutination wurde makroskopisch beobachtet, nachdem die betreffenden Röhrchen, die in je 1 ccm Kochsalzlösung eine bestimmte Serumquantität und $\frac{1}{3}$ Oese der zu prüfenden Cholerakultur enthielten, 1 Stunde bei 37° verblieben waren.

Die Resultate sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Menge des Serums in 1 ccm NaCl-Lösung	Verdünnung	Menschenserum C	Menschenserum T	Pferdeserum	Ziegen-serum		Kaninchen-serum	Normal-serum			Stamm
					Sch.	M.		Pf.	Z.	K.	
0,05	1:20	0+	×	×	×	×	×	0	0	+	Cholera I
0,02	1:50	0	×	×	×	×	×	0	0	++	
0,01	1:100	0	×	×	×	×	×	0	0	+++	
0,005	1:200	0	×	×	×	×	×	0	0	0	
0,002	1:500	0	0	×	×	×	×	0	0	0	
0,0010	1:1000	0	0	×	×	×	×	0	0	0	
0,0005	1:2000	0	0	×	×	×	×	0	0	0	
0,0002	1:5000	0	0	×	0	0	×	0	0	0	
0,05	1:20	0	×	×	×	×					Cholera V
0,02	1:50	0	×	×	×	×					
0,01	1:100	0	×	×	×	×					
0,005	1:200	0	×	×	×	×					
0,002	1:500	0	0	×	×	×					
0,001	1:1000	0	0	×	×	×					
0,0005	1:2000	0	0	+	×	0					
0,0002	1:5000	0	0	+	0	0					
0,05	1:20	0	×	×	×	×	×				Cholera 74
0,02	1:50	0	×	×	×	×	×				
0,01	1:100	0	×	×	×	×	×				
0,005	1:200	0	×	×	×	×	×				
0,002	1:500	0	0	×	×	×	×				
0,001	1:1000	0	0	×	×	×	×				
0,0005	1:2000	0	0	×	×	×	0				
0,0002	1:5000	0	0	0	0	0	0				

× = starke Agglutination, + = mäßige Agglutination, 0+ = zweifelhafte Agglutination, 0 = keine Agglutination.

Die Prüfung ergab den höchsten Agglutiningehalt im Pferdeserum, und zwar wirkte derselbe merkwürdigerweise gegenüber den beiden heterologen Stämmen in höheren Verdünnungen agglutinierend (1 : 5000 und darüber) als gegenüber

4*

dem homologen Stamm (1:2000). Das „Ziegenserum Sch.“ wies einen höhern Agglutinationstiter auf (1:2000 gegenüber allen Stämmen) als das „Ziegenserum M.“, bei welchem, wie beim Pferdeserum, die heterologen Stämme in höheren Verbindungen agglutiniert wurden (1:2000 bzw. 1:1000) als der homologe Stamm (1:200). Auffällig ist, daß von den beiden vom Menschen stammenden Seren, die in ganz gleicher Weise gewonnen waren, das eine Choleravibrionen in Verdünnungen von 1:200 stark agglutinierte, während das andere absolut ohne Einfluß blieb; einem entsprechenden Verhalten werden wir später in bezug auf den Gehalt an spezifischen komplementbindenden Stoffen und an Bakteriolytinen begegnen. Von den zur Kontrolle benutzten normalen Seren agglutinierte das Kaninchenserum bis zu Konzentrationen von 1:100, während normales Ziegen- und Pferdeserum auch in Verdünnungen von 1:20 unwirksam waren.

Bei weiterer Fortführung der Immunisierung stieg, wie bereits angegeben, der Agglutinationstiter des Pferdeserums gegenüber dem homologen Stamm auf 1:10 000 und zuletzt 1:20 000, bei den beiden Ziegenseren auf 1:2000 bzw. 1:1500.

2. Gehalt der Sera an spezifischen komplementverankernden Stoffen.

Die Prüfungen, die zum Teil Hr. Dr. Schatloff, damaliger Mitarbeiter am Institut — es betrifft das die Versuche mit lebenden Vibrionen — in dankenswerter Weise auszuführen die Güte hatte, erstreckten sich auf die Auswertung der Sera gegenüber lebenden Vibrionen verschiedener Herkunft und gegenüber den beiden Extrakten als Antigen, und zwar in homologer und heterologer Reihe. Daneben wurde der Einfluß der Inaktivierung und des Alters der Sera auf ihr Bindungsvermögen zu ermitteln gesucht.

Die Prüfung geschah im Rahmen der bekannten Bordet-Gengou-Wassermannschen Versuchsanordnung. Die Mengen der zu verwendenden Bakterien wurden stets an einem hämolytischen System austitriert, da Choleravibrionen an und für sich, zum Teil durch direkte Einwirkung auf das Komplement, zum Teil durch ihre hämolysierenden Eigenschaften, den Gang der Versuche beeinträchtigen können. Die brauchbare Dosis betrug $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ Oese einer 18-stündigen Cholerakultur. Ebenso

wurden die beiden Extrakte auf das hämolytische System eingestellt. Die Inaktivierung erfolgte durch Erwärmung auf 60° während einer Stunde. Komplement — normales frisches Meer-schweinchenserums — wurde in Dosen von 0,05 ccm und wiederholt ausgewaschene rote Hammelblutkörperchen in Dosen von 1 ccm einer 5-proz. Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung verwendet. Das hämolytische Serum stammte von einem Kaninchen, das vermittels gewaschener Hammelblutkörperchen längere Zeit immunisiert worden war; es löste 1 ccm 5-proz. rote Hammelblutkörperchen in Dosen von 0,0003. Hämolytisches Serum und rote Blutkörperchen einerseits, sowie das Gemisch von Komplement, Antigen und Immunserum andererseits verblieben getrennt eine Stunde bei 37° und nach ihrer Vermischung eine weitere Stunde bei der gleichen Temperatur. Die Ablesung der Resultate erfolgte sofort und nach 24 Stunden, innerhalb welcher Zeit die Versuchsröhrchen im Eisschrank aufgehoben wurden. Wir geben zunächst die bei dieser Versuchsanordnung gewonnenen Resultate in tabellarischer Zusammenfassung wieder.

Komplementbindungsversuch mit Stamm V und 74.

Stamm	Menge des Serums	Menschenserum C.		Menschenserum T.		Ziegenser. Sch.		Ziegenser. M.		Pferdeser.		Kaninchenser.	
		Normalser. inaktiviert	Immunser. inaktiviert	Normalser. inaktiviert	Immunser. inaktiviert	alt	frisch	alt	frisch	alt	frisch	inaktiviert	aktiv
Cholera V	0,05	0	0	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,02	0	0	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,01	0	0	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,005	0	0	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,002	0	0	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,001	0	0	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
Cholera 74	0,05	0	+	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,02	0	+	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,01	0	+	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,005	0	+	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,002	0	+	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×
	0,001	0	+	0	0	×	×	×	×	×	×	×	×

× = komplette Hemmung, + = deutliche Hemmung, ⊕ = Spur Hemmung, 0 = Hämolyse.

Komplementbindungsversuche mit verschiedenen Cholerastämmen.

Mengen des Serums	Pferdeserum gegen Stamm						Kaninchenser. gegen Stamm			Ziegen- serum	Ser. T.		Ser. C.	
	1	2	3	4	5	74	1	5	74	1	74	1	74	
0,2	—	—	—	—	—	×	×	×	×	×	×	×	×	
0,1	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	⊕	⊕	
0,05	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	0	0	
0,02	×	×	×	×	×	×	×	×	×	+	+	0	0	
0,01	×	×	×	×	⊕	×	×	×	×	⊕	+	0	0	
0,005	+	+	+	×	0	⊕	0	0	0	0	0	0	0	
0,002	0	0	0	×	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Die vorstehende Zusammenstellung zeigt zunächst den Gehalt der einzelnen Sera an komplementverankernden Stoffen. Das „Menschenserum C.“ enthielt nur Spuren solcher Stoffe (Titer 0,15). „Menschenserum T.“ hemmte die Hämolyse in Dosen von 0,02 ccm sowohl gegenüber dem homologen wie gegenüber dem heterologen Stamm.

„Ziegenserum Sch.“ hemmte gegenüber dem homologen Stamm in Mengen bis 0,01, gegen den heterologen Stamm V in Mengen von 0,05. „Ziegenserum M.“ hemmte homolog und heterolog in Dosen von 0,02.

Kaninchenserum hatte seinen komplementbindenden Titer bei Dosen von 0,01 gegenüber dem homologen und bis 0,05 gegenüber den heterologen Stämmen.

Pferdeserum wirkte hemmend bei Verwendung des homologen Stammes in Mengen von 0,002; gegenüber dem heterologen Stamm zeigte sich Komplementbindung bei 0,005. Den höchsten komplementverankernden Titer wiesen also das Pferdeserum und dann das Kaninchenserum auf. Menschen- und Ziegenserum zeigten sich von etwa gleicher Wirksamkeit. Ein Unterschied zwischen frischem und altem Serum konnte nicht bemerkt werden. Aktives Serum hemmte stärker als inaktiviertes. Im allgemeinen wirkten die Sera besser in Gegenwart ihrer homologen Stämme.

In einem weiteren ähnlichen Versuche wurden, wie bereits erwähnt, die beiden Extrakte bei der Bestimmung des Gehaltes an komplementbindenden Substanzen der Sera als Antigene eingereiht, und zwar in Gegenwart der homologen wie der heterologen Sera. Die Tabellen zeigen die Ergebnisse.

I. Versuch.

(Erste Blutentnahme nach subkutaner Vorbehandlung.)

a) Antigen in fallenden Dosen, Serum konstant						b) Antigen in konstanten Dosen, Serum fallend					
Menge des Antigens	Menge des Serums	Schüttel- extrakt gegen		Extrakt Mac Fadyen gegen		Menge des Antigens	Menge des Serums	Schüttel- extrakt gegen		Extrakt Mac Fadyen gegen	
		Serum Sch.	Serum M.	Serum Sch.	Serum M.			Serum Sch.	Serum M.	Serum Sch.	Serum M.
0,4	0,1	×	×	×	×	0,1	0,4	×	×	×	×
0,1	0,1	×	×	×	×	0,1	0,1	+	×	×	×
0,07	0,1	×	×	×	×	0,1	0,07	o	×	×	×
0,04	0,1	×	×	×	×	0,1	0,04	o	+	×	×
0,01	0,1	×	×	o	o	0,1	0,01	o	o	o	o
0,007	0,1	×	×	o	o	0,1	0,007	o	o	o	o

II. Versuch mit Ziegenserum Sch.

(Entnahme des Blutes nach längerer intravenöser Immunisierung.)

Antigen in fallenden Dosen, Serum konstant				Antigen in konstanter Dosis, Serum fallend			
Menge des Antigens	Menge des Serums	Schüttel- extrakt	Extrakt M. F.	Menge des Antigens	Menge des Serums	Schüttel- extrakt	Extrakt M. F.
0,5	0,1	×	×	0,1	0,5	×	×
0,2	0,1	×	×	0,1	0,2	×	×
0,1	0,1	×	×	0,1	0,1	×	×
0,05	0,1	×	o	0,1	0,05	×	×
0,02	0,1	×	o	0,1	0,02	×	o
0,01	0,1	×	o	0,1	0,01	×	o
0,005	0,1	×	o	0,1	0,005	×	o
0,002	0,1	+	o	0,1	0,002	×	o
0,001	0,1	o	o	0,1	0,001	×	o

Kontrollen :

- Serum allein: Hemmung.
- Extrakt M. F. allein: Hämolyse.
- Schüttelextrakt allein: Hämolyse.
- Extrakt M. F. + Serum: Hemmung.
- Schüttelextrakt + Serum: Hemmung.
- Komplement allein: Hämolyse.
- Kochsalzlösung: Hemmung.
- Schüttelextrakt + Komplement: Hemmung.
- Extrakt M. F. + Komplement: Hämolyse.

III. Versuch mit Ziegenserum Sch. gegenüber leb. Vibrionen.
(Blutentnahme nach längerer intravenöser Immunisierung.)

Bakterien	Menge des Serums	Resultat
$\frac{1}{5}$ Oese	0,5	×
$\frac{1}{5}$ "	0,2	×
$\frac{1}{5}$ "	0,1	×
$\frac{1}{5}$ "	0,05	×
$\frac{1}{5}$ "	0,02	×
$\frac{1}{5}$ "	0,01	×
$\frac{1}{5}$ "	0,005	+
$\frac{1}{5}$ "	0,002	⊕
$\frac{1}{5}$ "	0,001	⊙

Der Versuch I (a) zeigt, daß beide Sera gegenüber dem Schüttelextrakt einen höheren komplementverankernden Titer aufweisen (bis 0,007 und darunter) als wie gegenüber dem Extrakt nach Mac Fadyen (bis 0,04). Das läßt darauf schließen, daß das Extrakt Mac Fadyen in gleicher Quantität weniger Antigen enthält als das Schüttelextrakt. Hingegen geht aus dem Teil b der gleichen Tabelle hervor, daß das „Serum M. F.“ mehr komplementbindende Substanz besitzt als das „Serum Sch.“. Gegenüber lebenden Vibrionen zeigt das „Serum Sch.“ Komplementbindung bis zu Serumdosen von 0,002.

3. Gehalt der Sera an bakteriziden Stoffen.
Pfeifferscher Versuch.

Der bakterizide Titer der verschiedenen Sera wurde im Pfeifferschen Versuch ermittelt. Es ergab sich dabei folgendes:

Immunpferdeserum.

0,005 IPfs.	+ 1 Oese Chol.	zahlr. Granula,	keine Bakt.	lebt
0,001	" + 1 "	" "	" "	lebt
0,0005	" + 1 "	" "	" "	lebt
0,0002	" + 1 "	" "	" "	† Perit.-Exs. steril
0,00005	" + 1 "	keine	"	bewegl. Vibr. † zahl. Vibr. im Exs.

Kontrolle: Normalpferdeserum 0,02 lebt
" 0,001 †

Ziegenserum Sch.

0,05 Ser.	+ 1 Oese Chol.	zahlr. Granula,	keine Bakt.	† nach 3 Tagen Perit.-Exs. steril
0,03	" + 1 "	" "	" "	† nach 2 Tagen Perit.-Exs. steril
0,01	" + 1 "	" "	" "	† nach 2 Tagen Perit.-Exs. steril
0,005	" + 1 "	bewegl. u. unbewegl. Vibr.		† nach 24 Stund. zahlr. Vibr. im Exs.
0,001	" + 1 "	zahlr. bewegl. Vibr.		†

Ziegenserum M.

0,05	Ser. + 1	Oese Chol.	zahlr. Granula,	keine Bakt.	lebt
0,03	" + 1	" "	" "	" "	† Perit.-Exs. steril
0,02	" + 1	" "	" "	" "	† Perit.-Exs. steril
0,01	" + 1	" "	" "	" "	† nach 2 Tagen Perit.-Exs. steril
0,005	" + 1	" "	Granula bewegl.	Vibr.	† Vibr. im Perit.-Exs.
0,001	" + 1	" "	" "	" "	† Vibr. im Perit.-Exs.
0,0002	" + 1	" "	Keine Granula,	bewegl. Vibr.	† Vibr. im Perit.-Exs.
Kontrolle: 0,1 Normalziegenserum					keine Granula †
0,1 " "					einige Granula † Vibr. im Perit.-Exs.

Kaninchenserum.

0,005	Ser. + 1	Oese Chol.	zahlr. Granula,	keine Bakt.	lebt
0,002	" + 1	" "	" "	" "	lebt
0,001	" + 1	" "	" "	" "	lebt
0,0005	" + 1	" "	Granula, bewegl.	Vibr.	† Vibr. im Perit.-Exs.
Kontrolle:					
0,1	Normalkaninchenserum	keine Granula			† zahlr. Vibr. im Exs.
1,0	" "	Granula u. bewegl.	Vibr.		† spärli. Vibr. im Exs.

Menschenserum T.

0,03	Ser. + 1	Oese Chol.	massenhaft Granula,	keine Bakt.	lebt
0,01	" + 1	" "	" "	" "	lebt
0,005	" + 1	" "	Granula, bewegl.	Vibr.	† Vibr. im Perit.-Exs.

Menschenserum C.

0,1	Ser. + 1	Oese Chol.	Granula und unbewegl.	Vibr.	lebt (?)
0,03	" + 1	" "	keine Granula, bewegl.	Vibr.	†
0,01	" + 1	" "	" "	" "	†

Der Versuch ergab annähernd gleiche bakteriolytische Titer beim Pferde- und Kaninchenserum.

Die beiden Ziegensera hatten einen Titer von 0,05 bzw. 0,01.

Von den Menschensera erwies sich das „Serum T.“ bei 0,01 ccm wirksam, während „Serum C.“ erst bei Dosen von 0,1 ccm Auflösungsvermögen zeigte.

Zusammenfassend läßt sich sagen: Die Vorprüfungen der Wertigkeit unserer spezifischen Ziegensera ergaben, daß dieselben einen erheblichen Gehalt an Agglutininen besaßen und ebenso an komplementverankernden spezifischen Stoffen, daß aber ihr bakterizider Anteil trotz der vorausgegangenen langen

Immunisierung auf subkutanem und intravenösem Wege kein besonders hoher war; auch in den Fällen, wo die Auflösung der Vibrionen komplett in Erscheinung trat, gingen die Tiere fast immer zugrunde.

4. Das Neutralisationsvermögen der Sera in vitro.

Im 1. Versuch

wurde das neutralisierende Vermögen des Immunpferdeserums gegenüber Schüttelextrakten ausgeprüft. Serum und Schüttelextrakt in zweifach tödlicher Dosis wurden gemischt, 1 Stunde bei Zimmertemperatur belassen und hierauf je 2 Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

2 Tiere erhalten je	1,5 ccm Schüttelextr.	+ 0,1 ccm Pferdeser.	† nach 24 ^h
2 " " "	1,5 " "	+ 0,2 " "	† " 24 ^h
2 " " "	1,5 " "	+ 0,5 " "	leben
2 " " "	1,5 " "	+ 1,0 " "	"
Kontrolle: 1 Tier erhält	1,5 ccm Schüttelextr.	+ 3 ccm Normalserum	†
1 " " "	2,0 " "	+ 3 " "	†

Bei sämtlichen Tieren sank die Temperatur in der ersten halben Stunde nach der Injektion der Gemische auf 35° und verblieb in dieser Höhe während der Beobachtungszeit von 4 Stunden.

Der Versuch zeigt, daß 0,5 ccm Immunpferdeserum die doppelte tödliche Dosis des Schüttelextraktes zu neutralisieren vermag, während das Normalpferdeserum selbst in Mengen von 3 ccm ohne Einfluß bleibt.

Im 2. Versuch

wurde die Wirkung des Immunpferdeserums bei Kontrolle mit Normalpferdeserum gegenüber den beiden Extrakten festgestellt. Extraktmenge: die doppelte tödliche Dosis.

2 Tiere erhalten	2 ccm Schüttelextrakt	+ 1 ccm Immun-Pferdeserum	lebt
2 " " "	2 " "	+ 2 " "	†
2 " " "	2 " Extrakt M. F.	+ 1 " "	lebt
2 " " "	2 " "	+ 2 " "	†
2 " " "	2 " Schüttelextrakt	+ 1 " Normalpferdeserum	†
2 " " "	2 " "	+ 2 " "	†
2 " " "	2 " Extrakt M. F.	+ 1 " "	†
2 " " "	2 " "	+ 2 " "	†

Der Versuch ergibt das paradoxe Resultat, daß die beiden mit den höchsten Serumdosen behandelten Tiere starben,

während die Tiere mit niederen Dosen am Leben bleiben. Außerdem sieht man, daß regelmäßige Versuchsreihen, wahrscheinlich infolge wechselnder Empfänglichkeit der Tiere und der nicht sehr hohen Neutralisierungsfähigkeit der Sera, nicht erhalten werden. Ganz ähnliche Resultate sind übrigens auch mit toxischen Extrakten anderer Bakterienarten, wenn dieselben mit den entsprechenden Seren ausgewertet wurden, erhalten, so z. B. mit Meningokokkenserum und Meningokokkenextrakt. Das Normalpferdeserum hat sich in dem Versuche sowohl gegenüber dem Schüttelextrakt wie dem Extrakt Mac Fadyen gegenüber als unwirksam erwiesen. Zu bemerken ist noch, daß die Temperatur derjenigen Tiere, welche 1 ccm Normalpferdeserum erhalten hatten, eine sehr niedere war; sie betrug 33° bzw. 29°. Sämtliche Kontrolltiere starben sehr rasch innerhalb 12 Stunden.

Im 3. Versuch

wurde das Schüttelextrakt gegenüber den betreffenden Seren, die mit den zugehörigen Extrakten hergestellt waren und gegenüber den anderweitig hergestellten Seren ausgewertet. Die verwendete Extrakt-dosis stellte ein dreifaches Multiplum der einfach tödlichen Dosis dar.

2	Tiere	erhalten	2,5 ccm	Schüttelextrakt	+	2 ccm	Serum Sch.	leben
2	"	"	2,5 "	"	+	1 "	"	†
2	"	"	2,5 "	"	+	0,5 "	"	†
2	"	"	2,5 "	"	+	2 "	Serum M. F.	†
2	"	"	2,5 "	"	+	1 "	"	lebt
Kontrolle: 2 Tiere erhalten 2,5 ccm Schüttelextrakt + 2 ccm Normalziegenserum †								

In diesem Versuche vermochten 2 ccm „Serum Sch.“ der Ziege, welche mit Schüttelextrakt behandelt wurde, das Gift zu neutralisieren, während das Serum der Ziege, die mit Extrakt M. F. immunisiert war, hier ein paradoxes Ergebnis zur Folge hatte, indem das Tier mit 2 ccm „Serum M. F.“ starb, während das andere Tier, das 1 ccm erhalten hat, am Leben blieb.

Im 4. Versuch

wurde das Extrakt Mac Fadyen gegenüber dem entsprechenden Serum und gegenüber dem „Serum M. F.“ ausgeprüft. Extraktmenge: dreifach tödliche Dosis.

2	Tiere erhalten	2 ccm	Extrakt M. F.	+	2 ccm	Serum M. F.	leben
2	"	2	"	+	1	"	"
2	"	2	"	+	0,5	"	"
2	"	2	"	+	2	"	Sch.
2	"	2	"	+	1	"	"

In diesem Versuch vermochte also 1 ccm „Serum M. F.“ das homologe Extrakt in dreifach tödlicher Dosis zu neutralisieren, während das heterologe Serum auch bei Verwendung von 2 ccm keine Wirkung ausübte. Auffallend war, daß sowohl das Tier, welches 0,5 ccm „Serum M. F.“ erhalten hatte, wie die beiden anderen Tiere, die mit dem heterologen Serum behandelt wurden, einen sehr rapiden Temperatursturz bis auf 30° und 31° zeigten, während die beiden mit heterologen Serum behandelten Tiere fast normale Temperaturverhältnisse aufwiesen.

Im 5. Versuch

wurden wiederum die beiden Extrakten den beiden Sera gegenübergestellt.

2	Tiere erhalten	2 ccm	Extrakt M. F.	+	1,5 ccm	Serum M. F.	+
2	"	2	"	+	1	"	+
2	"	2	"	+	0,75	"	+
2	"	2	"	+	0,5	"	+
2	"	2	"	+	2	Serum Sch.	leben
2	"	2	"	+	3	"	"
2	"	2	Schüttelextrakt	+	1,5	"	"
2	"	2	"	+	1	"	+
2	"	2	"	+	0,75	"	+
2	"	2	"	+	0,5	"	+
2	"	2	"	+	3	Serum M. F.	leben
2	"	2	"	+	2	"	+
2	"	2	"	+	1	"	leben
2	"	2	Extrakt M. F.	+	3	Normalpferdeser.	+
2	"	2	"	+	2	"	+
2	"	2	"	+	1	"	+
2	"	2	Schüttelextrakt	+	3	"	+
2	"	2	"	+	2	"	+
2	"	2	"	+	1	"	+

Der Versuch zeigt eine geringe neutralisierende Wirkung der Sera bei Benutzung großer Extraktdosen. Das Normalpferdeserum hatte selbst in Dosen von 3 ccm gegenüber der dreifachen tödlichen Dosis keine Wirkung.

Der 6. Versuch

enthält eine Auswertung des Extraktes M. F. gegenüber den beiden genannten Serumpräparaten. Verwendete Extraktmenge: vierfache tödliche Dosis.

2	Tiere erhalten	1	ccm	Extrakt M. F.	+	1,5	ccm	Serum M. F.	leben
2	"	"	1	"	"	1	"	"	†
2	"	"	1	"	"	0,75	"	"	†
2	"	"	1	"	"	0,5	"	"	†
2	"	"	1	"	"	0,75	"	Serum Sch.	†
2	"	"	1	"	"	0,5	"	"	†
2	"	"	1	"	"	0,25	"	"	†
2	"	"	1	"	"	0,15	"	"	†
2	"	"	1	"	"	0,05	"	"	†
2	"	"	0,75	"	"	0,75	"	"	leben
2	"	"	0,75	"	"	0,5	"	"	leben
2	"	"	0,75	"	"	0,5	"	"	†
2	"	"	0,75	"	"	0,25	"	"	†
2	"	"	0,75	"	"	0,1	"	"	†
2	"	"	0,05	"	"	0,05	"	"	†

Der Versuch zeigt, daß 1,5 ccm Serum M. F. die vierfach tödliche Dosis des homologen Extraktes neutralisierte, während das heterologe Serum noch in Dosen von 0,5 ccm die dreifach tödliche Dosis zu binden imstande war.

Der 7. Versuch,

der mit kleinen Dosen Extrakt ausgeführt wurde, war eine Wiederholung des vorletzten Versuches. Extraktmenge: zweifach tödliche Dosis.

2	Tiere erhalten	0,5	ccm	Extrakt M. F.	+	1,5	ccm	Serum M. F.	†
2	"	"	0,5	"	"	1,0	"	"	†
2	"	"	0,5	"	"	0,75	"	"	leben!
2	"	"	0,5	"	"	0,5	"	"	†
2	"	"	0,5	"	"	0,25	"	"	†
2	"	"	0,5	"	"	0,75	"	Serum Sch.	leben
2	"	"	0,5	"	"	0,5	"	"	"
2	"	"	0,5	"	"	0,25	"	"	"
2	"	"	0,5	"	"	0,1	"	"	†
2	"	"	0,5	"	"	0,05	"	"	†

Der 8. Versuch

enthält eine Auswertung eines Serums, von einer frisch eingestellten Ziege gewonnen, welche längere Zeit subkutan bezw. intravenös mit Schüttelextrakt behandelt wurde. Extraktmenge 2—3-fache tödliche Dosis.

2	Tiere erhalten	1,5	ccm	Extrakt Sch.	+	1	ccm	Serum Sch.	leben
2	"	"	1,5	"	"	0,75	"	"	"
2	"	"	1,5	"	"	0,5	"	"	"
2	"	"	1,5	"	"	0,25	"	"	"
2	"	"	1,5	"	"	0,1	"	"	†
Kontrollen: 1 Tier erhält 1,5 ccm Extrakt Sch. + 2 ccm NPfS. †									
	1	"	"	1	"	"	"	"	†
	1	"	"	0,75	"	"	"	"	†
	1	"	"	0,5	"	"	"	"	†
	1	"	"	0,5	"	"	"	"	lebt

Dieser Versuch zeichnet sich durch den regelmäßigen Verlauf aus. 0,25 „Serum Sch.“ haben die 2—3-fache tödliche Dosis des Schüttelextraktes neutralisiert.

Ueberblickt man die gesamten Resultate, so ergibt sich, daß sowohl dem Pferdeserum, wie den beiden Ziegenseren eine gewisse neutralisierende Fähigkeit gegenüber den in Extraktform hergestellten Choleragiftstoffen zukommt, daß aber dieses Vermögen kein besonders hohes ist, und daß namentlich ihre Wirkung sehr starke Unregelmäßigkeiten, die zum Teil auf der verschiedenen Resistenz der Tiere beruhen, aufweist. Von einem Einhalten des Gesetzes der Multipla bezüglich der giftneutralisierenden Kraft der Choleraseren konnten wir uns in unseren vielfachen Versuchen keineswegs überzeugen. Die Versuche zeigen, daß die Heilkraft der Choleraseren gegenüber der experimentellen Choleraergiftung der Meerschweinchen sicher nicht einem Faktor allein zuzuschreiben ist, wie es von mancher Seite geschehen ist, und zwar auch nicht dem antiendotoxischen allein.

Der kurative Wert der Cholerasera.

Der Heilwert unserer verschiedenen Choleraseren wurde ausschließlich gegenüber den lebenden, im Peritoneum des Meerschweinchen sich vermehrenden Vibrionen ausgeprüft. Auf eine Ermittlung der kurativen Wirkung der Sera gegenüber unseren Extrakten haben wir angesichts einer gewissen Beschränkung der uns zu Gebote stehenden Mittel von vornherein verzichtet, zumal es uns ja in erster Linie daran gelegen war, eine experimentelle Basis für eine Serumtherapie zu schaffen, deren Uebertragung auf die Verhältnisse bei der Cholerainfektion des Menschen zum mindesten keine fundamentalen theoretischen Bedenken entgegenstehen. Denn gegen eine Serumtherapie, die sich auf kurative Erfolge bei der Infektion mit extrahierten Giften stützt, kann mit einem gewissen Recht, wie es R. Pfeiffer getan hat, eingewendet werden, daß diese künstlich gewonnenen Gifte nicht denjenigen entsprechen, welche im Organismus der cholerainfizierten Menschen gebildet werden, und daß daher deren Beeinflussung durch das Serum im Tierexperiment noch keine Gewähr leistet für den therapeutischen Erfolg bei der natürlichen Infektion.

Die Menge des benutzten lebenden Infektionsmaterials betrug fast in allen Versuchen ein Vielfaches — je nach der jeweiligen Virulenz der Kultur Drei- bis Vierfaches — der Dosis lethalis minima.

Wir haben diese Versuche in jeder Hinsicht, soweit es uns im Hinblick auf das verfügbare Tiermaterial möglich war, auf breiteste Basis zu stellen gesucht, um, ohne Rücksicht auf Theorien und Hypothesen, ein Verfahren der Serumtherapie experimentell zu ermitteln, welches im Tierversuch sich am besten bewährt.

Zu diesem Zweck war es notwendig, den kurativen Wert der einzelnen Seren bei jedem Serum für sich zu ermitteln und ihre Wirksamkeit bei verschiedener Anwendung zu kontrollieren. Wir sind sodann dazu übergegangen, die Wirkung der verschiedenen Seren in mannigfacher Weise miteinander zu vereinigen, und auf diesem Wege fortschreitend sind wir nach und nach zu einem kombinierten Verfahren gelangt, das sich in unseren Experimenten so erfolgreich und namentlich unschädlich erwies, daß wir die Serumtherapie auch für die menschliche Choleraerkrankung empfehlen zu können uns berechtigt hielten.

Zum Schlusse bemerken wir, daß die Seruminjektion in den meisten Versuchen und auch da, wo spezielle Angaben nicht gemacht sind, erst vorgenommen wurde, nachdem die mikroskopische Untersuchung des Peritonealexsudates des infizierten Tieres eine starke Vermehrung der eingeführten Vibrionen ergeben hatte. Die Temperaturen der Tiere wurden sowohl vor der Infektion, wie dreimal in stündlichen Intervallen nach vollzogener Infektion gemessen.

I. Die Heilwirkung des Pferdeserums.

1. Experiment.

Heilversuche mit Pferdeserum bei intraperitonealer Infektion. Peritoneale Seruminjektion eine Stunde nach der Infektion. Kulturmenge $\frac{1}{8}$ Oese.

1,0 ccm Immunpferdeser.	Granula, keine bewegl. Bakt.	Leukocytose, lebt
1,5 " "	" " " " " "	" " " " " "
2,0 " "	bewegliche Vibrionen " "	† mikrosk. nichts, Kultur positiv

Kontrolle:

3,0 ccm Normalpferdeser. Granula, einige unbew. Vibr. † dgl.

Es ist besonders darauf hinzuweisen, daß das Tier, welches 2 ccm Immunserum bekommen hatte, mit vibrionenhaltigem Peritonealexsudat einging und daß bei Anwendung von Normalpferdeserum in großen Dosen eine starke lytische Wirkung zutage trat, ohne daß das Tier dadurch gerettet wurde.

2. Experiment.

In diesem Versuch wurde eine weitere Auswertung des Immunpferdeserums vorgenommen.

Versuchsordnung wie bei 1.

0,5 ccm Immunpferdeser.	Granula.	keine Vibrionen	† mikroskop. und kulturell nichts
0,5 "	"	"	† dgl.
1,0 "	"	unbewegl. "	lebt
1,0 "	"	keine "	"
1,0 "	"	unbewegl. "	"

Kontrolle:

2,0 ccm Normalpferdeser. + 0,2 ccm bakteriz. Kan.-Ser. massenhaft Vibr. †

Der Versuch zeigt, daß 1 ccm Immunserum als Heildosis die Tiere sicher am Leben erhält. Dem Kontrolltier wurde zusammen mit dem Normalserum eine kleine Dosis bakterizides Kaninchenserum deswegen eingeführt, um zu erfahren, ob ersteres die Gifte der bereits aufgelösten Vibrionen zu neutralisieren und eventuell die Tiere am Leben zu erhalten vermag. Dabei mußte die Tatsache festgestellt werden, daß, entgegen der Erwartung, das Peritonealexsudat dieses Tieres im Gegensatz zu dem Kontrolltier des vorigen Experimentes, das nur mit Normalserum allein behandelt wurde, zahlreiche bewegliche Vibrionen enthielt.

3. Experiment.

In diesem Versuche wurde die Wirkung des Normalpferdeserums mit derjenigen des Immunpferdeserums verglichen.

Versuchsordnung wie oben.

1,5 ccm Normalpferdeser.	Granula,	keine Vibrionen	† mikroskop. nichts, Kultur positiv
1,5 "	"	"	† mikroskopisch und kulturell Vibr.
2,0 "	"	"	lebt
2,0 "	"	"	"
1,5 "	Immunpferdeser.	"	† mikroskop. nichts, Kultur positiv
1,5 "	"	"	† dgl.
2,0 "	"	"	lebt
2,0 "	"	"	† mikroskop. nichts, Kultur positiv

Der Versuch enthält das paradoxe Ergebnis, daß 2 ccm Normalserum das infizierte Tier am Leben erhielt, während von den beiden mit den gleichen Dosen Immunserum behandelten Tieren ein Tier an der Infektion zugrunde ging. — Aus der mikroskopischen Untersuchung der Peritonealflüssigkeit der betreffenden Tiere ließ sich mit Sicherheit die schon bekannte Tatsache feststellen, daß auch das Normalpferdeserum in großen Dosen bakteriolytische Wirkungen auszuüben vermag; seine Heilwirkung gegenüber der Infektion aber dürfte wohl nur eine scheinbare sein und bei den vielleicht etwas resistenteren Tieren entweder durch Beförderung der Phagocytose oder durch verlangsamte Resorption der Gifte bedingt sein, ein Umstand, der bereits von Pfeiffer hervorgehoben wurde.

Das 4. Experiment

enthält eine weitere Auswertung des Immunpferdeserums.

Versuchsordnung wie oben.

0,1 ccm Immunpferdeserum	†	mikrosk. u. kulturell nichts
0,2 „	†	„ „ „ „
0,5 „	†	„ „ „ „
1 „	lebt	
Kontrolle: 2 „ Normalpferdeserum	†.	

Das 5. Experiment

bringt eine letzte Auswertung.

Versuchsordnung wie oben.

0,2 ccm Immunpferdeserum	†
0,5 „	†
0,7 „	†
1 „	lebt.

Als Gesamtergebnis geht aus dieser Serie von Versuchen hervor, daß das Choleraferdeserum in Dosen von etwa 1 ccm gegenüber einem Multiplum der tödlichen Dosis lebender Bakterien lebensrettend wirken kann, daß aber diese Wirkung durchaus keine konstante ist und daß Fälle vorkommen, wo, vielleicht durch eine gewisse gesteigerte individuelle Empfänglichkeit der Meerschweinchen bedingt, auch große Dosen ohne Einfluß bleiben. Die scheinbar paradoxen Ergebnisse und die nur geringfügigen Unterschiede des Immunserums gegenüber dem normalen Serum sind auf die Versuchsordnung

zurückzuführen. Das antiendotoxische Serum wird von den Vibrionen zwar adsorbiert, aber nicht fest verankert, solange es die Endotoxine nicht in freiem Zustande trifft.

In einer zweiten Serie von Experimenten wurde die Wirkung des Immunpferdeserums bei verschiedener Anwendung bezw. bei einer Kombination mit einem bakteriziden Serum, welches von anderen Tierarten gewonnen war, ermittelt.

Das 1. Experiment

sollte Auskunft darüber geben, ob die experimentell gefundene lebensrettende Dosis auch bei subkutaner Anwendung das Tier am Leben erhält, wenn gleichzeitig kleine Serumdosen, die zur Auflösung der Vibrionen genügen, intraperitoneal miteinverleibt werden.

Intraperitoneale Infektion mit $\frac{1}{3}$ Oese. 1 Stunde darauf kleine Mengen Immunpferdeserum intraperitoneal und große Mengen subkutan.

0,01 ccm I.-Pf.-Ser. perit.,	1 ccm subk.	Granula, keine Vibr.	† mikroskop. u. kulturell nichts
0,01 „ „ „ 1 „ „ „ „ „			† Befund wie oben
0,05 „ „ „ 1 „ „ „ „ „			† Befund wie oben
0,05 „ „ „ 1 „ „ „ „ „			† Befund wie oben.

Kontrollen:

0,05 ccm N.-Pf.-Ser. perit.,	2 ccm subk.	Granula, bew. Vibr.	† mikr. u. kulturell Vibr.
------------------------------	-------------	---------------------	----------------------------

Der Versuch lehrt, daß trotz der vollständigen Auflösung der Bakterien auf subkutanem Wege eine Heilwirkung des Serums nicht zu erreichen ist.

Im 2. Experiment

wurde den Tieren 1 ccm Immunpferdeserum sofort nach der Infektion eingespritzt und 0,05 ccm Serum intraperitoneal nach 1 Stunde. Erfolg: Granula, keine Vibrionen, Tiere am Leben.

Das 3. Experiment

bezweckte die Wirkung festzustellen, die eine Kombination von bakterizidem Kaninchenserum in geringen Dosen und

Normalpferdeserum in großen Dosen bei gleichzeitiger intraperitonealer Einführung 1 Stunde nach stattgefundenener Infektion zur Folge hat.

Versuchsordnung: Intraperitoneale Infektion mit $\frac{1}{3}$ Oese. Nach einer Stunde kleine Dosen spezifisches Kaninchenserum und große Dosen Normalpferdeserum intraperitoneal.

0,002 ccm spez. Kan.-Ser.	+ 1 ccm NPfS.	Granula, keine Vib.	† Kulturen positiv.
0,002 „ „ „	+ 1 „ „ „	„ „ „	† Kulturen positiv.
0,002 „ „ „	+ 1 „ „ „	„ „ „	† Kulturen positiv.
0,002 „ „ „	+ 1 „ „ „	„ „ „	† Kulturen positiv.

Kontrolle: 2 ccm NPfS. Granula u. bewegliche Vibr. † Kulturen positiv.

Die mit bakterizidem Serum behandelten Tiere dieser Reihe gingen außerordentlich rasch zugrunde, viel eher wie jene Tiere, die nur Normalserum allein oder die Kulturmenge allein erhalten hatten. Diese Erscheinung wird wohl auf die Wirkung des bakteriziden Serums zurückzuführen sein, das in kurzer Zeit eine große Menge Gift durch Auflösung der Bakterien in Freiheit setzt, ohne daß gleichzeitig neutralisierende Substanzen zugegen sind.

Im 4. Experiment

sollte die Wirkung großer Dosen des Immunpferdeserums auf die aufgelösten Vibrionengifte festgestellt werden. Zu diesem Zwecke wurde den Tieren 1 Stunde nach der Infektion kleine Dosen Pferdeserum intraperitoneal eingeführt und nach erfolgter Auflösung der Vibrionen und eingetretenem Abfall der Temperatur große Dosen des Serums ebenfalls peritoneal appliziert.

0,01 ccm I.-Pf.-Ser., 1 Std. n. Inf.	2 ccm I.-Pf.-Ser. bei Temp.-Abfall	lebt
0,01 „ „ „ 1 „ „ „	2 „ „ „ „ „ „	„
Kontrolle: 0,01 N.Pf.-Ser. + 2 ccm N.Pf.-Ser.	† mikroskopisch u. kulturell positiv.	
0,01 „ „ + 2 „ „	† mikroskopisch u. kulturell positiv.	

Es ergab sich also, daß bei dieser Versuchsordnung große Dosen des Choleraferdeserums, auch wenn sie ziemlich

lange nach der Infektion eingeführt werden, noch lebensrettend wirken können, offenbar infolge ihrer antiendotoxischen Wirksamkeit.

Im 5. Experiment

wurden eine Stunde nach der Infektion intraperitoneal kleine Dosen bakteriziden Kaninchenserums einverleibt und bei Abfall der Temperatur große Dosen Immunpferdeserum subkutan.

0,01	ccm spez. K.-Ser., 1 Std. n. Inf. 1 ccm IPfS. sub. b. Temp.-Abfall	†	mikrosk. nichts. Kultur positiv.
0,001	„ „ „ 1 „ „ „ 1 „ „ „ „ „	†	Befund wie oben.
0,01	„ „ „ 1 „ „ „ 1 „ „ „ „ „	†	Befund wie oben.
0,01	„ „ „ 1 „ „ „ 1 „ „ „ „ „	†	Befund wie oben.
Kontrolle: 0,01	ccm spez. Kan.-Serum + 2 ccm Normalpferdeserum	†	mikrosk. nichts. Kultur positiv.
0,01	„ „ „ + 2 ccm Normalpferdeserum	†	Befund wie oben.

Wie man aus diesem Versuche sieht, ist auf subkutanem Wege eine Heilwirkung des Pferdeserums in der angegebenen Anwendungsweise auch mit großen Dosen nicht zu erreichen.

Diese ganze Gruppe von Experimenten lehrt, daß keine der hier angewendeten Kombinationen, die sowohl mit dem Serum für sich, wie in Verbindung mit einem artfremden bakteriziden Serum vorgenommen wurden, einen hohen und sicheren Heil-effekt zu erzielen vermochten, und daß auf subkutanem Wege viel geringere Wirkungen zu erzielen waren, auch bei Anwendung verhältnismäßig großer Dosen.

II. Die Heilwirkung des bakteriziden Kaninchenserums.

1. Experiment (mit kleinen Dosen).

Intraperitoneale Infektion und 1 Stunde darauf intraperitoneale Einführung des Serums. Kulturmenge $\frac{1}{3}$ Oese.

0,01	ccm spez. Kaninchenserum. Granula, keine Vibr.	†	steril
0,01	„ „ „ „ „ „	†	„
0,05	„ „ „ „ „ „	†	„
0,05	„ „ „ „ „ „	†	„
Kontrolle: 0,5	Normalkaninchenser., zahlr. bewegl. Vibr.	†	mikrosk. u. kult. Vibr.

2. Experiment (mit großen Dosen).

1	ccm spez. Kaninchenserum.	Granula,	keine Vibr.	†	steril
1	”	”	”	†	”
2	”	”	”	†	”
2	”	”	”	†	”
Kontrolle: 2 ccm Normalkaninchenser., zahlr. bewegl. Vibr.				†	mikrosk. u. kult. Vibr.
2	”	”	”	†	Befund wie oben

Zu bemerken ist, daß die Tiere dieser beiden Reihen außerordentlich rasch zugrunde gingen, viel früher als die Kontrolltiere. Die Versuche besagen, daß das bakterizide Kaninchenserum trotz seines starken Auflösungsvermögens, das sich sowohl durch den mikroskopischen Befund in der Peritonealflüssigkeit des lebenden Tieres, wie durch das mikroskopisch-kulturelle Ergebnis bei der Sektion dokumentierte, die Tiere gegenüber den in Lösung gebrachten Giften nicht zu schützen imstande war. Weiterhin geht daraus hervor, daß dem normalen Kaninchenserum im Gegensatz zum normalen Pferdeserum keinerlei bakteriolytische Fähigkeiten zukommen.

Ueber die Wirkung des bakteriziden Kaninchenserums bei variierter oder kombinierter Anwendung geben die weiteren Versuche Aufschluß.

3. Experiment.

In diesem Versuche wurden den Tieren eine Stunde nach der Infektion kleine Dosen bakteriziden Kaninchenserums intraperitoneal und große Dosen subkutan einverleibt.

0,01 spez. Kan.-Ser. perit.,	1 ccm subk.,	Gran.,	kein. bewegl. Vibr.	†	mikroskop. nichts, Kult. positiv
0,01 ”	”	”	1 ”	†	Befund wie oben
0,01 ”	”	”	2 ”	†	Befund wie oben
0,01 ”	”	”	2 ”	†	Befund wie oben

Kontrolle :

0,05 Normal-Kan.-Ser. perit.	2 ccm subk.,	zahlr. bewegl. Vibr.	†	mikroskop. u. kulturell Vibr.
------------------------------	--------------	----------------------	---	-------------------------------

4. Experiment.

1 ccm spez. Kan.-Ser. sofort subk.,	nach 1 Std. 0,05 intraperit.	†	mikroskop. u. kulturell nichts
-------------------------------------	------------------------------	---	--------------------------------

Im 5. Experiment

wurde eine Kombination von spezifischem Kaninchenserum in kleinen Dosen und normalem Kaninchenserum in großen Dosen bei peritonealer Einverleibung eine Stunde nach der Infektion ausgeprüft.

0,002 spez. KS. + 1 NormKS., Granula, keine Vibr. † mikroskop. u.
kulturell Vibr.

0,002 „ „ + 2 „ „ Granula, einige unbeweg. Vibr. † mikroskop. u.
kulturell Vibr.

Kontrolle: 3 ccm Normal-Kan.-Ser. † mikroskopisch u. kulturell Vibrionen

Auch hier gingen die mit spezifischem Serum behandelten Tiere viel rascher ein wie die Kontrolltiere.

Im 6. Experiment

wurden den Tieren sofort nach der Infektion große Dosen spez. Kaninchenserums subkutan eingeführt und eine Stunde darauf kleine Dosen intraperitoneal.

1 spez. KS. sof. subk., 0,05 perit. n. 1 St., zahlr. bewegl. Vibr. † mikroskop. u.
kulturell Vibr.

1 „ „ „ „ 0,05 „ „ 1 „ „ „ „ † Befund wie
oben

2 „ „ „ „ 0,05 „ „ 1 „ „ „ „ † Befund wie
oben

2 „ „ „ „ 0,05 „ „ 1 „ „ „ „ † Befund wie
oben

Dieses Experiment zeigt, daß es bei subkutaner Anwendung des Serums innerhalb der nächsten 2—4 Stunden nicht zu einer Auflösung der Vibrionen kommt; demgemäß leben diese Tiere länger als diejenigen, bei welchen durch eine andere Anwendungsart des Serums das bakteriolytische Phänomen in ausgesprochener Weise in Erscheinung tritt.

Zusammenfassend ergibt diese Gruppe der Versuche, daß das bakterizide Kaninchenserum trotz seines verhältnismäßig hohen bakteriolytischen Vermögens die freigewordenen Gifte der Vibrionen in keiner Weise zu beeinflussen imstande ist.

III. Die Heilwirkung der Sera von Ziegen, welche mit Extrakt nach Mac Fadyen und mit Schüttel-extrakt vorbehandelt wurden.

1. Experiment.

Intraperitoneale Infektion und eine Stunde darauf intraperitoneale Einführung des Serums. Kulturmenge $\frac{1}{3}$ Oese.

1	ccm Serum Sch.	†	mikroskopisch und kulturell	Vibrionen
1,5	" " "	†	" "	nichts, kulturell Vibrionen
2	" " "		lebt	
1	" Serum M.F.	†	mikroskopisch nichts, kulturell	Vibrionen
1,5	" " "		lebt	
2	" " "	†	mikroskopisch nichts, kulturell	Vibrionen

Kontrolle: 2 ccm Normal-Z.-Ser. † mikroskopisch und kulturell Vibrionen.

2. Experiment.

Dasselbe Serum wie im 1. Experiment, aber nach weiterer dreimonatlicher intravenöser Behandlung der Tiere.

Versuchsordnung wie bei 1.

	0,1 ccm Serum Sch.	†
	0,2 " " "	lebt
	0,5 " " "	†
	0,75 " " "	lebt
	1 " " "	†

Kontrolle: 1 ccm Normal-Ziegen Serum †
 2 " " " †

3. Experiment (das gleiche Serum wie im vorigen Versuch).

Versuchsordnung wie bei 1.

0,1 ccm Serum Sch.	†	mikroskopisch nichts, Kulturen positiv
0,2 " " "		lebt
0,5 " " "		"
0,75 " " "		"
1 " " "		"

Im 4. Experiment (Serum wie bei 2)

wurde dem Ziegen Serum das Immunpferdeserum entgegengestellt.

0,5 ccm Immunpferdeserum	†
0,2 " "	†
0,1 " "	†
0,5 " Serum Sch.	lebt
0,2 " " "	†
0,1 " " "	lebt

Uebersieht man die angeführten Versuchsreihen, so ergibt sich daraus, daß, trotz einer gewissen Inkonstanz der Wirkungen des Ziegen Serums, demselben doch immerhin annähernd die gleiche Heilwirkung zugesprochen werden darf, wie dem Pferdeserum. Immerhin waren diese Ergebnisse nicht dazu angetan, um lediglich auf die nach Besredka und Mac Fadyen hergestellten antitoxischen Sera allein

eine erfolgreiche Therapie aufzubauen. Wir gingen daher in weiteren Versuchen dazu über, eine Kombination der auf verschiedene Weise hergestellten Cholerasera, die bei verschiedenen Tierarten gewonnen wurden, auszuprüfen.

Diese Experimente sollen im folgenden dargelegt werden.

IV. Die Heilwirkung der kombinierten Choleraserapräparate.

Den Tieren dieser Gruppe wurde meistens $\frac{1}{3}$ Oese Cholera-
kultur — entsprechend der vierfach tödlichen Dosis — intra-
peritoneal eingeführt und eine Stunde darauf ein Gemisch
des Choleraferdeserums und „Choleraziegenserums Sch.“ zu
gleichen Teilen ebenfalls intraperitoneal appliziert.

1. Experiment.

0,1 ccm Immunferdeserum	+	0,1 ccm Serum Sch.	lebt
0,2 „ „	+	0,2 „ „	„
0,5 „ „	+	0,5 „ „	„
0,7 „ „	+	0,7 „ „	„
1,0 „ „	+	1,0 „ „	„
Kontrollen:			
0,5 ccm Immunferdeserum			†
1,0 „ „			lebt
0,5 „ Serum Sch.			†
0,75 „ „			lebt

2. Experiment.

0,05 ccm Immunferdeser.	+	0,05 ccm Serum Sch.	lebt
0,05 „ „	+	0,05 „ „	„
0,1 „ „	+	0,1 „ „	„
0,1 „ „	+	0,1 „ „	† mikroskop. nichts, Kultur positiv
0,2 „ „	+	0,2 „ „	lebt
0,2 „ „	+	0,2 „ „	„
0,5 „ „	+	0,5 „ „	„ (?)
0,5 „ „	+	0,5 „ „	„
Kontrollen:			
0,7 ccm Immunferdeserum			†
1,0 „ „			lebt
0,25 „ Serum Sch.			†
0,5 „ „			lebt
0,75 „ „			„
0,75 „ „			„

3. Experiment.

0,1 ccm Immunferdeserum	+	0,1 ccm Serum	Sch.	lebt
0,1	+	0,1	„	„
0,5	+	0,05	„	„
0,5	+	0,05	„	„
0,025	+	0,025	„	„
0,025	+	0,025	„	„
0,01	+	0,01	„	„
0,01	+	0,01	„	„

Kontrollen die gleichen wie beim 2. Experiment.

4. Experiment.

0,5 ccm Immunferdeserum	+	0,5 ccm Serum	Sch.	lebt
0,5	+	0,5	„	„
0,2	+	0,2	„	„
0,2	+	0,2	„	„
0,1	+	0,1	„	„
0,1	+	0,1	„	„
0,05	+	0,05	„	†
0,05	+	0,05	„	†
0,01	+	0,01	„	†
0,01	+	0,01	„	†
0,005	+	0,005	„	†
0,005	+	0,005	„	†

Kontrollen: 0,2 ccm Immunferdeserum †
 0,5 „ „ „ †
 0,1 „ Serum Sch. †
 0,2 „ „ „ lebt
 0,5 „ „ „ „

Das 5. Experiment nahm folgenden Verlauf:

0,5 ccm Immunferdeserum	+	0,5 ccm Serum	Sch.	lebt
0,5	+	0,5	„	„
0,25	+	0,25	„	„
0,25	+	0,25	„	„
0,1	+	0,1	„	„
0,1	+	0,1	„	„
0,05	+	0,05	„	„
0,05	+	0,05	„	„
0,01	+	0,01	„	„
0,01	+	0,01	„	„
0,005	+	0,005	„	„
0,005	+	0,005	„	„

Kontrollen: 0,5 ccm Immunferdeserum †
 0,25 „ Serum Sch. †
 0,4 „ „ „ lebt
 1/4 Oese — †

6. Experiment.

Beim 6. und letzten Experiment wurde das Serum einer Ziege benutzt, die frisch eingestellt und längere Zeit intravenös mit Schüttelextrakt behandelt worden war. Intraperitoneale Infektion mit $\frac{1}{2}$ Oese und 1 Stunde darauf intraperitoneale Einführung des Serungemisches.

0,5	ccm Immunpferdeserum	+	0,5	ccm Ziegenserum	Sch.	†	steril
0,5	"	"	+ 0,5	"	"	"	lebt
0,25	"	"	+ 0,25	"	"	"	"
0,25	"	"	+ 0,25	"	"	"	"
0,1	"	"	+ 0,1	"	"	"	"
0,1	"	"	+ 0,1	"	"	"	"
0,05	"	"	+ 0,05	"	"	"	"
0,05	"	"	+ 0,05	"	"	"	"
0,01	"	"	+ 0,01	"	"	"	†
0,01	"	"	+ 0,01	"	"	"	†
Kontrollen:							
0,5	ccm Immunpferdeserum	†					
0,25	" Ziegenserum	Sch.	†				
$\frac{1}{6}$	Oese		†				
$\frac{1}{10}$	"		†				
$\frac{1}{15}$	"		†				
$\frac{1}{20}$	"		lebt				

Wie die Versuche dieser letzten Reihe zeigen, wurde der kurative Effekt der beiden Seren bei kombinierter Anwendung in auffallender Weise verstärkt. Während das Pferdeserum allein gegenüber der tödlichen Infektion mit lebenden Cholera-vibrionen in den meisten Fällen nur in Dosen von 1 ccm Heilwirkungen entfaltete, und das Ziegenserum, das allerdings schon bei geringeren Dosen die gleiche Beeinflussung des Infektionsprozesses erkennen ließ, von erheblicher Inkonstanz in seiner Wirkung war, gelang es mit verhältnismäßig kleinen Dosen eines Gemisches beider Seren die infizierten Tiere auch dann, wenn sie schon deutliche Vergiftungssymptome darboten, am Leben zu erhalten. Dieses Ergebnis entsprach den Voraussetzungen, von welchen man bei Anstellung der Versuche ausging.

Gestützt auf diese experimentelle Basis und auf Grund der Folgerungen, die wir im weiteren aus dem Ausfall unserer Versuche im Tierexperiment ziehen durften, haben wir unsere Seren in der von uns ermittelten wirksamen Kombination zur Anwendung beim cholera-kranken Menschen empfohlen und sind nun durch die Güte des Herrn Prof. Zabolotny, Direktor des kaiserlichen Institutes für experimentelle Medizin

in St. Petersburg, und des Herrn Dr. Schurupoff, Chef des Antipestlaboratoriums in Kronstadt, die unser Serum teils bei der letzten und zum Teil bei der gegenwärtigen Cholera-epidemie in Rußland angewendet haben, in der Lage, über folgende Resultate zu berichten.

Die Serumtherapie der Cholera asiatica.

Herr Prof. Zabolotny berichtet uns, daß in 6 von 8 Fällen, bei welchen unsere Seren in der von uns angegebenen Kombination angewendet wurden, sehr günstige allgemeine Besserung erzielt worden ist und fügt hinzu, daß unter dem Einfluß des Serums die kardialen Symptome schwinden.

Herr Dr. Stühlern, Arzt am städtischen Obuchow-krankenhaus in St. Petersburg, dem unser Serum durch Herrn Dr. Schurupoff überwiesen wurde, berichtet uns, daß durch die Injektion unseres Serums unbedingt gewisse therapeutische Effekte ausgelöst werden. Von 7 Cholerakranken, die mit unserem Serum behandelt wurden, haben alle das Stadium *algidum* überlebt, 4 sind schon augenblicklich geheilt, 1 Fall ist gestorben an einer metastatischen Embolie der Art. *fossae Sylvii*, 1 Fall macht augenblicklich das Stadium eines schweren komatösen Typhoids mit Anurie durch und bei einem Fall ist die Prognose noch dubiös, da er eine leichte Cholerakachexie durchmacht.

In einem zweiten Berichte teilte uns Herr Dr. Stühlern mit, daß die erwähnten mit unserem Serum behandelten 6 Fälle bereits geheilt entlassen sind, und daß sich unser Serum auch bei einer Anzahl anderer Fälle gut bewährt habe, im ganzen bei 14 Fällen schwerer asiatischer Cholera.

Wir werden über die Resultate eingehender berichten, sobald das klinische Material vollständig vorliegt.

Wie man sieht, sind mit unserem Serum unverkennbare therapeutische Erfolge bei Behandlung der Cholera asiatica erzielt worden, namentlich aber hat sich das Serum als vollkommen unschädlich erwiesen.

Zusammenfassung.

1) Die durch wenige intravenöse Injektionen mittelst Choleravibrionen gewonnenen bakteriolytischen oder rein bak-

teriziden Cholerasera entfalten den geringsten Heileffekt, selbst wenn sie hohe lytische und agglutinierende Titres aufweisen.

2) Die größte Heilkraft im Tierversuch besitzen Sera, die durch möglichst langdauernde Immunisierung mit Cholera-bakterien erhalten sind, und zwar dann, wenn die Sera verschiedener Tierarten gemischt angewandt und von solchen Tieren gewonnen werden, die auf verschiedene oben näher beschriebene Weise vorbehandelt sind.

3) In solchen Cholerasera ist eine erhebliche Quote von Antiendotoxinen enthalten. Die Auswertung der antiendotoxischen Fähigkeiten eines Serums läßt sich nur mit großen Schwierigkeiten durchführen. Das ist begründet in der verhältnismäßig geringen Neutralisationskraft der Sera und in der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der Tiere gegenüber den Choleragiften.

4) Das Gesetz der Multipla gilt nicht für die Antiendotoxine des Choleraserums.

5) Die Einverleibung von relativ großen Mengen bakteriziden Serums ist für die mit experimenteller Choleraperitonitis behafteten Tiere unschädlich, wenn gleichzeitig erhebliche Mengen antiendotoxischer Substanzen verabreicht werden.

6) Die Serumtherapie des Cholerakranken ist unschädlich, sobald man nicht nur rein bakterizide Sera, sondern solche mit einem gewissen Antiendotoxingehalt benutzt. Im Gegensatz zu der weit verbreiteten Auffassung, nach der infolge der Bakteriolyse eine Ueberschwemmung des Organismus mit Endotoxinen erfolgt, wurde konstatiert, daß unsere Sera, wie die in Rußland hergestellten, beim cholerakranken Menschen auch in sehr großen Dosen vollkommen unschädlich waren.

7) Zur Erreichung von therapeutischen Erfolgen müssen erhebliche Mengen von Serum benutzt werden.

8) Für die Serumtherapie können nur solche Sera verwendet werden, die durch möglichst langdauernde Immunisierung von verschiedenen Tieren und Tierarten gewonnen sind, und zwar mittelst subkutaner und intravenöser Einspritzung von lebenden und abgetöteten Choleravibrionen und von Endotoxinen, sei es in extrahierter oder nicht extrahierter Form.

Vorliegende Arbeit ist auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Kolle entstanden und ausgeführt worden.

Literatur.

- Koch, R., Deutsche med. Wochenschr., 1890.
— Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 3 u. 14.
— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14.
Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 11, 14, 16, 17, 18, 20.
Klebs, Centralbl. der Schweiz. Aerzte, 1885, No. 13.
Brieger und Fränkel, Berlin. klin. Wochenschr., 1890, No. 11 u. 12.
Petri, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 6, 1890.
Wassermann, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14.
Wesbrook, Annales de l'Institut Pasteur, 1894.
Hüppe, Deutsche med. Wochenschr., 1891.
Scholl, Berlin. klin. Wochenschr., 1890.
Gruber und Wiener, Arch. f. Hyg., Bd. 15.
Centani, Deutsche med. Wochenschr., 1886.
Gamaleia, Arch. de Med. expérim., 1892.
Issaëff und Kolle, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16 u. 18.
Klemperer, Berlin. klin. Wochenschr., No. 32.
— Zeitschr. f. klin. Med., 1894.
Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1898.
Metchnikoff, Roux et Salimbeni, Annales de l'Institut Pasteur, 1896, No. 5.
Hammerl, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 18.
Emmerich und Tsuboi, Hyg. Rundschau, 1893.
Kolle, W., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16 u. 18.
— Centralbl. f. Bakt., Bd. 19.
— und Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44.
Issaëff, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16.
Zenthöfer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16.
Hahn, M., Münch. med. Wochenschr., 1906.
Ransom, Deutsche med. Wochenschr., 1905.
Mac Fadyen, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 31, 32, 33, 34, 40, 41, 42, 43.
Brau und Denier, Annales de l'Institut Pasteur, 1906.
Besredka, ebenda, 1902, 1906.
Salimbeni, ebenda, 1908.
Kraus, R., und Pribram, E., Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, Heft 1 u. 2.
— und Prantschoff, ebenda, Bd. 41, Heft 3 u. 4.
— und Russ, ebenda, Bd. 55, Heft 3, 4 u. 5.
Pfeiffer, R., und Friedberger, E., Centralbl. f. Bakt., Bd. 47.
Pfeiffer und Kolle, W., Deutsche med. Wochenschr., 1896.
Pfeiffer, Kolle und Kraus, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, Referate, Beiheft.
-

Nachdruck verboten.

[Aus dem klinischen Laboratorium des Kgl. Serafimerlazarets,
Stockholm.]

Ueber verschiedene Modifikationen der Wassermannschen Reaktion.

Von **H. C. Jacobaeus** und **E. Louis Backman**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Oktober 1909.)

Die umständliche Technik, mit der die Ausführung der Wassermannschen Serumreaktion auf Syphilis verbunden ist, hat die ganz natürliche Folge gehabt, daß man auf verschiedene Weise Mittel und Methoden zu finden versucht hat, dieselbe zu vereinfachen. Die fragliche Reaktion arbeitet bekanntlich mit drei relativ konstanten Größen, nämlich dem Extrakt, dem Kaninchenambozeptor und dem Meerschweinchenkomplement; die variable Größe der Reaktion dagegen besteht aus dem inaktivierten Menschenserum. Dieses letztere führt seinerseits dem reagierenden System wenigstens zwei variable Komponenten zu, nämlich den natürlichen Ambozeptor und außerdem eventuell in dem Serum vorkommende hämolysenhemmende Substanzen. Es läßt sich denken, daß ein sehr hoher Grad von natürlichem Ambozeptor, z. B. bei einemluetischen Serum, zu einer weniger stark positiven, eventuell vollständig negativen Wassermannschen Reaktion führt, als es der Fall sein würde, wenn das Serum einen sehr niedrigen Ambozeptorgehalt hätte. Indessen dürfte doch in Wirklichkeit die letztgenannte Eventualität betreffs des negativen oder positiven Ausfalls der Wassermannschen Reaktion, wie weiter unten gezeigt werden wird, von ziemlich untergeordneter Bedeutung sein. Eine um so größere muß dagegen dem eventuellen Vorkommen hämolysenhemmender Körper zugeschrieben werden.

Die hämolytische Reaktion wird durch das Zusammenwirken einerseits des bei allen derartigen Reaktionen wahrscheinlich identischen Komplements und andererseits des für die Auflösung der Blutkörperchen jeder einzelnen Tierart spezifischen Ambozeptors erhalten. Normalerweise enthält das menschliche Serum Komplemente, außerdem aber auch eine ganze Reihe verschiedener Ambozeptoren, unter anderem gegenüber Schafblut-

körperchen. Daher zeigt auch bereits normales Menschenserum ein hämolytisches Vermögen gegenüber Blutkörperchen, beispielsweise vom Schaf. Dieser Umstand ist es, der den von verschiedenen Seiten gemachten Versuchen, die Wassermannsche Reaktion zu vereinfachen, zugrunde liegt. Die wichtigsten Vorschläge zur Vereinfachung der genannten Reaktion sind von Bauer und Stern ausgegangen.

Bei Bauers Methode besteht die Vereinfachung in der Ausschließung des Kaninchenambozeptors, weshalb man also bei Anwendung derselben mit inaktivem Serum arbeitet. Stern dagegen wendet bei seiner Methode aktives Serum an, schließt aber statt dessen das Meerschweinchenkomplement aus. Hierzu kommt, daß Stern die Menge Extrakt im Vergleich mit der bei der ursprünglichen Reaktion gebräuchlichen verändert hat. Ueber diese beiden Modifikationen der Wassermannschen Reaktion möchten wir in vorliegender Arbeit berichten, und zwar mit besonderer Rücksicht auf ihre Bedeutung als Vereinfachungen der fraglichen Originalreaktion, ihre klinische Spezifität für die Syphilis und endlich die Ursachen, die bei der einen oder anderen Gelegenheit ihren negativen oder positiven Ausfall bedingen.

Andere Modifikationen, wie sie von Hecht und Tschernogubow vorgeschlagen worden sind, welche Forscher in der Vereinfachung der Wassermannschen Reaktion noch weiter gehen, indem sie sich nur der normalen, hämolytischen Eigenschaften des Menschenserums bedienen, haben wir nicht geprüft. Ihr Wert und ihre Anwendbarkeit, vor allem ihre klinische Spezifität im Vergleich mit der ursprünglichen Wassermannschen Reaktion, dürfte jedoch aus der folgenden Untersuchung ohne weiteres hervorgehen.

Es dürfte klar sein, daß der Wert dieser Modifikationen der genannten Reaktion in erster Linie von dem Vorkommen von Komplement und Ambozeptor im Menschenserum abhängen muß. Es ist nämlich ohne weiteres einzusehen, daß positive Reaktion erhalten werden muß, wenn normales Komplement fehlt (Stern, Hecht, Tschernogubow), sowie auch, wenn normaler Ambozeptor nicht vorhanden ist (Bauer, Hecht, Tschernogubow). Es gilt daher vor allem, sich Erfahrung darüber zu verschaffen, inwiefern derartige Fälle bei nicht-syphilitischen Personen eintreffen können. Wir haben deshalb

bei unseren Experimenten das Hauptgewicht nicht darauf gelegt, Bauers und Sterns Reaktionen in möglichst vielen Krankheiten und möglichst vielen Fällen der einzelnen Krankheiten zu prüfen, sondern wir haben es auch als besonders wichtig angesehen, in jedem einzelnen Fall auch den Gehalt des Serums an Komplement und Ambozeptor zu prüfen.

Wir wollen indessen schon hier darauf hinweisen, daß der positive Ausfall eines Hämolyseversuches, d. h. keine Hämolyse mit aktivem Serum allein oder mit solchem nach Zusatz von artfremdem Komplement oder Ambozeptor, nicht mit Notwendigkeit zu bedeuten braucht, daß ein derartiges Serum kein Komplement oder keinen Ambozeptor besitzt. Teils kann das hämolytische Vermögen so gering sein, daß es erst bei der Anwendung größerer Serumdosen als 0,2 ccm hervortritt, teils ist es nicht als undenkbar anzusehen, daß in Sera mit positivem Wassermann und ohne hämolytisches Vermögen diese Hemmung durch dieselben Körper verursacht werden kann, die Wassermanns Reaktion zur Folge haben. Doch wollen wir schon jetzt hervorheben, daß die hämolysehemmende Wirkung der Sera wahrscheinlich eine unbedeutende Rolle spielt. Wir sind daher der Ansicht, daß, wenn bei diesen einfachen Hämolyseversuchen keine Lösung der Blutkörperchen mit oder ohne Zusatz von fremdem Komplement und Ambozeptor erhalten wird, dies in erster Linie auf einem Mangel an Komplement und Ambozeptor beruht. Weiter unten wird diese Eigenschaft der Sera eingehender erörtert werden.

Vom praktischen Gesichtspunkt aus betrachtet, wie auch hinsichtlich einer eventuellen Erklärung der Ursachen von Sterns oder Bauers Reaktionen dürfte diese unsere Betrachtungsweise keine nennenswert große Fehlerquelle in die Untersuchung einzuführen brauchen, und zwar unter anderem aus dem Grunde, weil — wie weiter unten aus der Tabelle hervorgehen wird — es ziemlich selten ist, daß man Sera antrifft, welche keine Hämolyse nach Zusatz fremden Ambozeptors oder Komplements ergeben. Nur bezüglich dieser ganz wenigen Fälle, in welchen folglich die „Eigenlösung“ des Serums, bzw. Ambozeptor- und Komplementwert gleich Null sind, kann demnach unsere Schätzung der Ambozeptor- und Komplementmenge im Serum in höherem Grade fehlerhaft sein.

Es scheint indessen nur eine relativ geringe Anzahl Untersuchungen sowohl betreffs des normalen Vorkommens von Komplement und Ambozeptor im Menschenserum als auch betreffs ihres Verhaltens bei verschiedenen Krankheiten oder sonst unter verschiedenen Verhältnissen vorzuliegen. Derartige Untersuchungen haben indessen beispielsweise das Resultat ergeben, daß bei stärkerer, allerdings aber auch bei kurzdauernder Abkühlung (Trommsdorff, Nagelschmidt), starker Erschöpfung sowie stärkeren Alkoholvergiftungen (Trommsdorff, Abbot und Bergey), Phosphorvergiftung (Ehrlich, Morgenroth, Lüdke), hochgradiger Inanition (Bentivenga, Carini, Lüdke, Trommsdorff) eine Verminderung des Komplements und bisweilen auch eine solche des Ambozeptors hervorgerufen wurde. Keine Veränderung der Komplementmenge soll durch Tuberkulose verursacht werden (Kentzler und Lüdke). Dagegen führen chronische, eitrige Infektionen zu einer Komplementverminderung (Metalnikoff, Simnitzky und Lüdke). Nach Moro soll jedoch außer Pneumonie und Scharlach auch Tuberkulose zu einer Vermehrung der Komplementmenge führen.

Neisser und Döring prüften die hämolytische Kraft des Menschenserums bei Pneumonie, Tuberkulose, Emphysem, luetischer Neuralgie und chronischer Nephritis und fanden, daß 0,1–0,15 ccm Serum vollständig 1 ccm 5-proz. Erythrocytenemulsion lösten. Sie fanden hierbei keinen Unterschied von dem, was normalerweise vor sich geht.

Hedinger untersuchte Fälle von Typhus sowie einige vereinzelte Fälle von Pneumonie, Scharlach, Tuberkulose, Pyämie, Meningitis cerebrospinalis, Dysenterie, Herzfehler, diabetischem Coma und Nephritis. Sämtliche Sera sollen sich normal verhalten haben.

Kentzler fand betreffs des Komplementgehalts im Serum von Tuberkulosepatienten keinen Unterschied gegenüber normalen Verhältnissen.

Von besonderem Interesse sind die Untersuchungen über Komplement und Ambozeptor seitens der Autoren, die auf das normale Vorkommen derselben Modifikationen der Wassermannschen Reaktion gegründet haben.

Hecht hat mit einer ziemlich weitläufigen Technik 325 Sera auf natürlichen Ambozeptor hin untersucht und in 11 Fällen einen teilweisen Mangel hieran gefunden. — Von 200 Sera zeigten 3 eine Verminderung des natürlichen Komplements. Menschensera sind normalerweise imstande, Schafblutkörperchen aufzulösen. Ausnahmen 6 Proz. Auf Grund hiervon ist die praktische Anwendbarkeit von Modifikationen der Wassermannschen Reaktion möglich, die auf das eigene hämolytische Vermögen des Serums gegründet sind. Hecht hat jedoch keine direkten vergleichenden Untersuchungen zwischen seiner Modifikation — dem Komplement — und Ambozeptorgehalt auf der einen und der Wassermannschen Reaktion auf der anderen Seite angestellt.

Stern hat betreffs des normalen Komplementgehalts gefunden, daß er keinen so großen Schwankungen unterworfen ist, wie man es früher angenommen hat. Auch ist das Komplement nicht so zerstörbar. Nach

48 Stunden und noch länger hat es seinen Zustand unversehrt beibehalten. Nur bei gewissen Infektionskrankheiten und anderen krankhaften Zuständen hat die Verfasserin Komplementmangel gefunden. Am Ende ihrer Abhandlung macht Verfasserin daher eine Reservation bezüglich der Anwendung ihrer Methode in der inneren Medizin, indem sie sagt: „Die Verfeinerung der alten Versuchsanordnung ist daher kontraindiziert bei allen schweren konsumierenden Krankheiten.“ Die genauere Technik bei der Bestimmung des Komplements findet sich nicht angegeben.

Von Bauers Untersuchungen über das Vorkommen von Ambozeptoren gegen Schafblutkörperchen in menschlichen Sera ist es uns nicht möglich gewesen, genauer Kenntnis zu nehmen. Direkte vergleichende Untersuchungen über Ambozeptorgehalt, Bauers und Wassermanns Reaktionen scheinen nicht ausgeführt zu sein. Bei Luetikern will Bauer einen niedrigeren Ambozeptorgehalt als normalerweise gefunden haben, er führt aber keine Zahlen an.

Die Resultate, zu denen man demnach bisher sowohl bezüglich des physiologischen Vorkommens von Komplement und Ambozeptoren gegen artfremde Blutkörperchen im Serum des Menschen als auch bezüglich des physiologischen, hämolytischen Vermögens gekommen ist, haben, wie im allgemeinen angegeben wird, zu der Feststellung geführt, daß dieses Vermögen wie auch die Komplement- und Ambozeptormenge relativ konstant und individuell nur wenig verschieden ist.

Dagegen werden diese Größen durch die Einwirkung einer ganzen Reihe wichtiger Faktoren, wie beispielsweise Abkühlung, Hunger, Alkoholismus, vermindert. Wie sich aber die Verhältnisse bei den verschiedenen Infektionskrankheiten gestalten, darüber dürfte man sich auf Grund der oben angeführten Untersuchungen kein sicheres Urteil bilden können. Die Ursache für die Verschiedenheit der Resultate und ihren Mangel an Uebereinstimmung untereinander dürfte wohl teils in dem Mangel einer einheitlichen Technik zu suchen sein, teils darin, daß das Material, dessen sich die verschiedenen Autoren bedient haben, allzu beschränkt und unbedeutend gewesen ist, so daß es natürlich einem jeden derselben unmöglich gewesen ist, die Variationen innerhalb jeder einzelnen Infektion zu überblicken, sie vielmehr zu für die Krankheitsgruppe nicht charakteristischen Resultaten geführt worden sind.

Da indessen die Frage nach dem Komplement- und Ambozeptorvorkommen im Menschenserum sowohl unter physiologischen als pathologischen Verhältnissen nicht nur ein physio-

logisches oder allgemein-theoretisches Interesse zu besitzen scheint, sondern auch möglicherweise eine gewisse klinische Bedeutung erhalten kann, so haben wir seit einiger Zeit dieser Frage ein eingehenderes Studium gewidmet.

Diese unsere Untersuchungen führten uns zu im großen und ganzen bestimmten Resultaten, welche überhaupt für Infektionskrankheiten und konsumierende Krankheiten im allgemeinen zu gelten schienen. Als ein erstes bestimmtes Resultat wurde das erhalten, daß innerhalb der großen Syphilisgruppe eine Komplement- und Ambozeptorverminderung im Serum sehr oft vorkam, sowie daß positive Wassermannsche Reaktion besonders oft von derartigen Sera erhalten wurde, weniger oft von Sera mit hohen Werten für Komplement und Ambozeptor. Ferner fanden wir bei einer ganzen Reihe Sera von verschiedenen Infektionskrankheiten, Geschwulstkrankheiten, Herz- und Nierenkrankheiten usw. her bisweilen vollständige Abwesenheit von Ambozeptor, dann und wann Abwesenheit auch von Komplement. Diese Sera ergaben negative Wassermannsche Reaktion und erlaubten klinisch die Ausschließung latenter Syphilis. Endlich zeigte es sich, daß auch Sera von völlig gesunden Personen einen Mangel an normalem Ambozeptor aufweisen können. Wir stellten daher die Frage auf: Ist es nicht möglich nachzuweisen, daß der positive Ausfall von Sterns und Bauers Reaktionen in gewissen Fällen auf hemmenden Stoffen in den Sera (wie bei Wassermanns Reaktion), in anderen Fällen auf dem Mangel an Ambozeptor und Komplement in den betreffenden Sera beruht? Aus dem Obigen geht hervor, daß man solchenfalls positive Reaktion bei Lues erhalten müßte, teils wenn Wassermann positiv ist, teils auch, wenn keine genügende Menge von Komplement und Ambozeptor vorhanden ist. Aber auch in Fällen anderer Krankheiten und sogar bei gesunden Individuen, wo die Sera gleichfalls dieser Körper entbehren, müßte man positive Reaktion erhalten.

Ueber die praktische Bedeutung von Bauers und Sterns Reaktionen sind bereits mehrere Abhandlungen erschienen, die teils die Ergebnisse der genannten Autoren bestätigen, teils in entgegengesetzte Richtung gehen.

6*

Bauer publizierte seine Methode, wie es scheint, auf relativ geringe Erfahrung hin, und er hat selbst keine größere Statistik vorgelegt, welche die Ueberlegenheit seiner Methode zeigte.

Von Autoren, die seine Methode geprüft, haben sich folgende in bestätigendem Sinne ausgesprochen. Bering hat nahezu 900 Fälle untersucht, unter dieser großen Anzahl von Fällen wurde aber nur in 125 Fällen gleichzeitig Wassermanns Reaktion ausgeführt und hierbei 1mal positiver Bauer und negativer Wassermann erhalten. Bauers Methode ist daher ebensogut wie die ursprüngliche Wassermannsche Methode.

Hinrichs hat eine relativ geringe Anzahl sicherer Luetiker untersucht und vor der Behandlung bei allen positive Reaktionen erhalten. Nach Beendigung der Behandlung erhielt er in einer Gruppe 70,6 Proz. positive Reaktion Bauer und 41,7 Proz. positive Wassermann, in einer anderen 66 Proz. positive Bauer und 50 Proz. positive Wassermann. Er spricht sich daher zugunsten derselben aus.

Weniger günstig über Bauers Reaktion äußert sich C. Stern. Nach diesem Autor ist die Ambozeptormenge sowohl bei Gesunden als bei Luetikern ziemlich variabel, und er hat auch positive Reaktion bei normalen Individuen trotz genauer Befolgung der Bauerschen Technik mit Zusatz von normalem Menschen Serum erhalten. Stern wendet Wassermanns Reaktion in allen Fällen an, wo Bauer nicht löst.

Ebenso spricht sich M. Stern gegen Bauers Methode aus und findet sie weniger exakt. M. Stern hatte bei der Beschreibung ihrer Vereinfachungsmethode 300 Fälle mit gleichzeitigem Vergleich zwischen Wassermann und ihrer Methode untersucht. Für die erstere Reaktion hatte sie 38,5 Proz., für die letztere 53,3 Proz. positive Fälle erhalten. Diese Reaktion ist vor so kurzer Zeit publiziert worden, daß die Zahl der „Nachprüfer“ noch ganz gering ist. Meirowsky hat in seiner Zusammenstellung vonluetischen Fällen 58,6 Proz. positive Fälle nach Wassermann und 74,1 Proz. nach Stern erhalten. Beim Latenz- und Tertiärstadium hat Meirowsky 50 Proz. positive Fälle nach Wassermann und 67,7 bis 88,8 Proz. nach Stern erhalten. Von 58 normalen Sera zeigten 1 positive Reaktion nach Wassermann und 2 nach Stern. Die Sternsche Modifikation bedeutet daher nicht nur eine Vereinfachung, sondern auch eine Verfeinerung der Wassermannschen Reaktion. Sie ist jedoch nur neben dieser letzteren anzuwenden.

Am wenigsten vorteilhaft äußert sich Isabolinsky, welcher erklärt, daß alle Modifikationen (Bauer, Stern, Hecht, Tschernogubow) keine „so sicheren und eindeutigen Resultate wie die ursprüngliche, von Wassermann und Bruck angegebene“, liefern.

Wir haben eine Anzahl Untersuchungen teils an Gesunden, teils in Fällen von Pneumonie, Scharlach, verschiedenen nichtluetischen Krankheiten, Syphilis mit Tabes und Paralyse ausgeführt, und zwar sowohl bezüglich des eigenen hämolytischen Vermögens des Serums, für welches wir Moros Bezeichnung

Blankwert beibehalten haben, als auch bezüglich der Komplement- und Ambozeptormenge, wobei außerdem Wassermanns, Sterns und Bauers Reaktionen zur Anwendung gekommen sind.

Die Technik, die wir bei der Wassermannschen Reaktion angewandt haben, ist genau dieselbe gewesen, wie sie in Wassermanns eigenem Institut zur Anwendung kommt¹⁾. Sterns und Bauers Modifikationen sind gleichfalls genau nach ihren eigenen Anweisungen ausgeführt worden.

Bei Bauers Modifikation werden 4 Kontrollproben vorgeschrieben:

I. Kompl. +	Ser. +	Extr. +	Schafblutkörperchem	}	mit luetischem
II. " +	" +	NaCl +	"		Serum.
III. " +	" +	Extr. +	"		} mit normalem Serum.
IV. " +	" +	NaCl +	"		

Damit die Reaktion gut geheißen werden kann, müssen II, III und IV innerhalb 30—45 Minuten gelöst sein.

In einem ziemlich großen Prozentsatz von Fällen innerhalb der untersuchten Gruppen haben wir gefunden, daß diese Kontrollproben nicht gelöst worden sind, was auf einer mangelhaften Ambozeptormenge beruht hat. In solchen Fällen soll man nach Bauer eine gewisse Quantität normales Menschenserum, das normale, hämolytische Eigenschaften besitzt, zusetzen. Aus unserer Untersuchung geht — wie wir weiter unten zeigen werden — hervor, wie oft man genötigt ist, dies zu tun.

Ueber die Bestimmung der „Eigenlösung“ des Blutserums, also seines Blankwertes, sowie der Komplement- und Ambozeptormenge haben wir in der Darstellung unserer früheren Untersuchungen eingehender berichtet. Die Serummengen, mit denen wir gearbeitet haben, sind stets 0,2, 0,1, 0,04 und 0,02 ccm, mit 4 ccm NaCl-Lösung (0,85-proz.) verdünnt, gewesen. Der Blankwert wird unmittelbar dadurch erhalten, daß 1 ccm 5-proz. Schafblutkörperchenemulsion zugesetzt wird und die Mischung 1 Stunde lang im Thermostat und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen bleibt, wonach die Ablesung geschieht.

Das Komplement ist in der Weise bestimmt worden, daß wir zu jedem Röhrchen eine solche Quantität von immuni-

1) Unter Anwendung von Alkoholextrakt.

satorisch erhaltenem Kaninchenambozeptor zuzusetzen versucht haben, daß sie völlig dazu ausreichte, zusammen mit 0,2 ccm aktivem Serum von Personen, die nicht mit Lues, Infektions- oder konsumierenden Krankheiten behaftet waren, 1 ccm 5-proz. Schafblutkörperchen vollständig aufzulösen. Nach einigem Experimentieren fanden wir, daß eine Ambozeptormenge von 0,03 ccm von einem Ambozeptor, der bei dem Wassermannschen sogen. Vorversuch nach 30 Minuten in der schwächsten Stärke von 1 : 800 vollständig löste, hierzu völlig hinreichend war — also eine Menge, die fast doppelt so groß wie die bei der Wassermannschen Reaktion gebräuchliche ist. Mittelst dieses Immunambozeptors wurden die Schafblutkörperchen sensibilisiert, die bei der Komplementbestimmung angesammelt werden sollten, wobei sie 2 Stunden lang im Thermostat standen.

Der Bestimmung des Ambozeptors haben wir keine besonderen Untersuchungen gewidmet. In den meisten Fällen dürfte nämlich der Blankwert als Exponent für die Ambozeptormenge zu betrachten sein, da in der unvergleichlich größten Mehrzahl der Fälle der hämolytische Effekt bei der Komplementbestimmung stärker ist als bei der Blankwertbestimmung, d. h. mit anderen Worten, das Komplement der Regel nach in größerer Menge als der Ambozeptor vorhanden ist. Nur in den seltenen Fällen, wo der Blankwert und der Komplementwert genau denselben hämolytischen Effekt ergeben, nur dort besteht die Möglichkeit für das Vorhandensein einer Ambozeptormenge, die größer als die Komplementmenge ist. Derartige Fälle sind aber, wie gesagt, so selten, daß sie nicht in nennenswertem Grade auf die statistischen Zahlen einwirken können, wenn bei der Berechnung Blankwert gleich Ambozeptorwert gesetzt wird.

Die Ablesung sowohl der Blankwerte als der Komplementwerte hat nach folgendem Prinzip stattgefunden:

				Wert
Keine Hämolyse	mit	0,2	ccm Serum	0
Halbe	"	0,2	" "	0,5
Hämolyse	nur	0,2	" "	1
"	sogar	0,1	" "	2
"	"	0,04	" "	5
"	"	0,02	" "	10.

Der Grad der Hämolyse ist stets mittels v. Fleischls Bestimmung an der Lösung kontrolliert worden. Zur vollen Hämolyse sind auch solche Fälle gerechnet worden, in welchen nur Spuren von Blutkörperchen ungelöst zurückgeblieben waren, und wo die genannte Flüssigkeit nach v. Fleischl nur eine Abweichung von totaler Hämolyse im Betrage von 10–15 Proz. zeigte. Als halbe Hämolyse sind die Fälle betrachtet worden, wo v. Fleischl die Hälfte des für totale Hämolyse charakteristischen Hämoglobingehalts gezeigt hat.

Die Fälle, die wir demnach untersucht haben, betreffen:

	Bauer	Stern
I. Gesunde Individuen	18 Fälle	18 Fälle
II. Pneumonia acuta	13 "	11 "
III. Scharlach	37 "	37 "
IV. Verschiedene, nicht luetische Krankheiten	34 "	36 "
V. Syphilis	55 "	45 "
Summe	157 Fälle	147 Fälle

Die Resultate, die wir bei diesen Untersuchungen erhalten haben, sind aus folgenden Tabellen zu ersehen.

Gruppe I.

Gesunde Individuen, 18 Fälle.

W. — in allen Fällen. St. — in 17 Fällen = 94,4 Proz. B. — in 14 Fällen = 77,8 Proz. St. + in 1 Fall = 5,6 Proz. B. + in 4 Fällen = 22,2 Proz.

Die positiv reagierenden Fälle verhielten sich folgendermaßen:

Fall No.	Amb.	Kompl.	W.	St.	B.
1	0	2	—	+	+
2	0	5	—	—	+
3	0	5	—	—	+
4	0,5	5	—	—	+

Die übrigen, negativ reagierenden Fälle besaßen Komplementmengen zwischen 2 und 5 und Ambozeptormengen zwischen 1 und 2, mit Ausnahme von zwei Fällen, in welchen die Menge nur 0,5 betrug.

Gruppe II.**Pneumonia acuta, 13 Fälle.**

W. — in allen Fällen. St. — in 90,9 Proz. B. — in 53,8 Proz.
 St. + in 1 Fall von 11 = 9,1 Proz. B. + in 6 Fällen von 13 = 46,2 Proz.

Die positiven Fälle verhielten sich folgendermaßen:

Fall No.	Amb.	Kompl.	W.	St.	B.
1	0	0	—	+	+
2	5	10	—	—	+
3	0,5	2	—	—	+
4	0	1	—	—	+
5	0	5	—	—	+
6	0	10	—	—	+

Von den übrigen negativ reagierenden Fällen zeigten zwei eine Andeutung zu positiver Bauer-Reaktion (negativer Stern-Reaktion); außerdem besaßen diese beiden Ambozeptor = 0 bzw. 0,5 sowie Komplement = 1 bzw. 1. Alle übrigen zeigten eine Ambozeptorgröße zwischen 1 und 5 und eine Komplementgröße zwischen 1 und 10.

Gruppe III.**Scharlach, 37 Fälle.****Sterns Reaktion.**

W. — in allen Fällen. St. — in 34 Fällen = 91,9 Proz. St. + in 3 Fällen = 8,1 Proz.

Die positiven Fälle verhielten sich folgendermaßen:

Fall No.	Amb.	Kompl.	W.	St.	B.
1	0,5	1	—	+	±
2	1	2	—	+	+
3	0 (?)	0	—	+	+

Die negativen Fälle zeigten einen Komplementwert, der zwischen 1 und 10 wechselte.

Bauers Reaktion.

B. + in 6 Fällen = 16,2 Proz., ± in 9 Fällen = 24,3 Proz., — in 22 Fällen = 59,5 Proz.

Die positiv reagierenden Fälle haben sich folgendermaßen verhalten:

Fall No.	Amb.	Kompl.	W.	St.	B.
1	0,5	5	(±)	—	+
2	1	2	—	+	+
3	0,5	5	—	—	+
4	1	10	—	—	+
5	0	0	—	+	+
6	2	5	—	—	+

Die \pm reagierenden Fälle haben sich folgendermaßen verhalten:

Fall No.	Amb.	Kompl.	W.	St.	B.
1	0,5	1	—	+	\pm
2	5	5	(\pm)	—	\pm
3	0,5	5	—	—	\pm
4	0,5	1	—	—	\pm
5	2	2	—	—	\pm
6	0	5	—	—	\pm
7	0,5	2	—	—	\pm
8	0,5	5	—	—	\pm
9	0	10	(\pm)	—	\pm

In den übrigen vollständig negativ reagierenden Fällen betrug die Menge des Ambozeptors in 1 Fall 0 und die des Komplements 5; in 4 Fällen die Ambozeptormenge 0,5, die Komplementmenge dagegen bezw. 1, 1, 1 und 5. Bei den übrigen betrug die Ambozeptormenge 1–5 und die Komplementmenge 1–10 (in 2 Fällen wurde der Ambozeptor nicht bestimmt).

Gruppe IV.

Verschiedene, nicht-luetische Krankheiten, 36 Fälle.

W. — in allen Fällen mit Ausnahme des + St.-Falles, wo die Hämolyse nach Wassermann mit einer gewissen Schwierigkeit geschah. St. + in 1 Fall = 2,8 Proz. In diesem Fall lag Arteriosklerose vor und betrug die Ambozeptormenge 0 (?), die Komplementmenge 0. Die übrigen negativ reagierenden Fälle = 97,2 Proz. hatten eine Komplementmenge = 1–10. Die Fälle verteilen sich auf folgende Krankheiten:

Vitium cordis	11 Fälle	Trophödem	1 Fall
Arteriosklerose	3 „	Psoriasis	1 „
Hemiplegie	2 „	Nephritis	1 „
Bulbärparalyse	1 Fall	Cirrhosis hepatis	1 „
Neuritis ischiadica	1 „	Alkoholismus	3 Fälle
Tumor cerebri	1 „	Perniziöse Anämie	1 Fall
Cancer	3 Fälle	Morbus Banti (nicht Lues)	1 „
Anämie	3 „	Rheumat. muscul.	1 „
Myxödem	1 Fall		

B. + in 12 von 34 Fällen = 35,7 Proz.; — in 22 Fällen = 64,7 Proz.

Krankheit	Fall No.	Amb.	Kompl.	W.	St.	B.
Myocard. chr.	1	2	2	—	—	+
„ „	2	0,5	5	—	—	+
„ „	3	0	10	—	—	+
„ „	4	0,5	10	—	—	+
„ -Hemiplegie	5	1	10	—	—	+
Hemipl.-Abusus	6	0	1	—	—	+
Ulc. anticr.-Anämie	7	0,5	2	—	—	+
Aphasia	8	0	2	(\pm)	—	+
Morb. Banti	9	0,5	5	—	—	+
V. o. cord.-Hemipl.	10	0,5	5	—	—	+
Ischias-Alc. chr.	11	0	?	—	—	+
Cancer hepat.	12	0,5	2	—	—	+

Die übrigen negativ reagierenden Fälle besitzen einen Ambozeptorgehalt zwischen 1 und 5, außer vier, die nur 0,5 besitzen. Das Komplement variiert zwischen 1 und 10.

Faßt man die Resultate der soeben geschilderten Untersuchungen zusammen, so erhält man folgende Zusammenstellungen.

Sterns Reaktion.

Zustand	Anzahl Fälle	St. + in	St. — in
Gesund	18	5,6 Proz.	94,4 Proz.
Pneumonie	11	9,1 "	90,9 "
Scharlach	37	8,1 "	91,9 "
Verschiedene Krankheiten	36	2,8 "	97,2 "

Bauers Reaktion.

Zustand	Anzahl Fälle	B. + in	B. — in	B. ±
Gesund	18	22,2 Proz.	77,8 Proz.	
Pneumonie	13	46,2 "	53,8 "	
Scharlach	37	16,2 "	59,5 "	24,3 Proz.
Verschiedene Krankheiten	34	35,3 "	64,7 "	

Gesamtübersicht über Sterns, Bauers und Wassermanns Reaktionen.

Zustand	Summe	+ in	— in	Reaktion
Nicht-syphilitische Patienten	102	5,9 Proz.	94,1 Proz.	Stern
	102	27,4 "	72,6 "	Bauer ¹⁾
	106	0 "	100 "	Wassermann

Unter den positiv Stern-reagierenden Fällen ist in 3 das Komplement = 0, in 1 Fall = 1 und in 2 Fällen = 2 gewesen. Als Durchschnittswert ergibt sich also 0,80. Die negativ Stern-reagierenden Fälle haben alle einen Komplementwert zwischen 1 und 10 gehabt, mit einem Durchschnittswert = 4,20. Es ist dies ja ein sehr auffallender Unterschied, der schon an sich bestimmt zeigt, daß positive Stern-Reaktion bei niedrigen oder, vielleicht richtiger ausgedrückt, mangelndem Komplement-

1) Als Bauer — sind hier auch die ± reagierenden Fälle gerechnet worden. Rechnet man sie dagegen als +, so ergeben sich als Zahlen für Bauers Reaktion: + in 36,2 Proz., — in 63,8 Proz.

gehalt des Serums erhalten wird, negative Reaktion dagegen nur bei völlig hinreichendem Vorkommen. Eine Prüfung der einzelnen Zahlenwerte ergibt jedoch, daß diese positive Stern-Reaktion bei Sera von sicherlich nicht-luetischen Personen eintreffen kann, trotzdem für das Zustandekommen der hämolytischen Reaktion völlig hinreichende Mengen Komplement sicherlich in dem Serum vorhanden sind. Es geht dies nämlich in eklatanter Weise teils daraus hervor, daß der Komplementgehalt bei Serum von einem gesunden Individuum = 2 gewesen ist, teils daraus, daß er in zwei Fällen von Scharlach gleich bzw. 1 und 2 gewesen ist, trotzdem aber positive Stern-Reaktion erhalten wurde. In den Fällen, wo diese positive Reaktion bei einem Komplementgehalt = 0, sei es bei gesunden oder bei kranken (nicht-syphilitischen) Personen erhalten wird, liegt es wohl nahe, die Ursache für den positiven Ausfall der Reaktion in der Abwesenheit oder dem mangelhaften Vorhandensein von Komplement zu erblicken. Die eben erwähnten Fälle, bei denen für eine hämolytische Reaktion sonst genügende Mengen Komplement vorhanden gewesen sind, die aber gleichwohl positive Stern-Reaktion ergeben haben, scheinen uns bestimmt auf das Vorkommen von hämolysehemmenden Körpern hinzudeuten, die möglicherweise in geringer Menge physiologisch im menschlichen Serum auftreten können, ganz sicher dies aber bei Scharlach, demnach aber jedenfalls bei Nicht-Luetikern tun.

In 27,4 Proz. aller Fälle ist die Bauer-Reaktion positiv ausgefallen, weshalb bereits aus diesem Umstande hervorgeht, daß ihre klinische Spezifität in hohem Grade illusorisch ist. Man wäre demnach in ungefähr einem Fünftel (21,5 Proz. gemäß dem unten angeführten Resultat) der zur Untersuchung kommenden Fälle gezwungen, Serum mit natürlichem Ambozeptor oder Immunambozeptor zuzusetzen, in solchem Falle aber führt man ja in Wirklichkeit die Wassermannsche Reaktion aus. Und dies gilt ja vor allem für luetische Sera, da hier so oft Ambozeptormangel vorkommt.

Die Vereinfachung, die Bauers Modifikation mit sich bringen sollte, hat sich also als illusorisch erwiesen (man ist in den meisten positiv reagierenden Fällen — also in

21,5 Proz. nicht-luetischen Fällen — gezwungen, fremden Ambozeptor zuzusetzen, um nach Bauers eigener Ansicht ein sicheres Resultat zu erhalten).

In den bei Bauers Reaktion positiv reagierenden Fällen ist der Ambozeptor in 12 Fällen = 0 gewesen, in 10 Fällen = 0,5, in 3 Fällen = 1, in 2 Fällen = 2 und in 1 Fall = 5; Durchschnittswert also = 0,61. Die negativ reagierenden Fälle dagegen haben einen Ambozeptorwert in 4 Fällen = 0 (in 3 von diesen war jedoch die Reaktion \pm), in 9 Fällen = 0,5 (davon 5 mit Reaktion \pm), in 61 Fällen = 1–10 gewesen: Durchschnittswert also = 1,34.

Dieselbe allgemeine Regel wie die für Sterns Reaktion und ihr Verhältnis zur Komplementmenge gilt also betreffs Bauers Reaktion und der Ambozeptormenge des Serums. Derselbe Einwand bezüglich der Einwirkung hämolysehemmender Körper auf die Blankwertbestimmungen, wodurch der Ambozeptorgehalt auf einen niedrigen Gehalt hinabgepreßt wird, ließe sich wohl erheben, scheint uns aber doch einer festeren Grundlage zu entbehren. Denn in den meisten Fällen hat der Zusatz von Immunambozeptor ein stärkeres, ja, in einigen Fällen ein sehr starkes hämolytisches Vermögen des Serums zur Folge gehabt, welche Erscheinung unseres Erachtens am ehesten dahin zu deuten ist, daß in diesen Fällen ein wirklicher Ambozeptormangel vorhanden gewesen ist. Die Ambozeptormenge 0,5 scheint uns die Quantität zu sein, die den Uebergang zwischen positiven und negativen Bauer-Reaktionen bildet, oder mit anderen Worten: mittelst dieser Menge fällt die Reaktion in einigen Fällen positiv, in anderen negativ aus. Die bei Bauers Reaktion positiv reagierenden Fälle von Pneumonie, Scharlach, Hemiplegie mit Abusus, Myocarditis chronica, welche eine Ambozeptormenge von 1–5 besessen haben, weisen gleichfalls, wie uns scheint, bestimmt auf das Vorkommen hämolysehemmender Körper im Serum hin.

Eine weitere Bestätigung dafür, daß die positive Bauer-Reaktion wenigstens in einigen Fällen durch hämolysehemmende Körper verursacht worden ist, erblicken wir jedoch darin, daß 3 von diesen positiv reagierenden Fällen (Scharlach)

eine Andeutung von positiver Wassermannscher Reaktion gezeigt haben.

Wenn man bedenkt, daß — wie bereits erwähnt worden — die Wassermannsche Reaktion mit relativ konstanten, artfremden Komplement- und Ambozeptormengen arbeitet, sie aber doch bei Scharlach in einem gewissen Prozentsatz der Fälle schwach positive (nach den Angaben anderer rein positive) Reaktion liefert, trotzdem Syphilis ausgeschlossen ist, so dürfte wohl die Auffassung naheliegen, daß das Serum in diesen Fällen wirklich hämolysehemmende Körper enthalten hat.

Die hämolytischen Blankwertbestimmungen fallen ungefähr gleich oft positiv aus wie Bauers Reaktion. Doch kann in einigen seltenen Fällen, wie oben erwähnt worden, negative Bauer-Reaktion erhalten werden, trotz der Abwesenheit einer „Eigenlösung“ des angewandten Serums. Man darf wohl annehmen, daß das Extrakt eine Rolle hierbei gespielt hat, obwohl seine Wirkungsweise nicht näher bestimmt werden kann.

Die Stern-Reaktion, die in einigen Fällen trotz Gegenwart von natürlichem Komplement zu positivem Ausfall führt, während die Wassermannsche einen negativen zeigt, gibt gern zu der Frage Anlaß, ob die Inaktivierung hierbei eine entscheidende Rolle gespielt hat. Doch hat ja die Bauer-Reaktion in einigen dieser Fälle positiven Ausfall bei hinreichender Gegenwart von Ambozeptor ergeben, weshalb möglicherweise der negative Ausfall der Wassermannschen Reaktion gleichfalls in Zusammenhang mit den artfremden Serumzusätzen und ihrer gegenseitigen Relation steht. Der negative Ausfall der Wassermannschen Reaktion würde hier zunächst durch den Ambozeptorüberschuß verursacht worden sein.

Gruppe V.

Syphilis, 45 (55) Fälle.

In 55 Fällen ist Bauers Reaktion geprüft worden, in 45 Fällen diejenigen Sterns. Die Resultate sind aus folgenden Tabellen ersichtlich.

Sterns Reaktion, 45 Fälle. Bauers Reaktion, 55 Fälle.

Grup- pen		Anzahl Fälle, die folgende Ambo- zeptor-, bzw. Komplement- mengen geliefert haben						Ambozeptor-, bzw. Kom- plement- durchschnitts- wert	Summe Fälle in jeder Gruppe	Die Gruppen aus- gedrückt in % sämt- licher Fälle	Haupt- gruppen ausge- drückt in % sämt- licher Fälle
		0	0,5	1	2	5	10				
W. +	Amb.	13	4	3	0	1	0	0,48	} 21	46,67	} 71,11
St. +	Kompl.	2	3	6	6	4	0	1,88			
W. -	Amb.	0	1	2	6	2	0	2,23	} 11	24,44	} 28,89
St. -	Kompl.	0	0	1	2	4	4	5,91			
W. -	Amb.	11	0	0	0	0	0	0,00	} 11	24,44	} 28,89
St. +	Kompl.	4	2	2	3	0	0	0,82			
W. +	Amb.	0	0	1	0	1	0	3,00	} 2	4,45	} 78,18
St. -	Kompl.	0	0	0	1	0	1	6,00			
W. +	Amb.	13	7	5	3	2	0	0,82	} 30	54,54	} 78,18
B. +	Kompl.	2	6	6	9	6	1	2,23			
W. -	Amb.	2	2	3	5	1	0	1,46	} 13	23,64	} 21,82
B. -	Kompl.	0	1	1	4	2	5	5,35			
W. -	Amb.	8	1	1	2	0	0	0,46	} 12	21,82	21,82
B. +	Kompl.	3	1	2	5	1	0	1,46			

In 45 Fällen haben wir hier Gelegenheit zu einem Vergleich zwischen Sterns und Wassermanns Reaktion, und aus einem solchen geht hervor, daß Uebereinstimmung zwischen ihnen in 71,11 Proz. der Fälle vorhanden ist, wohingegen sie verschiedenes Resultat in 28,89 Proz. ergeben. In dieser letzteren Gruppe findet sich positive Stern-Reaktion und negative Wassermann-Reaktion in 24,44 Proz., sowie negative Stern-Reaktion und positive Wassermann-Reaktion in 4,45 Proz. — Unleugbar frappiert einen die Tatsache, daß positive Stern-Reaktion am öftesten bei niedrigem Komplementgehalt im Serum, negative dagegen am öftesten bei normalem Komplementgehalt eintritt. Der Durchschnittswert der Komplementmenge ist in den Sera mit positiver Stern-Reaktion ca. 70 Proz. niedriger als bei negativem Ausfall derselben Reaktion.

Daß hämolysehemmende Körper bei Syphilis vorkommen, dürfte als ziemlich wahrscheinlich anzusehen sein, teils wegen der Möglichkeit, Alkoholextrakt anzuwenden, teils weil der Extrakt durch verschiedene lipide Stoffe ersetzt werden kann.

Es ist daher möglich und denkbar, daß in gewissen Fällen diese hämolysehemmenden Körper eine deprimierende Rolle bei den Blankwert- und Komplementbestimmungen gespielt haben können. Indessen dürfte doch diese Wahrscheinlichkeit nicht allzu groß sein. Prüft man nämlich die Tabellen genauer, indem man von der Annahme ausgeht, daß positive Reaktion ein Kriterium für das Vorkommen derartiger Substanzen wäre, so findet man leicht, daß positive Wassermann-, Stern- und Bauer-Reaktion nicht gerade sehr selten bei völlig normalem Komplement- und Ambozeptorgehalt vorkommen, ja bisweilen auch bei hypernormalem Komplementgehalt. Auch wenn man annimmt, daß ein Serum, das bei allen diesen drei Reaktionen positiven Ausfall gibt, diese hämolysehemmenden Körper in größerer Menge enthält als Sera, welche negative Wassermann-Reaktion, aber positiven Ausfall bei einer der beiden anderen oder bei diesen beiden ergeben, so muß man sich doch fragen: weshalb haben dann diese hemmenden Stoffe nicht bei den Blankwert- und Komplementbestimmungen eingewirkt, sondern hierbei Resultate ergeben lassen, die als normal oder hypernormal bezeichnet werden müssen? — Andererseits finden sich mehrere Sera, die sehr niedrige Komplement- und Blankwerte ergeben, ja sogar Ambozeptor und Komplement gleich Null gezeigt, negatives Resultat aber bei der Wassermannschen Reaktion und positives bei einer der beiden oder bei beiden anderen Reaktionen geliefert haben, weshalb es hier scheinen will, als ob die hämolysehemmenden Stoffe nicht in so großer Menge vorhanden gewesen wären, daß sie bei der Wassermannschen Reaktion auf die wirksamen, artfremden Ambozeptor- und Komplementmengen einzuwirken vermocht hätten.

Es dürfte demnach nicht ganz auszuschließen sein, daß die hämolysehemmenden Stoffe in vereinzelt Fällen die Ursache für die niedrige Ambozeptor- oder Komplementmenge sein können. Doch existieren die positive Wassermann-Reaktion bedingenden Stoffe auch bei konstatierbar normalem oder hypernormalem Ambozeptor- und Komplementgehalt. Bis auf weiteres dürfte daher kein Anlaß zu der Annahme vorliegen, daß die niedrigen Werte von Komplement und Ambozeptor auf der Einwirkung hämolysehemmender Körper be-

ruhen. Es will also scheinen, als wenn zu ihrer vollen Effektivität bei der hämolytischen Reaktion nicht nur der Extrakt oder ein ihm analog wirksamer Stoff unbedingt notwendig sei, sondern dies auch mit der Inaktivierung und der damit geschehenden sowohl chemischen als physikalisch-chemischen Veränderung des Serums der Fall sei.

Es geht hieraus demnach hervor, daß man sowohl innerhalb der Syphilisgruppe als innerhalb der übrigen von uns untersuchten Gruppen mit einem gewissen Recht dem mangelnden Komplementgehalt die Schuld für den positiven Ausfall der Sternschen Reaktion beimessen kann.

Aus der Tabelle ersieht man, daß in 6 Fällen das Komplement gleich 0, in 5 Fällen dagegen gleich 0,5 gewesen ist. Die bei Sterns Reaktion negativ reagierenden Fälle haben alle einen Komplementwert gleich 1—10 gehabt. Bei den 45 Fällen hat die Wassermannsche Reaktion positives Resultat in 51,12 Proz. und die Sternsche Reaktion positives Resultat in 71,11 Proz. ergeben. In 4,45 Proz. der Fälle ist die Sternsche Reaktion negativ ausgefallen, trotzdem die Wassermannsche Reaktion positiv ausfiel. Die Ursache hierfür liegt vielleicht darin, daß bei der Sternschen Reaktion aktives, nicht inaktives Serum angewandt wurde. Diese unsere Auffassung stützen wir auch darauf, daß bei sämtlichen Versuchen mit Bauers Reaktion in keinem Fall positive Wassermannsche Reaktion bei negativer Bauer-Reaktion erhalten worden ist; bei Bauers Reaktion wurde, wie bereits oben erwähnt, inaktives Serum angewandt.

Betreffs desluetischen Materials können wir also sagen, daß Sterns Reaktion in gewissen Fällen eine „Verfeinerung“ der Wassermannschen darstellt.

Bauers Reaktion anluetischem Material zeigt, wie aus der Tabelle hervorgeht, in 78,18 Proz. Uebereinstimmung mit der positiv ausfallenden Wassermannschen, während sie in 21,82 Proz. der Fälle verschiedenes Resultat ergeben hat. In allen den Fällen, wo Bauers und Wassermanns Reaktion bezüglich des Resultats divergieren, ist die Bauersche Reaktion positiv, die Wassermannsche dagegen negativ ausgefallen.

Zu beachten ist auch hier der vorhandene bedeutende Unterschied in der Ambozeptor- und Komplementmenge bei den positiv reagierenden Fällen gegenüber der bei den negativ reagierenden. Die eine Menge ist ca. 65 Proz. niedriger als die anderen. Unter den Fällen, die negativen Ausfall von Bauers Reaktion ergeben haben, finden sich zwei mit einem Ambozeptorwert gleich 0. Zur Erklärung der Entstehung der negativen Reaktion hierbei dürfte man an die eventuelle Rolle des Extrakts als Aktivator von vorhandenem Ambozeptor oder eventuell an die Bedeutung der Inaktivierung in ähnlicher Richtung denken können.

Wie wir früher nachgewiesen haben, ist kein Fall mit positivem Ausfall der Wassermannschen, aber negativem Ausfall der Bauerschen Reaktion erhalten worden, was unseres Erachtens wahrscheinlich in Zusammenhang damit steht, daß man bei der Bauerschen Reaktion im Gegensatz zu dem Verhältnis bei der Sternschen, in Uebereinstimmung aber mit dem bei der Wassermannschen Reaktion, mit inaktivem Serum arbeitet. Aus dem, was wir zu Beginn dieser Arbeit betreffs dieser Reaktionen bei nicht-luetischen Krankheiten in bezug auf die Abhängigkeit sowohl der Sternschen als der Bauerschen Reaktion von in dem Serum vorhandenen Komplement bzw. Ambozeptor bemerkt haben, geht hervor, daß Bauers Reaktion häufiger positives Resultat liefern muß als Wassermanns Reaktion. Es ist dies auch aus der mitgeteilten Tabelle zu ersehen; Bauers Reaktion ist positiv in 76,36 Proz. sämtlicher Fälle ausgefallen, während Wassermanns Reaktion nur in 54,54 Proz. positiv gewesen ist. Wie wir bereits oft zu betonen Veranlassung gefunden haben, ist aber der positive Ausfall der Bauerschen Reaktion von wenigstens 2 Faktoren abhängig, nämlich teils hämolysehemmenden Substanzen, teils Ambozeptormangel. Untersuchen wir nun das Verhältnis des Ambozeptors in den bei Bauers Reaktion positiv reagierenden Fällen, so finden wir, daß die Menge desselben in 21 Fällen, also in 50 Proz. sämtlicher positiv reagierenden Fälle, gleich 0 gewesen ist, weshalb folglich (unter Hinweis auf die oben angeführte, jedoch weniger schwer wiegende Reservation) nur in

den übrigen 50 Proz. der positiven Fälle die Reaktion als völlig charakteristisch betrachtet werden könnte.

Die Fälle, welche negativen Ausfall der Wassermannschen, aber positiven Ausfall der Bauerschen Reaktion geliefert haben, insgesamt 12, zeigen in 8 Fällen vollständigen Ambozeptormangel, während sie in 4 Fällen offenbar Ambozeptor besitzen, weshalb man also zu der Annahme geneigt sein könnte, daß in diesen 4 Fällen die hämolysehemmenden Stoffe in so geringer Menge vorhanden gewesen sind, daß sie nicht vermocht haben, auf die Hämolyse durch den bei der Wassermannschen Reaktion angewandten Immunambozeptor einzuwirken. Hieraus würde also hervorgehen, daß auch die Bauersche Reaktion in bezug auf luetisches Material in gewissen Fällen eine Verfeinerung der Wassermannschen Reaktion darstellen könnte.

Vergleicht man das Verhältnis der Sternschen und der Bauerschen Reaktion zueinander (wie auch zu dem Ambozeptor- und Komplementgehalt), so findet man, wie die folgende Tabelle zeigt, eine Uebereinstimmung in 87,18 Proz., eine Verschiedenheit dagegen in 13,83 Proz. der Fälle.

Gruppen		Ambozeptor- bzw. Komplementmenge						Ambozeptor- bzw. Komplement-durchschnittswert	Summe Fälle in jeder Gruppe	Ver- schiedene Gruppen, ausge- drückt in % sämt- licher Fälle	Haupt- gruppen in % sämt- licher Fälle
		0	0,5	1	2	5	10				
St. +	Amb.	18	4	3	0	1	0	0,38	} 26	66,67	} 87,18
B. +	Kompl.	4	4	7	6	5	0	1,76			
St. -	Amb.	0	1	1	5	1	0	2,06	} 8	20,51	
B. -	Kompl.	0	0	0	2	2	4	6,75			
St. -	Amb.	1	0	1	1	0	0	1,00	} 3	7,69	} 13,82
B. +	Kompl.	0	0	1	1	0	1	4,33			
St. +	Amb.	2	0	0	0	0	0	0,00	} 2	5,13	
B. -	Kompl.	0	1	0	1	0	0	1,25			

Aus dieser Tabelle geht ferner hervor, wie abhängig die beiden Reaktionen von dem Komplement- und Ambozeptorgehalt des Serums sind, und wie oft besonders Bauers Reaktion bei Ambozeptormangel positiv ausfällt.

Die 13,83 Proz. der Fälle, die in bezug auf Bauers und Sterns Reaktionen zu verschiedenen Resultaten geführt haben, besitzen, wie die Tabelle zeigt und wie früher bemerkt worden ist, derartige Ambozeptor- und Komplementwerte, daß diese im allgemeinen nicht für den positiven oder negativen Ausfall der einen oder anderen Reaktion verantwortlich gemacht werden können. Es liegt nahe, dies durch die Annahme hämolysehemmender Stoffe zu erklären, welche die positive Reaktion hervorrufen, und die Verschiedenheit zwischen der Sternschen und der Bauerschen Reaktion denken wir uns dann zunächst durch die Rolle bedingt, welche die Inaktivierung sehr wahrscheinlich gespielt hat.

Die Fälle, welche bei Bauers und Sterns Reaktionen einen von dem bei der Wassermannschen Reaktion abweichenden Ausfall ergeben haben, werden nachstehend mit besonderer Rücksicht auf ihr Verhältnis zu einer vorgenommenen Behandlung angeführt.

		I.	
		Wassermann —. Bauer +. Stern +.	
		Amb.	Kompl.
Fall 1.	Behandelte sekundäre Lues bei Entlassung aus dem Krankenhause	0	0
„ 2.	„ „ Metalues	0	0,5
„ 3.	„ „ Tabes (Wassermann ±)	0	0
„ 4.	„ „ „	0	0
		II.	
		Wassermann —. Bauer und Stern + oder ±.	
		Amb.	Kompl.
Fall 5.	Beh. sekund. Lues bei der Entlassung B. +. St. ±	0	2
„ 6.	„ „ „ „ „ „ B. ±. St. +	0	2
„ 7.	„ „ „ „ „ „ B. ±. St. +	0	1
		III.	
		a) Wassermann —. Bauer +. Stern nicht ausgeführt.	
		Amb.	Kompl.
Fall 8.	Frühlatente Lues behandelt	2	2
„ 9.	Lues cerebri, behandelt	0,5	5
„ 10.	Tabes, unvollständig behandelt	2	2
„ 11.	Aorta insuffic. (Lues, in der Anamnese, behandelt)	1	2
		b) Wassermann —. Stern +. Bauer nicht ausgeführt.	
		Amb.	Kompl.
Fall 12.	Myocardit. chr. behandelt, Lues in der Anamnese (W. ±)	0	0
„ 13.	Symptomfreie, frühlatente Lues	0	1
		7*	

IV.

	a) Wassermann —. Bauer +. Stern —.		
Fall 14.	Tabes spastica (?). Lues in der Anamnese. Klinisch unklarer Fall	Amb.	Kompl.
		0	1
	b) Wassermann —. Bauer —. Stern +.		
Fall 15.	Lues cerebri, behandelt (B. ±)	Amb.	Kompl.
„ 16.	Spätlatente Lues	0	0,5 2
	c) Wassermann +. Bauer +. Stern —.		
Fall 17.	Sekundäre Lues, behandelt	Amb.	Kompl.
„ 18.	Tabes, intensiv behandelt	1 5	2 10

Betrachtet man die Sache vom klinischen Gesichtspunkt aus, so haben ja in dieser Hinsicht sowohl Bauer als Stern betont, daß ihre Reaktionen feinere Ausschläge geben als die ursprüngliche Wassermannsche Reaktion. Ihre Reaktionen sollen Ausschläge in behandelten Fällen geben, in welchen die Wassermannsche Reaktion negativen Ausfall zeigt, sowie später als die letztgenannte verschwinden. In allen diesen Fällen, wo wir sehen, daß Bauers und Sterns Reaktionen sich von der Wassermannschen unterscheiden, handelt es sich eben um solche Luetiker, die eine Behandlung erfahren haben, so daß bei einer so oberflächlichen Betrachtung, wie diese wenigen Fälle sie erlauben, es unbestreitbar den Anschein hat, als wenn diese Behauptung richtig wäre. In der Mehrzahl dieser Fälle kann die Abweichung jedoch auf einer Verminderung der Ambozeptor-, bzw. Komplementmenge beruhen, wie die Tabellen es zeigen. In den Fällen, wo Ambozeptor und Komplement in normaler Weise vorhanden sind und Wassermanns Reaktion negatives, Bauers oder Sterns Reaktionen aber positives Resultat ergeben, hat man ja das Recht anzunehmen, daß die positive Reaktion auf denselben hemmenden Einflüssen beruht, welche die Hemmung der Hämolyse bei der positiven Wassermannschen Reaktion verursachen. Eine Stütze hierfür kann man in dem Verhältnis bei den übrigen Krankheiten finden. Hier findet man nämlich, daß die Hemmungen bei diesen Reaktionen öfter bei vollständigem Mangel oder zu niedrigem Gehalt an Komplement oder Ambozeptor auftreten. Ausnahmen kommen hauptsächlich bei Scharlach vor, eben einer Krankheit, deren Verhältnis zu der Wassermannschen Reaktion

sehr umstritten ist. Hier scheinen dieselben oder ähnliche Körper vorhanden zu sein wie bei Lues, wenn auch nur in geringem Prozentgehalt und in geringerem Grade.

Da sich bei dieser Zusammenstellung ferner ergeben hat — was wir in einer späteren Arbeit besonders zu schildern und zu erörtern versuchen werden — daß der Ambozeptor- und der Komplementwert bedeutend niedriger bei unbehandelter Lues und bei positiven Fällen ist als bei symptomfreien und bei behandelten, so liegt die Annahme nahe, daß ein positiver Ausfall der Bauerschen oder Sternschen Reaktion als ein weniger günstiges Zeichen während der Behandlung angesehen werden kann. Es ist ja möglich, daß man bei Anwendung dieser Reaktionen in großer Ausdehnung in dem positiven Ausfall der Bauerschen und Sternschen Modifikationen eine Indikation für die Fortsetzung einer antiluetischen Behandlung erhalten wird. Doch muß diese Bemerkung mit nicht geringem Vorbehalt geschehen, da es sich ja auch gezeigt hat, daß man bei normalen (nicht luetischen) Individuen oft Mangel an Ambozeptor- und Komplementgehalt oder niedrige Werte für dieselben antrifft.

Zusammenfassung.

1) Als klinisch anwendbares Diagnostikum auf Syphilis stehen sowohl Sterns als Bauers Modifikationen hinter der Wassermannschen Serumreaktion weit zurück und Bauers Reaktion wenigstens ist praktisch völlig unanwendbar.

2) Positive Reaktionen nach Stern und Bauer entstehen teils durch Einwirkung derselben hemmenden Körper, welche positive Wassermannsche Reaktionen verursachen, teils durch Komplement- (Stern) oder Ambozeptormangel (Bauer).

3) Bei Syphilis findet man, daß diese Reaktionen in einem gewissen Prozentsatz positiven Ausfall ergeben, wenn die Wassermannsche Reaktion negativ ausfällt, aber normaler Komplement- und Ambozeptorgehalt vorliegt, weshalb man sagen kann, daß in gewissen Fällen diese Reaktionen einen „feineren Ausschlag“ als die ursprüngliche Wassermannsche Reaktion geben.

4) Bei sonstigen Krankheiten findet man positive Reaktion bei Komplement- und Ambozeptormangel, teils auch bei normalem Vorkommen dieser Körper. Im letzteren Fall

muß man die Gegenwart einer geringen Menge hämolysehemmender Körper annehmen, die hinreichend gewesen sind, um einen positiven Ausfall dieser Reaktionen, nicht aber der Wassermannschen Reaktion zu ergeben.

5) Da sowohl die Komplement- als die Ambozeptormenge bei behandelter und symptomfreier Syphilis bedeutend größer ist (sich mehr dem normalen Zustand nähert) als bei floriden Formen, so liegt die Möglichkeit vor, daß ein positiver Ausfall der Sternschen oder Bauerschen Reaktion möglicherweise als ein weniger günstiges Zeichen bezüglich des Effektes der Behandlung angesehen werden und vielleicht die Indikation für eine Fortsetzung der Behandlung bilden kann.

Literaturverzeichnis.

- Abbot und Bergey, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 32, 1904.
 Ballner und Decastello, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908, No. 45.
 Bauer, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1908, No. 17.
 — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908, No. 16.
 — *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 10, 1908.
 — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1909, No. 10.
 — und Meier, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 51.
 Bentivenga und Carini, *Lo Sperimentale*, Vol. 54, 1900.
 v. Bering, *Münch. med. Wochenschr.*, 1908, No. 48.
 Boas, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1909, No. 9.
 Detré und Brezowsky, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 49 u. 50.
 Ehrlich und Morgenroth, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1899—1901.
 Fachini, Valentino, *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, Bd. 2, 1909.
 Hecht, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, No. 50; 1909, No. 8.
 Hedinger, *D. Arch. f. klin. Medizin*, Bd. 74, 1902.
 Hinrichs, *Med. Klinik*, 1908.
 Itabolinsky, *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, Bd. 3, Heft 2, 1909.
 Kentzler, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1904, No. 11.
 Lüdke, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 37, 1904.
 — *Münch. med. Wochenschr.*, 1905, No. 43—44.
 — *Verh. d. physik.-med. Gesellschaft zu Würzburg*, N. F. Bd. 39, 1908.
 Meirowsky, *Berl. klin. Wochenschr.*, 12. Juli 1909.
 Métalnikoff, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 29, 1901.
 Nagelschmidt, *Senator-Festschrift*, Berlin 1906.
 Neisser und Döring, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1901.
 Sachs und Rondini, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1908, No. 44.
 Simnitzky, *Münch. med. Wochenschr.*, 1903, No. 50.
 Stern, C., *Berl. klin. Wochenschr.*, 1909.
 Stern, M., *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, Bd. 1, 1909.
 Trommsdorff, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 32, 1902.
 Tschernogubow, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1908, No. 47.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Städtischen Untersuchungsamte und der II. Inneren
Abteilung des Krankenhauses im Friedrichshain zu Berlin.]

Versuche zur Deutung der pneumonischen Krisis.

Von **E. Seligmann** und **F. Klopstock**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Oktober 1909.)

Die pneumonische Krisis und ihr seltsam gesetzmäßiges Eintreten haben seit altersher die Forscher zu Deutungsversuchen angeregt; mancherlei Hypothesen sind aufgestellt und wieder verworfen worden, ohne daß man einen sicheren Einblick in diese rätselvollen Erscheinungen gewonnen hätte.

Seit der Begründung der Immunitätslehre ist etwas Licht in dies Dunkel gefallen; seit wir wissen, daß es Antikörper mit heilender Kraft im Haushalte der Natur gibt, drängte sich die Erklärung der Krisis förmlich auf. Wir haben nach Ehrlich hier ein Paradigma der „*therapia sterilisans magna*“ vor uns, das eruptive Auftreten von heilenden Antikörpern, die mit einem Schlage den Körper von der schädlichen Wirkung des feindlichen Agens befreien. Eine Bestätigung findet diese Anschauung in den Arbeiten der Gebrüder Klemperer, die die Pneumokokkenimmunität studierten und im Serum von Pneumonierekonvaleszenten Pneumokokkenantikörper nachweisen konnten.

Die experimentelle Erforschung der menschlichen Pneumonie ist seitdem nicht viel weiter gekommen, wenngleich die Biologie der Pneumokokken nach mannigfacher Richtung hin untersucht worden ist. Wir hielten es deshalb für wünschenswert, einmal mit Hilfe der modernen, verfeinerten Methoden einen biologischen Versuch zur Erklärung der pneumonischen Krisis zu machen; denn das muß wohl zugegeben werden: die bisherige Erklärungsweise ist zwar logisch durchaus einleuchtend, durch experimentelle Grundlagen aber ist sie nicht hinreichend gestützt.

Unser Versuch hat, das sei vorweg genommen, zu keinem positiven Resultate geführt. Gleichwohl halten wir ihn der

Veröffentlichung für wert, einmal um anderen Forschern, die auf ähnlichen Gedankengängen wandern, unnütze Mühe zu ersparen; dann aber gibt auch das negative Resultat uns gewisse Fingerzeige bezüglich der Deutung strittiger Erscheinungen. Wir verzichten jedoch unter diesen Umständen auf die Wiedergabe der zahlreichen Versuchsprotokolle und eine Besprechung der einschlägigen Literatur und wollen hier nur das Resultat unserer verschiedenen Versuchsreihen mitteilen.

Im ganzen haben wir über 100 Blutproben von 40 Pneumonikern untersucht, daneben eine ganze Reihe von Blutproben anderer Lungenkranker.

Als Versuchshypothese nahmen wir an, daß sich im Serum der Pneumoniker vor der Krisis Antigen, nach der Krisis Antikörper irgendwelcher Art vorfinden würden. Um diese angenommenen Stoffe nachzuweisen, mußten wir versuchen, uns Antigen und Antikörper in vitro herzustellen. Wir erwarteten dann folgendes Ergebnis: bei der Prüfung mit Antigen würde das vorkritische Serum negativ, das nachkritische positiv reagieren; d. h. das vorkritische Serum ist frei von Antikörpern, das nachkritische reich an diesen Stoffen.

Umgekehrt erwarteten wir bei der Prüfung mit Pneumokokkenantikörper: positive Reaktion des vorkritischen, negative des nachkritischen Serums, d. h. das vorkritische Serum enthält reaktionsfähiges Antigen, das nachkritische ist frei davon infolge der Absättigung durch die natürlichen Antikörper des Organismus.

1) Die einfachste Art und Weise der Prüfung schien uns die folgende: wir brachten vorkritisches und nachkritisches Serum des gleichen oder verschiedener Kranker miteinander in Reaktion und prüften mit Hilfe der Komplementbindungsmethode, ob eine spezifische Bindung eingetreten war. Im vorkritischen Serum hatten wir ja das Antigen, im nachkritischen die Antikörper zu erwarten.

Unter Innehaltung der notwendigen Kontrollen konnten wir in keinem Falle die Bindung von Komplement, also das Vorsichgehen einer Reaktion, feststellen. Auch bei Verwendung des Serums eines vorkritisch ad exitum gekommenen Patienten konnten wir keine Reaktion erzielen,

trotzdem man annehmen könnte, daß gerade hier eine Anreicherung des Antigens stattgefunden hätte. (Das Serum war durch Aderlaß etwa 6 Stunden ante mortem gewonnen worden.)

2) Wir benutzten als künstlichen Antikörper das Römersche Pneumokokkenserum, dessen Gehalt an spezifischen Ambozeptoren wir durch Vorversuche mit Pneumokokkenextrakten erweisen konnten. Auch auf diese Weise konnten wir niemals im vorkritischen oder etwa im nachkritischen Serum Antigen nachweisen. (Methode: Komplementbindung.)

3) Wir stellten uns einen Extrakt aus der Milz eines an Pneumonie Verstorbenen her und rechneten mit der Möglichkeit, hier eine der Antikörperproduktionsstätten des Körpers vor uns zu haben. Diese Rechnung war falsch; denn durch Bindungsversuche des Extraktes mit Römerserum und Pneumokokkenextrakt ergab sich, daß der Milzextrakt keine Antikörper, wohl aber antigenartig reagierende Substanzen enthielt. Die Komplementbindung war mit Römerserum positiv, mit Pneumokokkenextrakt negativ. Die Resultate, die uns der Milzextrakt mit Pneumoniker Serum gab, wollen wir gemeinschaftlich mit den Resultaten anderer Organextraktversuche besprechen (Abs. 4).

4) Wir stellten uns aus der Lunge eines eben an Pneumonie Verstorbenen (rote Hepatisation), Schüttelextrakte mit Alkohol und physiologischer Kochsalzlösung her (die letzteren wurden karbolisiert) und benutzten diese als Antigen, nachdem wir vorher festgestellt hatten, daß sie mit Römerserum zusammen Komplement binden.

Die alkoholischen Extrakte gaben niemals mit irgendeinem Pneumoniker Serum positive Reaktion, wohl aber nicht selten die wässerigen Extrakte. In einigen Fällen kam es zu einer vollständigen Hemmung der Hämolyse im Komplementbindungsversuche, in anderen nur zu teilweiser Behinderung (Kuppe, kleine Kuppe, Spur ungelöst), in wieder anderen Fällen trat komplette Lösung ein. Dabei schien es, als ob, entgegen der theoretischen Voraussetzung, die Reaktion häufiger im vorkritischen Stadium, namentlich im Beginn der Erkrankung, aufträte, nachkritisch dagegen seltener. Gerade diese Versuchsanordnung (Lungenextrakt — mensch-

liches Serum) ist von uns in den verschiedensten Variationen geprüft worden; besonders deshalb, weil wir im Anfang glaubten, mit unserem ersten wässerigen Extrakte brauchbare Ergebnisse erzielt zu haben. Wir machten Kontrollversuche mit Phthisiker-Lungen, normalen Lungen, normalen und Phthisiker-Seris usw. usw. Zu einem befriedigenden Resultate sind wir jedoch schließlich nicht gelangt. Das unregelmäßige Eintreten der Reaktion, die sehr ungleichmäßige Intensität, das Wechseln im Reaktionsausfall beim Serum des gleichen Kranken machen es verständlich, daß diese Reaktion weder für die Erklärung der Krisis, noch etwa seradiagnostisch für Pneumonie überhaupt verwertbar ist. Sie tritt auch nicht mit allen Extrakten gleichmäßig auf, ja sie wechselt, infolge der starken autolytischen Veränderungen der Extrakte, auch mit dem gleichen Extrakt. Sie trat ferner in einigen Fällen auch mit dem oben erwähnten Extrakt aus der Milz eines Pneumonikers ein, gleichfalls ohne jede Regelmäßigkeit, und sie war schließlich nicht selten positiv mit etwas älterem Extrakte aus normaler Lunge.

All das macht es wahrscheinlich, daß wir hier gar nicht vor einer spezifischen Reaktion stehen, sondern vor irgendwelchen physikalisch-chemischen Umsetzungen unbekannter Natur. Auf alle Fälle ist mit der Reaktion für die Erklärung der Krisis vorderhand nichts anzufangen.

5) Weiterhin benutzten wir als künstliches Antigen Extrakte von Pneumokokkenreinkulturen, die wir in erster oder zweiter Generation auf Glycerinagar gezüchtet hatten. Diese Extrakte reagierten mit Römerserum, nicht aber mit dem Serum von Pneumonikern, weder vor, noch nach der Krisis.

6) Eine letzte Versuchsreihe wurde so angestellt, daß wir den Schutzwert des Pneumonikerserums im Tierversuche feststellen wollten. Hier lagen ja seit den Arbeiten der Brüder Klemperer schon positive Erfolge vor. Wir benutzten die folgende Versuchsanordnung: von 5 weißen Mäusen erhielt

- die 1. 0,5 ccm Pneumonikersputum subkutan
- „ 2. 0,5 „ + 1,0 ccm antekritisches Pneumonikerserum subkutan
- „ 3. 0,5 „ + 1,0 „ postkritisches „ „
- „ 4. 1,5 „ antekritisches Pneumonikerserum subkutan
- „ 5. 1,5 „ postkritisches „ „

In den 6 verschiedenen Versuchen, die wir anstellten, konnten wir in keinem Falle eine ausgesprochene Schutzwirkung des nachkritischen Serums feststellen. Mitunter schien es, als ob das vorkritische Serum aggressiv wirkte, so daß das betreffende Tier schneller einging als die Kontrolltiere. Jedenfalls konnten wir ein solches Verhalten zweimal beobachten.

Diese Versuche beweisen natürlich nicht, daß dem Pneumonierekonvaleszenten Serum keine Schutzkräfte antitoxischer oder bakteriotroper Art innewohnen — dem widersprechen die positiven Befunde der Brüder Klemperer und anderer — sie beweisen nur, daß diese Schutzkräfte nicht regelmäßig nachweisbar sind, infolgedessen auch nicht zur Erklärung der Krisis herangezogen werden können. Auch Neufeld und Händel, die kürzlich Mitteilungen über Pneumokokkenimmunität machten, geben an, daß sie Schutzkörper im Serum von Pneumonierekonvaleszenten häufig gefunden hätten, aber nicht regelmäßig und in wechselnder Menge.

Zusammenfassung.

Es ist uns in den mitgeteilten Versuchen demnach nicht gelungen, einen Einblick in das Wesen der pneumonischen Krisis zu erlangen. Unsere Resultate liefern keinen experimentellen Beweis für ein Widerspiel von Antigen und Antikörper im Verlaufe der Pneumonie. Dadurch wird die bisher angenommene Erklärung der Krisis als das eruptive Auftreten von heilenden Antikörpern nicht umgestoßen. Wir sind vielmehr geneigt, anzunehmen, daß auch die Hilfsmittel der modernen biologischen Wissenschaft noch nicht ausreichen, den relativ einfachen Vorgang der Krisis experimentell zu ergründen.

Nachdruck verboten.

Ueber thermoreversible Zustandsänderungen der bei der Wassermannschen Reaktion verwendeten alkoholischen Leberextrakte.

Von Dr. **Blanck** (Potsdam) und Privatdozent Dr. **U. Friedemann**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Oktober 1909.)

Das Wesen der Wassermannschen Reaktion ist trotz vieler diesem Gegenstand gewidmeter Arbeiten bisher noch wenig geklärt. Es darf daher jede Beobachtung, welche dies Phänomen betrifft, theoretisches Interesse beanspruchen. Wir wollen im folgenden einige Befunde mitteilen, die wir an alkoholischen Extrakten luetischer Lebern gemacht haben und die uns für die Auffassung der bei der Reaktion sich abspielenden Vorgänge nicht ohne Bedeutung zu sein scheinen. Außerdem werden die im folgenden mitgeteilten Versuche vielleicht geeignet sein, einige auch von anderen Autoren beobachtete, praktisch nicht unwichtige Unregelmäßigkeiten bei der Verwendung alkoholischer Leberextrakte aufzuklären.

Von den verschiedensten Seiten ist die Beobachtung mitgeteilt worden, daß auch alkoholische Extrakte plötzlich unwirksam werden können oder an verschiedenen Tagen eine ungleiche Wirksamkeit zeigen. Zum Teil sind diese Befunde wohl durch die sehr interessante Beobachtung von Sachs und Rondoni aufgeklärt worden, daß bisher nicht beobachtete Kautelen bei der Verdünnung der alkoholischen Extrakte mit Kochsalzlösung das Ablenkungsphänomen sehr wesentlich modifizieren. Aus unseren Versuchen geht nun hervor, daß noch andere Faktoren bei der Anstellung der Wassermannschen Reaktion mit alkoholischen Extrakten eine wichtige Rolle spielen. Durch äußere Verhältnisse waren wir leider gezwungen, unsere Versuche vorzeitig abzubrechen. Wenn daher auch manches noch ungeklärt bleiben muß, so hoffen wir doch, daß die Mitteilung unserer Versuche die Aufmerksamkeit auf die von uns beobachteten eigentümlichen Erscheinungen lenken wird.

Im Sommer des Jahres 1908 verwandten wir zu den serologischen Untersuchungen einen Leberextrakt, der sich

stets als sehr brauchbar erwiesen hatte. Der Extrakt wurde im Eisschrank aufbewahrt, wurde aber täglich zur Vornahme der Untersuchungen herausgenommen und verblieb mehrere Stunden im Zimmer. Als die bisher benutzte Flasche aufgebraucht war, nahmen wir eine neue Flasche, die mit demselben alkoholischen Leberextrakt gefüllt und zu gleicher Zeit mit dem ersten Extrakt in den Eisschrank gestellt war. Merkwürdigerweise erwies sich dieser Extrakt als unbrauchbar, auch solchen Seris gegenüber, die mit dem ersten Extrakt ein positives Resultat geliefert hatten. Da der einzige Unterschied zwischen beiden Extrakten darin bestand, daß der zweite dauernd im Eisschrank gestanden hatte, während der andere täglich mehrere Stunden im Zimmer verblieben war, so kamen wir auf die Vermutung, daß der zweite Extrakt durch die niedrige Temperatur unwirksam geworden sei.

Es wurden deshalb die folgenden Versuche angestellt:

Versuch I.

Extrakt A (steht seit einigen Monaten im Eisschrank, identisch mit dem oben genannten zweiten Extrakt) gibt mit dem Serum X ein vollständig negatives Resultat, obwohl die Kontrolle mit sicher positivem Serum einwandfrei war. Da in diesem Fall die Diagnose auf manifeste sekundäre Lues feststand, so begnügten wir uns bei diesem Resultat nicht, sondern benutzten noch einen uns von Dr. Halberstädter liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellten alkoholischen Leberextrakt, der nun in der Tat in Mengen von 0,1 unter Anwendung von 0,2 des genannten Serums komplette Hemmung ergab.

Wir versuchten nun, ob es uns gelingen würde, den unwirksamen Extrakt wieder wirksam zu machen, wenn wir ihn längere Zeit in die Wärme stellten. Zu diesem Versuche wurden wir dadurch veranlaßt, daß der erste Extrakt offenbar dadurch, daß er öfters in das Zimmer verbracht worden war, seine Wirksamkeit behalten hatte. Da uns Serum X nicht mehr zur Verfügung stand, benutzten wir zu den weiteren Versuchen Serum Y, welches mit dem Extrakt (Halberstädter) vollständige Hemmung zeigte.

In der Tat stellte es sich heraus, daß der Extrakt A, nachdem er 3 Tage im Brutschrank bei 37° verweilt hatte,

mit Serum Y in Mengen von 0,2 und 0,1 komplette Hemmung ergab. Um nun zu sehen, ob die Aenderung in der Reaktionsfähigkeit des Extraktes auf die Temperaturänderung zurückzuführen war, wurde ein Teil des angewärmten Extraktes wieder in die Kälte zurückgebracht, und zwar verblieb er etwa 20 Stunden in einer aus Salz und Eis bestehenden Kältemischung. Nach dieser Behandlung war er wiederum gegenüber dem Serum Y absolut unwirksam geworden. Es wurde nun versucht, ob eine nochmalige Reaktivierung des Extraktes durch die Wärme möglich sei. Zu diesem Zweck wurde ein Teil des gekühlten Extrakts auf einen Tag in den Brutschrank bei 37° gesetzt, ein anderer Teil einige Minuten im Wasserbad auf 40° erwärmt. Beide Proben erwiesen sich als unwirksam. Ob nun der Extrakt durch den Aufenthalt in der Kältemischung seine Reaktivierungsfähigkeit eingebüßt hatte oder ob der nachfolgende Aufenthalt in der Wärme ein zu kurzer war, konnten wir leider nicht entscheiden, da uns ausreichende Mengen des Serum Y nicht mehr zur Verfügung standen.

Aus diesem Versuch geht mit Sicherheit hervor, daß ein an sich wirksamer Extrakt durch eintägigen Aufenthalt in der Kälte unwirksam gemacht werden kann. Damit erklärt sich auch die merkwürdige Beobachtung des Unwirksamwerdens unseres aktiven Extrakts im Eisschrank. Weiter scheint uns aber aus unseren Versuchen hervorzugehen, daß durch Aufwärmen der Extrakt wieder wirksam gemacht werden kann. Hierfür spricht 1) der Umstand, daß unser erster Extrakt bloß durch den öfteren Transport in das Zimmer wirksam geblieben war, 2) die Wirksamkeit des 3 Tage im Brutschrank erwärmten Extrakts gegenüber dem Serum Y, nachdem derselbe vorher gegenüber Serum X vollständig versagt hatte und auch nach eintägigem Aufenthalt in der Kältemischung gegenüber Serum Y wieder vollständig unwirksam geworden war. Es liegt also hier anscheinend ein reversibles thermisches Phänomen vor¹⁾.

1) Wir bemerken, daß wir bei allen unseren Versuchen das von Sachs und Altman beobachtete Verdünnungsphänomen berücksichtigt und uns an die von diesen Autoren gegebenen Vorschriften bei der Verdünnung der Extrakte gehalten haben. Irgendein konstanter Zusammenhang des Verdünnungsphänomens mit dem unsrigen war nicht zu beobachten.

Die nächste Aufgabe war es nun natürlich, zu untersuchen, wie weit die hier erhobenen Befunde für andere Sera und Extrakte Gültigkeit haben würden.

Versuch II.

Von dem im vorigen Versuch verwandten ursprünglichen Extrakt verbleibt eine Portion (Extrakt K) 8 Tage in Kältemischung, eine andere Portion (Extrakt W) verbleibt die gleiche Zeit im Zimmer.

Tabelle I.

Serum	Unfiltrierter Extrakt	Komplement	Ambozeptor	5-proz. Hammelblut	Resultat
Lejeune 0,2	W 0,2	0,1	0,0025	1 ccm	0
" 0,2	K 0,2	0,1	0,0025	1 "	wenig
" 0,4	—	0,1	0,0025	1 "	komplett
" 0,2	—	0,1	0,0025	1 "	"
—	W 0,4	0,1	0,0025	1 "	0
—	W 0,2	0,1	0,0025	1 "	Spur
—	K 0,4	0,1	0,0025	1 "	0
—	K 0,2	0,1	0,0025	1 "	komplett
—	—	0,1	0,0025	1 "	"

Auch in diesem Versuch erweist sich der Kälteextrakt schwächer als der Wärmeextrakt, wenn auch die Unterschiede gering sind.

Das Serum Lejeune war, wie ein Vergleich mit anderen Seren ergab, ein schwaches Serum und war, auch dem Wärmeextrakt gegenüber, nach mehrwöchentlicher Aufbewahrung in der Menge von 0,2 unwirksam geworden. Bei Anwendung größerer Dosen Serum gelang es aber auch hier noch, das von uns beobachtete Phänomen hervorzurufen.

Tabelle II.

Serum	Extrakt	Komplement	Ambozeptor	5-proz. Hammelblut	Resultat
Lejeune 0,65	W 0,2	0,1	0,0025	1 ccm	0
" 0,65	K 0,2	0,1	0,0025	1 "	komplett
" 0,65	—	0,1	0,0025	1 "	"
" 0,4	W 0,2	0,1	0,0025	1 "	"
" 0,4	K 0,2	0,1	0,0025	1 "	"
" 0,3	W 0,2	0,1	0,0025	1 "	"
" 0,3	K 0,2	0,1	0,0025	1 "	"
" 0,2	W 0,2	0,1	0,0025	1 "	"
" 0,2	K 0,2	0,1	0,0025	1 "	"
—	—	0,1	0,0025	1 "	0
—	—	—	0,0025	1 "	0

Andererseits stellten wir fest, daß stark positive Sera sowohl mit dem Wärmeextrakt wie mit dem Kälteextrakt komplette Hemmung ergaben, auch wenn wir mit der Menge des Serums herabgingen. Es zeigte sich aber, daß auch hier das Phänomen zu erzielen ist, wenn die Menge des Extraktes verringert wird. Ein solches Verhalten ist ersichtlich aus dem folgenden Versuch (III), zu dem wir einen neuen alkoholischen Leberextrakt (Extrakt B) benutzten.

Versuch III.

Von dem kalten Extrakt¹⁾, der 5 Tage eingefroren war, benutzten wir nur die oben stehende klare Flüssigkeit.

Tabelle III.

Serum	Extrakt B	Komplement	Ambozeptor	Hammelblut	Resultat
Schmidt 0,1	W 0,025	0,1	0,006	1 ccm	0
„ 0,1	K 0,025	0,1	0,006	1 „	0
„ 0,1	W 0,0125	0,1	0,006	1 „	0
„ 0,1	K 0,0125	0,1	0,006	1 „	Spur
„ 0,1	W 0,0062	0,1	0,006	1 „	0
„ 0,1	K 0,0062	0,1	0,006	1 „	komplett
—	W 0,05	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,05	0,1	0,006	1 „	„
—	W 0,025	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,025	0,1	0,006	1 „	„
—	W 0,0125	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,0125	0,1	0,006	1 „	„
—	W 0,0062	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,0062	0,1	0,006	1 „	„
—	—	0,1	0,006	1 „	„
—	—	—	0,006	1 „	0

Ein Teil des in diesem Versuch benutzten kalten Extrakts wurde nun für 3 Tage in den Brutschrank gestellt und nach dieser Zeit mit dem inzwischen in der Kälte verbliebenen Rest des Extraktes verglichen.

1) Der kalte Extrakt wurde benutzt, nachdem der in der Kälte ausgefallene Niederschlag abfiltriert war. Das Unwirksamwerden in der Kälte auf die Anwesenheit dieses Niederschlages zurückzuführen (Sachs), dürfte also nicht in allen Fällen zulässig sein.

Tabelle IV.

Serum	Extrakt B	Kom- plement	Ambozeptor	Hammelblut	Resultat
Schmidt 0,1	W 0,025	0,1	0,006	1 ccm	0
„ 0,1	K 0,025	0,1	0,006	1 „	sehr wenig
„ 0,1	W 0,0125	0,1	0,006	1 „	stark
„ 0,1	K 0,0125	0,1	0,006	1 „	komplett
„ 0,1	W 0,006	0,1	0,006	1 „	„
„ 0,1	K 0,006	0,1	0,006	1 „	„
—	W 0,2	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,2	0,1	0,006	1 „	„
—	W 0,1	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,1	0,1	0,006	1 „	„
—	W 0,05	0,1	0,006	1 „	„
—	K 0,05	0,1	0,006	1 „	„
—	—	0,1	0,006	1 „	„
—	—	—	0,006	1 „	0

Dieser Versuch ergibt, daß in der Tat der in der Wärme aufbewahrte Extrakt wieder wirksam geworden ist, wenn er auch nicht die ursprüngliche Stärke erreicht hat.

Wir haben noch eine größere Reihe von Extrakten untersucht und dabei festgestellt, daß die beschriebenen Erscheinungen nicht bei allen zu beobachten sind. Bisweilen war ein Unterschied zwischen Wärme- und Kälteextrakt überhaupt nicht zu beobachten, in einem Falle schien es sogar, als ob der in der Kälte aufbewahrte Extrakt eine Spur wirksamer gewesen wäre als der Wärmeextrakt. Es liegen hier also anscheinend komplizierte Verhältnisse vor, für die eine Erklärung zu geben zur Zeit unmöglich ist. Jedenfalls glauben wir aber, daß es bei der Untersuchung einer Reihe von Extrakten stets gelingen wird, die eine oder andere der von uns beobachteten Erscheinungen zu reproduzieren.

Fassen wir noch einmal unsere wesentlichen Resultate zusammen, so ergibt sich, daß eine Reihe von luetischen alkoholischen Leberextrakten in der Kälte seine Wirksamkeit verliert, ohne daß es möglich wäre, diese Erscheinung durch die Gegenwart eines in der Kälte auftretenden Niederschlages zu erklären. Durch einen längeren Aufenthalt in der Wärme können diese Extrakte (auch nach Abfiltrieren des Niederschlages) wieder wirksam gemacht werden. Nach den Be-

obachtungen von Porges, Sachs und Altmann etc. scheint es berechtigt, das Zustandekommen des Wassermannschen Phänomens mit dem kolloidalen Zustande der luetischen Extrakte in Zusammenhang zu bringen. Es ist wohl das Wahrscheinlichste, daß die alkoholischen Extrakte in der Wärme und in der Kälte langsam verlaufende und reversible Zustandsänderungen durchmachen, durch welche die physikalische Beschaffenheit der bei dem Vermischen mit Kochsalzlösung entstehenden Emulsionen in irgendeiner Weise geändert wird.

Das von uns beobachtete Phänomen dürfte insofern von nicht geringer praktischer Bedeutung sein, als es gerade in zweifelhaften Fällen in die Erscheinung treten wird. Es empfiehlt sich daher, alkoholische Extrakte nicht im Eisschrank oder gar in Kältemischung, sondern in einem warmen Zimmer aufzubewahren.

Zusammenfassung.

1) Eine Reihe alkoholischer Extrakte luetischer Lebern wird durch den Aufenthalt in der Kälte untauglich für die Wassermannsche Reaktion.

2) Dieses Unwirksamwerden kann nicht durch die Gegenwart eines in der Kälte entstehenden Niederschlages erklärt werden.

3) In einem Teil der Fälle gelingt es, durch mehrtägigen Aufenthalt im Brütschrank die Extrakte wieder wirksam zu machen.

4) Alkoholische Extrakte dürfen nicht im Eisschrank aufbewahrt werden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien und dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie.
(Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.)]

Ueber passive Anaphylaxie (Serumanaphylaxie).

Von **A. Biedl** und **R. Kraus**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Oktober 1909.)

Nicolle, Gay und Southard haben zuerst die wichtige Tatsache festgestellt, daß mittels Serum aktiv sensibilisierter Tiere auch gesunde passiv sensibilisiert werden können. Aber erst die grundlegenden Untersuchungen Ottos haben unsere Kenntnisse über passive Anaphylaxie erweitert.

Otto konnte zeigen, daß im Serum aktiv sensibilisierter Tiere spezifische Antikörper (anaphylaktischer Reaktionskörper, Sensibilisin Besredkas) entstehen, welche auf gesunde übertragen diese zu sensibilisieren vermögen.

Dieser Antikörper reagiert nach Otto weder *in vivo* noch *in vitro* direkt mit dem Antigen. Otto, Rosenau und Anderson zeigten nämlich, daß dieser Antikörper gesunde Tiere nicht sofort sensibilisiert, sondern erst nach 24 Stunden. Otto nimmt deswegen an, „daß, um die Ueberempfindlichkeit zu erzeugen, eine gewisse Verteilung dieser Körper im Organismus und eine Verankerung derselben an die Körperzellen der Tiere stattgefunden haben muß, ehe die Reaktionsfähigkeit der letzteren gegenüber dem normalen Serum (i. e. Antigen) geändert wird.“

Diese Folgerung, daß der Antikörper mit dem Antigen erst durch Vermittlung des Organismus reagieren und beide *in vitro* gar keine Beziehung zueinander haben sollten, widerspricht allen bisher gekannten Feststellungen. Alle Antikörper, die wir bisher kennen, reagieren mit dem zugehörigen Antigen schon *in vitro*. Nur bei der Anaphylaxie hätten wir es demnach mit Verhältnissen zu tun, welche ohne Analogie dastehen. Es mußte also vor allem geprüft werden, ob diese Verhältnisse allgemein gültig sind.

8*

Daß zur Erzeugung der passiven Anaphylaxie der Intervall von 24 Stunden zwischen Injektion des Reaktionskörpers und Reinjektion des Antigens nicht unbedingt notwendig sei, wie Otto angibt, geht bereits aus einigen vorliegenden Angaben hervor. So sagt schon Richet, daß beim Mytilokongestin die Uebertragung des anaphylaktischen Zustandes erst nach 2 Tagen in Erscheinung tritt, während beim Aktinokongestin die passive Ueberempfindlichkeit schon nach einer bis zwei Stunden vorhanden sein kann. Doerr und Russ berichten über Versuche, in welchen die intravenöse Injektion von Rinderserum bei sensibilisierten Meerschweinchen schon nach 50 Minuten bis 2 Stunden leichte Symptome, nach 4 Stunden tödliche Anaphylaxie hervorrief. Weil, Hallé und Lemaire haben sogar bei getrennter gleichzeitiger Injektion von Antipferdeserum (von Kaninchen) und Pferdeserum schwere anaphylaktische Symptome beobachtet.

In letzter Zeit haben Richet¹⁾, Friedemann²⁾ Versuche mitgeteilt, aus welchen hervorgeht, daß Reaktionskörper und Antigen in vitro bereits, ohne vorherige Vermittlung des Organismus, miteinander reagieren können. Die Mischung, die bisher allgemein als ungiftig gegolten hat, kann sofort nach der Injektion den anaphylaktischen Shock bei gesunden Tieren auslösen. Richets Versuche beziehen sich auf Anaphylaxie mit Krepilin, einem Antigen pflanzlichen Ursprungs, Friedemanns Versuche betreffen die Serumanaphylaxie und Blutanaphylaxie. Friedemann kommt auf Grund der Versuche an Kaninchen zu dem Schluß, daß die passive Uebertragung der Serumanaphylaxie besser gelingt, wenn anaphylaktisches Serum und Antigen gemischt injiziert werden, als wenn Serum vorher injiziert wird.

Um diese strittige Frage zu klären, haben wir Versuche an Meerschweinchen angestellt, bei welchen die passive Anaphylaxie ebenso eindeutige Resultate liefert wie die aktive. Mit Rücksicht auf früher mitgeteilte Erfahrungen³⁾ bezüglich der passiven Uebertragbarkeit der Anaphylaxie an Kaninchen

1) Compt. rend. de Soc. Biol., 1909.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.

3) Kraus und Novotný, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.

haben wir zunächst von Versuchen an Kaninchen Abstand genommen.

Versuche an Meerschweinchen mit Serum von aktiv mit Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen (40 Tage nach der Pferdeseruminjektion entblutet).

a) Meerschweinchenserum + Pferdeserum gemischt.

- 3,0 Serum + 1 Pferdeserum gemischt, intrav. ges. M., sofort schwere Erscheinungen, Krämpfe, erholt sich nach längerer Zeit.
- 2,0 Serum + 1 Pferdeserum gemischt, intrav. ges. M., sofort Erscheinungen, erholt sich.
- 1,0 Serum + 1 Pferdeserum gemischt, intrav. ges. M., keine Erscheinung.

b) Vorher Meerschweinchenserum, nachher Pferdeserum.

- 3,0 Serum intrav. ges. M., nach 15' 1,0 Pferdeserum intrav., keine Erscheinung.

c) Pferdeserum, nachher Meerschweinchenserum.

- Zuerst 2,0 norm. Pferdeserum, nach 10' intrav. 2,0 Meerschweinchenserum, ges. M., keine Erscheinung.

d) Injektion von Meerschweinchenserum + Pferdeserum, Reinjektion mit demselben Gemisch.

- 1) 4,0 defibr. Blut + 1,0 Pferdeserum intrav. ges. M., sofort Erscheinung, erholt sich,
nach 40' 2,0 Serum + 1,0 Pferdeserum intrav. ges. M., keine Erscheinung.
- 2) 3,0 Serum + 1,0 Pferdeserum intrav. ges. M., sofort schwere Erscheinung, erholt sich,
nach 30' 2,0 Serum + 1,0 Pferdeserum intrav., keine Erscheinung.
- 3) 2,0 Serum + 1,0 Pferdeserum intrav. ges. M., sofort Erscheinung, erholt sich,
nach 24 Std. 1,0 Pferdeserum intrav., keine Erscheinung.
- 4) 1,0 Serum + 1,0 Pferdeserum intrav. ges. M., keine Erscheinung.
nach 15' 2,0 Serum + 1,0 Pferdeserum intrav., keine Erscheinung.

e) Getrennte Injektion von Meerschweinchenserum, Pferdeserum, Reinjektion nach 24 Std. mit Pferdeserum.

- 1) 3,0 Serum intrav., nach 15' Pferdeserum intrav., nach 24 Std. 1,0 Pferdeserum, keine Erscheinung.
- 2) 2,0 Pferdeserum intrav., nach 10' 2,0 Serum intrav., nach 24 Std. 1,0 Pferdeserum, keine Erscheinung.

Aus den Versuchen sub a ergibt sich, daß gewisse Mengen eines Serums von Meerschweinchen, die vor einiger Zeit mit Pferdeserum vorbehandelt waren, schon *in vitro* mit Pferdeserum gemischt, im Organismus gesunder Tiere **sofort** typische Erscheinungen der Anaphylaxie auszulösen imstande sind. Wird aber der Reaktionskörper oder das Antigen vorher injiziert und 10 bis 15 Minuten danach Antigen oder Reaktionskörper (Versuch b und c), dann treten keine Erscheinungen der Anaphylaxie auf. Die Antianaphylaxie läßt sich bei den Tieren, die auf das Gemisch mit anaphylaktischen Erscheinungen reagiert haben, schon nach 30 Minuten und noch nach 24 Stunden nachweisen (d). Das bei gesunden Tieren wirksame Gemisch erweist sich bei diesen Tieren unwirksam.

Die Antianaphylaxie fehlt aber auch bei jenen Tieren nicht, welche Antigen und Reaktionskörper getrennt erhielten (Intervall 10—15 Minuten) und keine Erscheinungen gezeigt haben (e).

Daß ohne nachweisbare klinische Symptome Antianaphylaxie zustande kommen kann, zeigt auch der Versuch, in welchem 1 ccm + Serum 1 Antigen (Versuch d sub 4) keine Anaphylaxie auslöst, wohl aber bereits Antianaphylaxie bedingt. Diese letzteren Versuche reihen sich an die Versuche Besredkas über Erzeugung der Antianaphylaxie bei aktiv sensibilisierten Tieren an.

Diese Versuchsreihen lehren also, daß der Reaktionskörper nicht erst längere Zeit im Organismus verweilen muß, bevor es zur Sensibilisierung kommt. Der Reaktionskörper mit dem Antigen *in vitro* gemischt und intravenös injiziert kann im Organismus sofortige Erscheinungen der Anaphylaxie auslösen. Die Wirksamkeit des Gemisches muß allerdings nicht immer eintreten. Auch wir hatten sehr oft Sera von sensibilisierten Tieren (Meerschweinchen, Kaninchen), die gesunde Meerschweinchen erst nach 24 Stunden sensibilisierten, die *in vitro* mit dem Antigen gemischt und intravenös injiziert im Organismus entweder gar keine Symptome der Anaphylaxie oder nur sehr geringe Erscheinungen hervorzurufen imstande waren.

Allerdings kommt es auch vor, daß das Serum von aktiv sensibilisierten Meerschweinchen in Mengen von 1—3 ccm passive Anaphylaxie in der üblichen Zeit von 24 Stunden nicht zu erzeugen imstande war.

Bemerkenswert wäre noch, daß nur die Gemische sich als wirksam erwiesen haben, während die Injektion von Reaktionskörper und Antigen nach einem Intervall von 10—60 Minuten unwirksam war. Wohl konnten wir aber die Beobachtung von Weil, Hallé und Lemaire bestätigt finden, daß eine gleichzeitige und getrennte intravenöse Injektion von Reaktionskörper und Antigen wirksam sein können.

Ueber Aktivierung des anaphylaktischen Reaktionskörpers durch Passage.

Die Beobachtungen, daß einerseits der anaphylaktische Reaktionskörper einmal, mit dem Antigen in vitro gemischt, sofort im Organismus Anaphylaxie auslöst, daß andererseits häufig erst längere Zeit nach Einverleibung des Reaktionskörpers in den Organismus die Injektion des Antigens zur Anaphylaxie führt, legten den Gedanken an eine Aktivierung durch Passage nahe. Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß ein in vitro unwirksames Gemisch auch durch Zusatz von Meerschweinchenserum und nach einstündigem Aufenthalt bei 37° ungiftig bleibt, gingen wir daran, zu versuchen, den Reaktionskörper im Organismus zu aktivieren.

Die folgenden Versuche lehren, daß ein in vitro unwirksamer Antikörper durch den Organismus (Meerschweinchen, Hund) derart wirksam gemacht werden kann, daß die früher unwirksame Mischung mit Antigen sofort giftig wirkt und Anaphylaxie auslöst.

Versuch mit Serum von aktiv sensibilisierten Meerschweinchen (mit Pferdeserum seit 2 Monaten vorbehandelt) an gesunden Meerschweinchen.

a) Serum + Pferdeserum gemischt.

	Serum	+ 1	Pferdeserum	intravenös	ges. Meerschw.	keine	Erscheinung
3	Serum	+ 1	Pferdeserum	intravenös	ges. Meerschw.	keine	Erscheinung
4	"	+ 1	"	"	"	"	"
5	"	+ 1	"	"	"	"	"
4	Vollblut	+ 1	"	"	"	"	"

b) Serum wird peritoneal gesunden Meerschweinchen injiziert, 1 Stunde später werden die Tiere entblutet, deren Serum + Pferdeserum gesunden Meerschweinchen intravenös injiziert.

- 1) 3 Serum peritoneal ges. Meerschw., nach 1 Std. entblutet, dessen def. Blut 4,0 + 1 Pferdeserum ges. Meerschw.: sofort Erscheinung.
 - 3 Serum peritoneal ges. Meerschw., nach 1 Std. entblutet, dessen def. Blut 4,0 + 1 Pferdeserum ges. Meerschw.: sofort Erscheinung.
 - 2 Serum peritoneal ges. Meerschw., nach 1 Std. entblutet, dessen def. Blut 4,0 + 1 Pferdeserum: sofort Erscheinung.
- Kontrolle: 4 Blut von den mit Reaktionskörp. injizierten Meerschweinchen intravenös gesunden Meerschw.: keine Erscheinung.
- 2) 5 Serum peritoneal ges. Meerschw., nach 2 $\frac{1}{2}$ Std. entblutet, 3 Serum + 1 Pferdeserum ges. Meerschw.: sofort Erscheinung.

c) Serum peritoneal gesunden Meerschweinchen, nach 1 Stunde Pferdeserum.

3 Serum nach 1 Std. intravenös	1,0	Pferdeserum:	keine	Erscheinung
5 " " 1 " "	1,0	" "	" "	" "

Wir sehen also, daß ein in vitro mit Antigen gemischt unwirksamer Reaktionskörper (Versuch a) durch Passage im Organismus des Meerschweinchens derart verändert wird, daß die früher unwirksame Mischung mit Antigen jetzt sofortige Erscheinungen der Anaphylaxie beim gesunden Meerschweinchen auslöst (Versuch b). Noch eine Tatsache verdient Erwähnung, aus welcher hervorgeht, daß der durch einstündige Passage wirksam gewordene Antikörper mit dem Antigen nur in vitro reagiert, nicht aber im Organismus (Versuch c). Diese Tatsache erinnert an die von Otto gemachte Beobachtung, aus welcher hervorgeht, daß bei aktiv sensibilisierten Tieren bereits nach 8 Tagen der Reaktionskörper nachweisbar sein kann, ohne daß die Tiere selbst bei Reinjektion reagieren. Früher wurde auch noch darauf hingewiesen, daß auch ein umgekehrtes Verhalten beobachtet werden kann. Aktiv sensibilisierte Meerschweinchen reagierten bei der Reinjektion anaphylaktisch, ihr Serum war nicht imstande, selbst in Mengen von 4 ccm gesunde Meerschweinchen nach 24 Stunden zu sensibilisieren.

Die Resultate, gewonnen mit Kaninchenserum, decken sich vollkommen mit denjenigen, welche mit Meerschweinchenserum erhalten wurden. Auch der von sensibilisierten Kaninchen stammende Antikörper,

welcher *in vitro* unwirksam ist, kann durch Passage im Meerschweinchen derart aktiviert werden, daß nach Mischung mit dem Antigen sofort die Erscheinungen der Anaphylaxie auftreten. Zu bemerken wäre nur, daß diese Tiere, trotzdem sie schwere Erscheinungen der Anaphylaxie darbieten, nicht zugrunde gehen¹⁾.

Aber nicht nur Serum von sensibilisierten Meerschweinchen und Kaninchen läßt sich durch Meerschweinchen aktivieren, sondern es gelingt mittels Passage durch Hunde ebenso die Reaktionskörper mit Serum von aktiv sensibilisierten Meerschweinchen aktiv zu machen.

Versuch mit Serum von mit Pferdeserum vorbehandelten Meerschweinchen an gesunden Hunden.

1. Versuch. 10 ccm defibriertes Meerschweinchenblut werden peritoneal gesunden Hunden injiziert; nach 48 Stunden wird zuerst Blut entnommen, und der Hund zeigt bei Reinjektion mit Pferdeserum keine Symptome der Anaphylaxie, auch keine Blutdrucksenkung.

10 ccm Blut (intravenös vor der Reinjektion) + 10 ccm Pferdeserum intravenös gesunden Hunden, nach 40" Drucksenkung, starke Atembeschleunigung.

2. Versuch. 10 ccm defibriertes Meerschweinchenblut werden peritoneal gesunden Hunden injiziert; nach 48 Stunden wird zuerst Blut entnommen. Der Hund zeigt bei Reinjektion mit Pferdeserum keine Symptome der Anaphylaxie, auch keine Blutdrucksenkung.

10 ccm Blut (intravenös vor der Reinjektion) + 10 ccm Pferdeserum intravenös gesunden Hund, ca. nach 70" starke Atembeschleunigung, typische Drucksenkung, welche von wiederholten Aufregungsattacken unterbrochen wird.

Diese Versuche zeigen, daß ein *in vitro* mit Antigen gemischter unwirksamer Reaktionskörper auch durch heterologe Passage wirksam gemacht werden kann. Das Gemisch ist aber nur giftig für Hunde, auf gesunde Meerschweinchen übertragen, ist es unwirksam.

Die Bedingungen, unter welchen der Reaktionskörper mit dem Antigen schon *in vitro* reagiert und eine Aktivierung

1) Es ist bei diesen Versuchen auf die Giftigkeit des Kaninchenserums für Meerschweinchen Rücksicht zu nehmen.

des Reaktionskörpers durch Passage eintritt, sind bisher völlig unbekannt. Ob nur gewisse Sera in einem gewissen Stadium der aktiven Sensibilisierung *in vitro* aktiv sein können oder sich im Organismus aktivieren lassen, kann nur durch neue Versuche ermittelt werden.

Solange solche nicht vorliegen, können wir nur auf gewisse Analogien in der Immunitätslehre hinweisen, welche die hier beschriebenen Erscheinungen unserem Verständnis näher bringen könnten.

Aus den Arbeiten von Kraus und seinen Mitarbeitern wissen wir, daß die Intensität der Bindungsfähigkeit der Antitoxine (Avidität zum Toxin) äußerst variabel sein kann und Variationen unterliegt.

Wir erinnern z. B. nur daran, daß die normalen Antitoxine gegen die Vibriontoxine erst nach längerer Bindungszeit mit dem Toxin sich verbinden, daß demgegenüber Immunitoxine *in vitro* sofort nach Mischung mit Toxin wirksam sein können. Weiter sei noch angeführt, daß die *in vitro* sofort nach Mischung wirksamen Antitoxine bei getrennter gleichzeitiger Injektion der Toxine *in vivo* versagen können. In einer anderen Immunisierungsperiode können sie sich bei dieser Applikationsart als wirksam erweisen. Durch diese Untersuchungen, sowie solche, die Müller an Agglutininen ausgeführt hat, ist gezeigt worden, daß die Intensität der Bindungsfähigkeit der Antikörper zu den zugehörigen Antigenen äußerst variabel sein kann. Ähnliche Verhältnisse könnten vielleicht auch für den anaphylaktischen Reaktionskörper gelten¹⁾. Auch Friedemann will die Resultate seiner Versuche durch Aviditätsverschiedenheit erklären.

Zusammenfassung.

1) Der anaphylaktische Reaktionskörper kann bereits *in vitro* mit dem Antigen reagieren, so daß sofort nach In-

1) Ob auch andere Antikörper, wie z. B. Agglutinine, Antitoxine, möglicherweise durch Passage im Organismus in ihrer Avidität erhöht werden dürften, sollen diesbezügliche Versuche lehren.

jektion des Gemisches bei gesunden Tieren Erscheinungen der Anaphylaxie auftreten.

2) Die mit dem Gemisch injizierten Meerschweinchen, die sofortige Erscheinungen der Anaphylaxie gezeigt haben, reagieren auf eine zweite Injektion des Gemisches nicht, sie sind demnach antianaphylaktisch.

3) Die nach kurzer Zeit hintereinander erfolgte Injektion des Reaktionskörpers und des Antigens ist unwirksam, gleichzeitig und getrennt injiziert, ist sie wirksam.

4) Sensibilisierte Tiere, die keine objektiv wahrnehmbaren Symptome der Anaphylaxie darbieten, können trotzdem anti-anaphylaktisch sein.

5) Ein im Gemisch unwirksames Serum von aktiv sensibilisierten Meerschweinchen kann nach ein- und mehrstündiger Passage durch Meerschweinchen derart verändert werden, daß die Mischung mit dem Antigen bei gesunden Meerschweinchen sofort Erscheinungen der Anaphylaxie hervorruft.

6) Hunde können mittels Serum von sensibilisierten Kaninchen und Meerschweinchen passiv sensibilisiert werden.

Serum von derart sensibilisierten Tieren kann mit Antigen bereits *in vitro* reagieren, so daß das Gemisch sofort bei Hunden, nicht aber bei Meerschweinchen Anaphylaxie auslöst.

7) Die bisherige Ausdrucksweise passive Sensibilisierung entspricht nach dem Vorangehenden nicht dem wirklichen Mechanismus der Wirkungsweise des Serums. Nach den vorliegenden Versuchen wird wahrscheinlich nur der Reaktionskörper durch Vermittlung des Organismus aktiviert.

Nachdruck verboten.

[Aus dem staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien:
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Zur Wirkungsweise des Dysenterieserums.

Von Dr. **St. Bächer** und Dr. **M. Laub**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Oktober 1909.)

Einleitung.

Trotz der vielfachen und gründlichen Bearbeitung der Dysenteriefrage in den letzten Jahren stehen sich die Ansichten bezüglich der Natur des Dysenteriegiftes und dementsprechend auch über die Wirkungsart der Immunsera ziemlich schroff gegenüber.

Shiga und Kruse haben zuerst Heilsera gegen Dysenterie dargestellt, die sich bei der Behandlung der Ruhr als wirksam erwiesen hatten. Beide Autoren sahen die Ursache der Wirksamkeit ihrer Sera in ihrer hohen bakteriziden Kraft.

Todd, Rosenthal und Kraus konnten unabhängig von einander den Nachweis von echten Toxinen in den Bouillonfiltraten, die für Kaninchen stark giftig wirkten, erbringen und mit diesen Giften Sera darstellen, welche spezifische antitoxische Eigenschaften besitzen. Vaillard, Dopter und Doerr haben weiterhin mit diesen Giften ein der menschlichen Ruhr völlig analoges Krankheitsbild bei Kaninchen hervorrufen können. Auf diese, durch überaus zahlreiche experimentelle Untersuchungen gestützten Beobachtungen bauten Rosenthal, Kraus und Doerr ihre ätiologische Therapie der Ruhr vom Typus Shiga-Kruse auf. Das von ihnen dargestellte Serum vermochte sowohl das Gift *in vitro* zu neutralisieren, als auch prophylaktisch und kurativ im Organismus zu wirken, und hat sich auch in der Praxis bei einzelnen Epidemien bewährt.

Die Auffassung der Dysenterie als Toxikose nach Kraus und Doerr steht im Gegensatz zu den Anschauungen Shiga-Kruses und in letzter Zeit Pfeiffers. Bei den in den Filtraten älterer Ruhrkulturen nachgewiesenen toxischen Substanzen handelt es sich nach Pfeiffer wahrscheinlich auch

nur um durch Autolyse freigewordene und zum Teil bereits stark abgebaute Endotoxine, wenngleich einzelne Stämme auch echte Toxine sezernieren mögen. Auch die nach verschiedenen Methoden aus Massenkulturen gewonnenen giftigen Substanzen sind als Endotoxine — wenn auch durch das angewandte Verfahren verändert — zu betrachten. Die Wirkung des Serums gegen diese Stoffe ist nach Pfeiffer keine antitoxische, sondern beruht auf verzögerter Giftresorption unter dem Einfluß des Serums.

In jüngster Zeit haben Pfeiffer und Ungermann auf Grund von Versuchen mit dem Krausschen Dysenterieserum dessen antitoxische Wirkung gegenüber dem Kaninchengift anerkannt, gleichwohl gelangen sie zu dem Schluß, daß die günstige Wirkung des Serums auf den Verlauf der Ruhr nicht auf ein darin enthaltenes Antitoxin, sondern auf seine antiinfektiösen Eigenschaften zu beziehen ist.

Um die Wirkungsweise des in unserem Institute durch Behandlung von Pferden mit Bouillonfiltraten von Shiga-Kruse-Stämmen erzeugten und in der praktischen Anwendung bewährten Dysenterieserums endgültig klarzustellen, haben wir auf Veranlassung von Prof. Kraus den Gehalt des Dysenterieserums an antiinfektiösen (bakteriziden, bakteriotropen), komplementbindenden und antitoxischen Substanzen festzustellen versucht.

I. Antiinfektiöse Wirkung des Dysenterieserums.

Die antiinfektiösen Eigenschaften des Dysenterieserums wurden nach der von Kraus und Bächer bei Meningokokkenserum vorgeschlagenen Methode geprüft. Nachdem in Vorversuchen (Tabelle I) die geeignete Dosis Bakterienaufschwemmung ausgewertet war, wurde sie (Tabelle II—IV), mit Serum *in vitro* gemischt, einer Reihe von Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Das nach verschiedenen Zeiten entnommene Exsudat wurde auf Agarplatten verstrichen.

Tabelle I.

24. II. 09. Auswertung der für den intraperitonealen Versuch geeigneten Bakterienmenge.

Bakterienaufschwemmung: 5 ccm Bouillon pro 48^b Agarkultur von Dysenterie Flexner und Müller (Shiga-Kruse).

Bakterienaufschwemmung + Bouillon ad 2,0 ccm Meerschweinchen intraperitoneal, nach verschiedenen Zeiten Entnahme von Exsudat mit Kapillaren; je 2 Tropfen auf eine Agarplatte verstrichen.

Stamm	Menge	Meerschw.	Verlauf	nach 2 ^h	nach 5 ^h	nach 8 ^h	nach 24 ^h	
Flexner	2,0	728	} † nach 24 ^h nach 6 ^h krank	∞	∞	∞	—	
	1,0	907					—	
	0,5	836					—	
	0,3	746					—	
	0,1	975					∞	
	0,005	978					zahlreich	
Müller	2,0	946	} † nach 24 ^h	∞	∞	∞	—	
	1,0	970					—	
	0,5	439					∞	
	0,2	47					wenig zahlr.	spärlich
	0,05	590					zahlr.	einzel

Tabelle II.

8. III. 09. Peritonealversuch.

Bakterienaufschwemmung + Serum resp. Bouillon ad 1,0 ccm in vitro gemischt, 1^h bei Zimmertemperatur, dann Meerschweinchen intraperitoneal, je 2 Tropfen Exsudat auf Agarplatten verstrichen.

Sera: Leutnant } Kruse-Shiga- Klar-Flexner-Immunsere.

Nimrod } Immunsere Lorenz-Kontrollserum (Meningokokken).

Serum	+ 0,1 Dysent. Flexner	nach 3 ^h	nach 6 ^h	nach 24 ^h	Verlauf	+ 0,5 Dysent. Müller	nach 3 ^h	nach 6 ^h	nach 24 ^h	Verlauf
0,5 Bouillon	439	∞	∞	zahlr.	überleben	899	∞	∞	∞	überlebt
0,1 Lorenz	827	sehr zahlr.	wenig zahlr.	zahlr.		838	∞	∞	—	† nach 48 ^h
0,5	974	∞	wenig zahlr.	zahlr.		762 ¹⁾	spärlich	spärlich	—	überleben
0,1 Leutnant	939	sehr zahlr.	zahlr.	wenig zahlr.		964 ¹⁾	∅	∅	∅	
0,5	903 ¹⁾	spärlich	—	—		996	∞	wenig zahlr.	wenig zahlr.	
0,1 Klar	724	∞	zahlr.	zahlr.		949	∞	spärlich	wenig zahlr.	
0,5	968	sehr zahlr.	zahlr.	zahlr.		935	zahlr.	wenig zahlr.	spärlich	
0,1 Nimrod	975	∞	sehr zahlr.	zahlr.		768	sehr zahlr.	zahlr.	zahlr.	
0,5	684	∞	zahlr.	sehr zahlr.		921	wenige	wenig zahlr.	∅	

1) Vermutlich Versuchsfehler.

Tabelle III.

15. VII. 09. Peritonealversuch.

Bakterienaufschwemmung + Serum resp. Bouillon ad 1,0 ccm in vitro gemischt, $\frac{1}{2}$ ^h bei Zimmertemperatur, dann Meerschweinchen intraperitoneal. Je 2 Tropfen Exsudat auf Agarplatten verstrichen.

Sera (r. 8. VI. 09): Nassauer (Kruse-Serum), Klar (Flexner-Serum), Klang (Streptokokkenserum).

Bakterienaufschwemmung: 5 ccm Bouillon auf 24^h Agarkultur von Stamm Müller (Kruse-Shiga).

0,5 Bakt. +	Meer-schw.	Verlauf	nach 3 ^h	nach 6 ^h	nach 24 ^h
0,5 Bouillon	453	† nach 10 ^h	∞	∞	—
0,1 Klang	469	† nach 6 ^h	∞	∞	—
0,5	482	† nach 18 ^h	∞	∞	—
0,1 Klar	546	überlebt	∞	sehr zahlreich	sehr zahlreich
0,5	438	„	sehr zahlreich	spärlich	spärlich
0,1 Nassauer	525	„	sehr zahlreich	sehr zahlreich	zahlreich
0,5	513	„	sehr zahlreich	sehr zahlreich	sehr zahlreich

Tabelle IV.

17. VII. 09. Peritonealversuch.

Technik ganz wie in dem Versuch in Tabelle III.

0,5 Bakt. (Müller) +	Meer-schw.	Verlauf	nach 6 ^h	nach 8 $\frac{1}{2}$ ^h
0,5 Bouillon	486	überlebt	∞	sehr zahlreich
0,1 Klang	520	† nach 48 ^h	∞	∞
0,5	530	überlebt	zahlreich	zahlreich
0,1 Klar	768	„	sehr zahlreich	zahlreich
0,5	437	„	sehr zahlreich	spärlich
0,1 Nassauer	227	„	wenige	∅
0,5	426	„	sehr zahlreich	wenige

Es zeigt sich, daß die spezifischen Sera nicht nur gegen lebende Kulturen vom Typus Shiga-Kruse zu schützen vermochten (s. Tabelle III), sondern auch eine Verminderung des Keimgehaltes im Peritoneum bewirkten (Tabelle IV).

In den Versuchen Tabelle II und IV wurde anscheinend eine hart an der Grenze der letalen stehende Dosis verwendet, so daß entsprechend der individuellen Resistenzverschiedenheit je ein Tier mit Normalserum einging, während ein anderes mit Normalserum (größere Dosis) sowie die Bouillonkontrollen am Leben blieben. Einzelne Unregelmäßigkeiten in den Plattenergebnissen finden ihre Erklärung in möglichen Versuchs-

fehlern (Tabelle II, 762 und 964). Gegenüber dem Flexner-Stamm erwiesen sich weder das spezifische (Klar) noch die Kruse-Sera wirksam.

Da die letzteren mithin gewisse antiinfektiöse Eigenschaften im Organismus erkennen ließen, so wurden sie auch bezüglich ihrer bakteriziden Eigenschaften *in vitro* untersucht.

II. Bakterizide Wirkung *in vitro*.

In einem Vorversuche wurde die Bakterienmenge festgestellt, die nach den in Betracht kommenden Zeiten noch zahlreiche distinkte Kolonien in der Aussaat ergab.

Tabelle V.

6. III. 09. Bakterizider Plattenversuch (Dysenterie Müller).

0,5 Bakterienaufschwemmung = $\frac{1}{1000}$ 48^b Schrägagarkultur (Bouillon) + 0,2 Pferdeserum (inaktiv., verdünnt mit Bouillon) + 0,1 Meerschweinchen-serum (Komplement) resp. Bouillon.

Aussaat: 1 Oese in Agar von 45°, dann Platten; nach 4 und 7 Stunden bei Zimmertemperatur.

Pferdeserum	Meerschw.-Serum	nach 4 ^b				nach 7 ^b			
		0,1 akt.	0,05 akt. 0,05 inakt.	0,1 inakt.	∅ (0,1 Bouill.)	0,1 akt.	0,05 akt. 0,05 inakt.	0,1 inakt.	∅ (0,1 Bouill.)
Nimrod (Kruse-Serum)	0,2	wenig zahlr.	zahlr.	zahlr.		zahlr.	wenig zahlr.	zahlr.	
	0,05	zahlr.	„	—		„	„	—	
	0,01	sehr zahlr.	„	—		„	zahlr.	—	
Klar (Flexner-Serum)	0,2	zahlr.	„	zahlr.		„	„	wenig zahlr.	
	0,05	sehr zahlr.	sehr zahlr.	—		„	„	—	
	0,01	zahlr.	zahlr.	—		„	„	—	
Leutnant (Kruse-Serum)	0,2	sehr zahlr.	sehr zahlr.	zahlr.		„	„	wenig zahlr.	
	0,05	wenig zahlr.	zahlr.	—		„	„	—	
	0,01	zahlr.	„	—		„	„	—	
Lorenz (Me-ningo-kokken-serum)	0,2	„	„	sehr zahlr.		„	„	wenig zahlr.	
	0,05	„	„	—		„	„	—	
	0,01	„	sehr zahlr.	—		„	„	—	
∅ (0,2 Bouillon)	∅	„	zahlr.	wenig zahlr.	zahlr.	„	„	spärlich	zahlr.

Tabelle VI.

3. III. 09. Bakterizider Plattenversuch (Dysenterie Flexner).
 0,5 Bakterienaufschwemmung = $\frac{1}{1000}$ 48^b Schrägagarkultur (Bouillon)
 + 0,2 Pferdeserumverdünnung (resp. Bouillon) + 0,1 Meerschweinchen-
 serum (Komplement) 1^b bei 37°, dann bei Zimmertemperatur.
 Aussaat: 1 Oese in flüssigen Agar von 45°, dann Platten.

Pferdeserum	Meerschw. Ser.	nach 1 ^b bei 37°				nach 6 ^b												
		0,1 akt.	0,05 akt. 0,05 inakt.	0,1 inakt.	ϑ (0,1 Bouill.)	0,1 akt.	0,05 akt. 0,05 inakt.	0,1 inakt.	ϑ (0,1 Bouill.)									
Nimrod (Kruse-Ser.)	0,2	Ueberall gleichmäßig zahllose, konfluierende Kolonien (∞)				sehr zahlr.	∞	∞	∞									
	0,05					"												
	0,01					"												
Klar (Flexner-Ser.)	0,2					"	sehr zahlr.	∞										
	0,5					"												
	0,01					zahlr.												
Leutnant (Kruse-Ser.)	0,2					Ueberall gleichmäßig zahllose, konfluierende Kolonien (∞)					sehr zahlr.	zahlr.	wenig zahlr.	∞				
	0,05										zahlr.				sehr zahlr.	∞		
	0,01										wenig zahlr.				∞			
Lorenz (Me-ningo-kokken-serum)	0,2										Ueberall gleichmäßig zahllose, konfluierende Kolonien (∞)					sehr zahlr.	∞	sehr zahlr.
	0,05	dgl.																
	0,01	∞																
ϑ Bouillon	ϑ	Ueberall gleichmäßig zahllose, konfluierende Kolonien (∞)							∞							∞	∞	

Tabelle VII.

26. VI. 09. Bakterizider Versuch.
 0,5 Bakterienaufschwemmung + 0,2 Serum resp. Bouillon + 0,6 Kom-
 plement resp. Bouillon. 0,5 Bakterienaufschwemmung = $\frac{1}{10000}$ einer 48^b
 Schrägagarkultur von Dysenterie Nepustil (Kruse-Stamm) in Bouillon.
 Sera (sämtlich vom 8. VI. 09, inaktiviert): Leutnant, Nassauer, Neolog,
 Nimrod (Kruse-Sera), Klar (Flexner-Serum), Kling (Streptokokkenserum).
 Komplement: 1) 0,1 frisches Meerschweinchenserum + 0,5 Citrat-
 bouillon; 2) 0,6 Exsudat (Peritonealexsudat) vom Meerschweinchen 12^b nach
 Injektion von 10 ccm NaCl-Bouillon $\bar{a}\bar{a}$, zu gleichen Teilen in 1,5-proz.
 Citratlösung; 3) 0,6 Peritonealflüssigkeit (obere abpipettierte Flüssigkeit des
 Exsudates nach Zentrifugieren); 4) 0,6 Citratbouillon (1,5 Citratlösung +
 Bouillon $\bar{a}\bar{a}$); 5) 0,6 Bouillon.

Nach 2^b und 6^b Aussaat von je 2 Oesen in Agar von 45°.

	0,5 Bakt. +	0,2 Leutnant	0,2 Nassauer	0,2 Neolog	0,2 Nimrod	0,2 Klar	0,2 Kling	0,2 Bouillon
Aussaat n. 2 ^a	0,6 Mschw.-Ser. Citratbouill.	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.
	0,6 Exsudat	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
	0,6 Perit.-Flüss.	"	"	"	"	"	"	"
	0,6 Citratbouill.	"	zahlr.	zahlr.	zahlr.	zahlr.	zahlr.	zahlr.
	0,6 Bouillon	zahlr.	"	"	"	"	"	"
Aussaat nach 6 ^a	0,6 Mschw.-Ser. Citratbouill.	∞	∞	∞	∞	∞		∞
	0,6 Exsudat	∞	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.	sehr zahlr.		zahlr.
	0,6 Perit.-Flüss.	∞	dgl.	∞	dgl.	dgl.	∞	sehr zahlr.
	0,6 Citratbouill.	∞	sehr zahlr.	sehr zahlr.	"	"	sehr zahlr.	∞
	0,6 Bouillon	∞	sehr zahlr.	zahlr.	zahlr.	zahlr.	zahlr.	∞

In Tabelle V und VI bringen wir Versuche, bei denen die Immunsera mit aktivem Meerschweinchenserum komplettiert wurden. Sowohl das Kruse- (Nimrod, Leutnant) als auch das Flexner-Serum (Klar) zeigten sich wechselseitig für Kruse- wie für Flexner-Stämme ebenso unwirksam wie das Kontrollserum Lorenz. Ebenso wenig gelang es, die Immunsera durch Zusatz von Exsudat aus dem Meerschweinchenperitoneum oder Peritonealflüssigkeit allein wirksam zu machen (Tabelle VII). Das Peritonealexsudat war deshalb auch zur Aktivierung heranzuziehen, weil sich im Peritoneum eine gewisse antiinfektiöse Fähigkeit der Immunsera (s. o.) herausgestellt hatte. Nach den von uns mitgeteilten Versuchen kann diese aber nicht auf bakteriolytische Ambozeptoren zurückgeführt werden.

III. Bakteriotope Wirkung der Sera.

Bei Anwendung der von Neufeld zur Prüfung des bakteriotropen Titers der Immunsera angegebenen Technik ließ sich bei unseren Heilseren eine deutliche bakteriotope Wirkung erweisen. Diese war jedoch weder so konstant, noch quantitativ derart ausgeprägt, daß wir in ihr das wirksame Prinzip der Heilsera sehen und sie daher zur Wertbemessung heranziehen konnten. Jedenfalls böten die — wenn auch geringen — bakteriotropen Fähigkeiten der Sera eine

Erklärung der antiinfektiösen Wirksamkeit in vivo, die aus den mitgeteilten Versuchen hervorgeht.

Der negative Ausfall der bakteriziden Versuche in vitro bei Zusatz von Peritonealexsudat widerspricht dieser Auffassung keineswegs, da die Bedingungen, unter welchen im lebenden Organismus die Leukocyten ihre keimtötende Wirksamkeit ausüben, gewiß ganz andere sind als die in vitro gegebenen. Aus der Reihe unserer Versuche seien die zwei folgenden (Tabelle VIII und IX) mitgeteilt.

Tabelle VIII.

Bakteriotroper Versuch.

Bakterienaufschwemmung: 48^b Agarkultur von Dysenterie (Nepustil) 1 Oese pro 1 ccm physiologischer Lösung.

Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat (6^b nach Injektion von Bouillon-Kochsalz) in 1,5-proz. Citratlösung aufgefangen, zweimal gewaschen.

Sera (sämtlich vom 8. VI. 09): Leutnant, Nassauer, Neolog, Nimrod (Immunsera), Klar (Flexner), Kling (Streptokokken, Kontrollsera).

Verdünnungen mit physiologischer Lösung $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{100}$ inaktiv. 1^a bei 58°. Je 0,2 Bakterien + 0,2 Leukocyten + 0,2 Serum (verdünnt), nach 20' und 1^a bei 37° Ausstriche mit der Oese.

Färbung: nach Manson.

	Verdünnung	Leutnant	Nassauer	Neolog	Nimrod	Klar	Kling
nach 20'	$\frac{1}{5}$	schwach doch sehr deutlich	mäßig stark	schwach doch sehr deutlich	ziemlich stark	schwach	schwach doch deutlich
	$\frac{1}{20}$	schwach doch deutlich	mäßig stark ¹⁾	sehr schwach	schwach doch deutlich	schwach doch deutlich	schwach doch deutlich
	$\frac{1}{100}$	sehr schwach	schwach	sehr schwach	schwach doch deutlich	sehr schwach	schwach
nach 1 ^a	$\frac{1}{5}$	mäßig stark	mäßig stark	ziemlich stark	stark	mäßig stark	schwach doch deutlich
	$\frac{1}{20}$	schwach doch sehr deutlich	stark? ¹⁾	schwach doch deutlich	ziemlich stark	schwach doch deutlich	mäßig stark!
	$\frac{1}{100}$	schwach doch deutlich	schwach doch sehr deutlich	schwach	mäßig stark	schwach doch deutlich	schwach doch sehr deutlich

1) Undeutliches Präparat.

9*

Tabelle IX.

23. VII. 09. Bakteriotroper Versuch.

Bakterienaufschwemmung: 24^b Agarkultur von Stamm Nepustil (Shiga-Kruse), 1 Oese pro 1 ccm physiologischer Lösung.

Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat.

Sera (inakt. bei 58° durch 1^h): Leutnant, Nassauer, Nimrod (Kruse-Sera vom 8. VI.), Klar (Flexner-Serum vom 8. VI.), Meningokokkenserum 2 (vom 19. IV.) und 3 (vom 12. VI.).

0,2 Bakterien + 0,2 Leukocyten + 0,2 Serumverdünnung 1^h bei 37°, dann Ausstriche mit der Oese, Färbung nach Manson.

Intensität der Phagocytose:

Verdünnung	Leutnant	Nassauer	Nimrod	Klar	Meningokokken 2	Meningokokken 3
1/10	ziemlich stark	stark	ziemlich stark	ziemlich stark 1)	sehr deutlich	sehr deutlich
1/50	stark	stark	stark	ziemlich stark	sehr deutlich	sehr deutlich
1/200	ziemlich stark	stark	stark	ziemlich stark	sehr deutlich	sehr deutlich

Es erscheint auffallend, daß zuweilen in den stärkeren Verdünnungen intensivere Phagocytose zu beobachten war, als in den schwächeren; auch trat manchmal in Verdünnungen nichtspezifischer (inaktivierter) Sera eine verhältnismäßig starke Freßtätigkeit der Leukocyten auf.

IV. Komplementbindende Substanzen im Dysenterieserum.

In einer größeren Zahl von Versuchen, bei denen zahlreiche Aderlässe verschiedenen Alters mit verschiedenen Stämmen geprüft wurden, haben wir uns zunächst überzeugt, daß in den Immunsereen spezifische komplementbindende Substanzen nachzuweisen sind.

Tabelle X.

Komplementablenkung. Nach vorhergehender Auswertung des hämolytischen Systems (2,0 HBl + 1,0 150-f. Amboz. + 0,04 Kompl.), sowie der unterhemmenden Dosen Antigen (Bakt.-Aufschw. von 24^b Agarkultur Stamm Müller in 5 ccm phys. Lsg.) und Serum, werden 0,07 Antigen + 0,03 resp. 0,015 Serum (resp. Kontrollen) + 0,04 Komplement 1/2^a bei 37° gehalten, dann mit Hammelblut-Ambozeptormischung (1/2^b bei Zimmer-

1) Starke Agglutination.

temperatur) gemischt und wieder bis zur Lösung der Kontrolle bei 37° gehalten; Ablesung nach 12^h bei Zimmertemperatur (ϕ = keine Hämolyse).

Immunsera: Leutnant, Nimrod, Joas, Mephisto. — Flexner-Ser.: Klar.

Antigen	Serum	Leutnant 11./8. 1908	Leutnant 22./9. 1908	Leutnant 3./2. 1909	Leutnant 15./3. 1909	Nimrod 4./11. 1908	Nimrod 21./12. 1908	Nimrod 3./2. 1909	Nimrod 15./3. 1909
0,07 Müller	{	0,03	ϕ	ϕ	ϕ	Spur	Spur	Spur	Spur
		0,015	ϕ	Spur	part.	part.	Spur	part.	Spur
ϕ	{	0,06	part.	part.	part.	part.	part.	part.	f.kompl.
		0,03	kpl.	f.kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kompl.
Antigen	Serum	Joas 11./8. 1908	Joas 22./9. 1908	Joas 4./11. 1908	Mephisto 3./2. 1909	Mephisto 15./3. 1909	Klar 15./3. 1909	Laura (Typhus) 5./8. 08	Norbert (Cholera) 22./9. 08
0,07 Müller	{	0,03	Spur	Spur	ϕ	Spur	Spur	part.	part.
		0,015	part.	Spur	f.kpl.	part.	part.	part.	kompl.
ϕ	{	0,06	part.	part.	part.	part.	part.	part.	part.
		0,03	kpl.	kpl.	kpl.	f.kpl.	kpl.	kpl.	kompl.

Antigen ohne Serum { 0,07 Stamm Müller: kompl.
0,14 Stamm Müller: kompl.

Tabelle XI.

7. VII. Komplementablenkung. Nach vorhergehender Auswertung des hämolytischen Systems (2,0 HBI + 1,0 200-f. Amboz. + 0,04 Kompl.), sowie des Antigens (24^h Agarkultur von Stamm Nepustil in 5 cem phys. Lsg.), werden fallende Serummengen mit der Hälfte der größten lösenden Dosis Antigen (0,06) + 0,04 Kompl. 1/2^h bei 37° gehalten, dann Hammelbl. + Amboz. zugefügt, gemischt 1^h bei 37°, dann bei Zimmertemperatur ca. 12^h gehalten.

Sera: Nassauer, Leutnant, Neolog, Nimrod (Kruse-Sera), Klar (Flexner-Ser.) vom 8. VI. 1909.

Antigen	Serum	Nassauer	Leutnant	Neolog	Nimrod	Klar	Kling
0,06 Nepustil	{	0,05	ϕ	Spur	Spur	Spur	part.
		0,04	ϕ	part.	"	"	part.
		0,02	Spur	"	part.	part.	"
		0,01	"	"	"	"	f.kompl.
		0,007	"	f.kompl.	f.kompl.	"	kompl.
		0,004	part.	"	kompl.	f.kompl.	"
		0,002	kompl.	kompl.	"	kompl.	kompl.
ϕ (Kontrollen)	{	0,01	"	"	"	"	"
		0,001	"	"	"	"	"
		0,1	part.	Spur	part.	part.	part.
		0,08	"	part.	"	"	"
		0,04	f.kompl.	"	f.kompl.	"	"
0,02	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	

Antigen ohne Serum { 0,06 Nepustil: kompl.
0,12 Nepustil: kompl.

Tabelle XII.

9. VII. 1909. Komplementablenkung. Anordnung wie in Versuch Tabelle XI.

Antigene: Stamm Shiga Jürgens (Kruse-Shiga) und Stamm Flexner. Sera vom 8. VI. 1909: Nassauer, Leutnant (Kruse-Shiga-Sera). Klar (Flexner-Serum). Kling (Steptokokkenserum).

Antigen Serum	0,09 Shiga Jürgens				0,08 Flexner				Kontrollen ohne Antigen			
	Nas-sauer	Leut-nant	Klar	Kling	Nas-sauer	Leut-nant	Klar	Kling	Nas-sauer	Leut-nant	Klar	Kling
0,08	—	—	—	—	—	—	—	—	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.
0,04	—	Spur	θ	θ	part.	f. kpl.	kpl.	f. kpl.	„	„	„	„
0,02	Spur	„	θ	Spur	f. kpl.	„	„	„	„	„	„	„
0,01	„	„	θ	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0,007	part.	„	Spur	part.	„	kpl.	„	„	„	„	„	„
0,004	f. kpl.	f. kpl.	„	f. kpl.	„	„	„	„	„	„	„	„
0,002	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	„	„	„	„	„	„	„	„

Antigen ohne f 0,18 St. Shiga Jürgens: kompl. 0,16 St. Flexner: kompl.
Serum { 0,09 St. Shiga Jürgens: kompl. 0,08 St. Flexner: kompl.

In Tabelle X geben wir einen dieser Versuche wieder, aus dem die von uns angewandte Technik ershen werden kann. In weiteren Versuchen, von denen wir zwei (Tabelle XI und XII) veröffentlichen, gingen wir daran, die komplementbindenden Fähigkeiten der Sera auszuwerten.

Aus diesen, wie auch aus anderen zahlreichen, nicht weiter mitzuteilenden Versuchen geht hervor, daß mit bestimmten Stämmen die Immunsere sowohl untereinander, als auch gegenüber den Kontrollseren gut bestimmbare Hemmungswerte ergeben, deren gegenseitiges Verhalten jedoch durchaus von den verwendeten Stämmen abhängt. In Tabelle XI erweist sich Serum Nassauer mit dem Stamm Nepustil (Kruse) als das wirksamste der Sera (im übrigen in Uebereinstimmung mit dem antitoxischen Werte), während es in Tabelle XII mit dem Kruseschen Stamm Jürgens nicht wirksamer als das Kontrollserum Kling erscheint. Das Flexner-Serum Klar hingegen zeigt sich mit Stamm Jürgens als das weitaus wirksamste, während es in Tabelle XI kaum komplementbindende Substanzen erkennen läßt. Daraus scheint uns der Schluß gerechtfertigt, daß die Komplementbindungsmethode kaum zur Wertbestimmung der Immunsere herangezogen werden kann. Mit den Flexner-Stämmen ließ sich eine nennenswerte Komplementbindung in keinem Falle konstatieren, auch nicht mit dem Flexner-Immunsere Klar.

V. Antitoxische Wirkung des Dysenterieserums.

Daß dem durch Behandlung von Pferden mit Filtraten von Bouillonkulturen von Kruse-Stämmen gewonnenen Dysenterieheilserum antitoxische Eigenschaften gegenüber dem für Kaninchen wirksamen Gift des Dysenteriebacillus Shiga-Kruse zukommen, ist nach den umfangreichen Untersuchungen von Kraus und Doerr als sicher anzunehmen. Auch Pfeiffer und Ungermann erkennen nunmehr dieses Verhalten an. In unserem Institute werden die Heilsera fortlaufend auf ihr antitoxisches Vermögen an Kaninchen geprüft.

Im folgenden geben wir die für die von uns untersuchten Aderlässe gewonnenen Daten aus dem offiziellen Prüfungsprotokolle wieder.

Tabelle XIII.

a) Toxinbestimmung.

2. VI. 09. Dysenterie Müller 2. IV. 09 (Bouillonfiltrat) intravenös Kaninchen injiziert.

1,0 Toxin Kan. 38 † 3. VI.

0,5 Toxin Kan. 34 † 3. VI.

b) Serumauswertung der Aderlässe vom 8. VI. 09 mit 1,0 Toxin Müller 2. IV.

Datum	Serum	Gemischtwert			Getrenntwert		
		Serum-dosis	Kan.	Resultat	Serum-dosis	Kan.	Resultat
14. VI.	Nimrod	0,3	221	lebt	0,4	486	lebt
16. VI.	Neolog	0,3	288	„	0,4	64	† 17. VI.
14. VI.	Leutnant	0,3	102	„	0,4	129	lebt
16. VI.	Nassauer	0,3	484	„	0,4	463	„
14. VI.	ϕ (Kontrolle)	—	118	† 16. VI.			
23. VI.	Nimrod	0,2	259	lebt	0,2	428	† 25. VI.
23. VI.	Leutnant	0,2	180	„	0,2	309	† 28. VI.
23. VI.	Nassauer	0,2	148	„	0,2	162	† 26. VI.
23. VI.	ϕ (Kontrolle)	—	197	† 25. VI.			

Obwohl Pfeiffer und Ungermann bei Neutralisationsversuchen sogar das Gesetz der Multipla deutlich hervortreten sahen, lehnen sie doch auf Grund anderer Versuchsanordnungen die antitoxische Wirkungsweise des Dysenterieserums beim Menschen ab. Sie erhielten „unerwartet“ negative Resultate, als sie versuchten, mit dem Krausschen Serum das Gift der Shiga-Bacillen im Reagenzglas abzusättigen. Sie gingen so vor, daß sie frische, bei 56° C abgetötete Dysenterieagarkulturen mit wechselnden Dosen des

Serums mischten und dann entweder 2 Stunden bei Zimmertemperatur oder 1 Stunde bei 37° unter häufigem Umschütteln stehen ließen und dann abzentrifugierten. Zu ihrem Erstaunen starben sämtliche Tiere, denen die so vorbehandelten Bakterien injiziert wurden; selbst sehr große Mengen des Immunserums (2—6 ccm) zeigten sich unfähig, auch nur die doppelte oder sogar die einfache Dosis letalis der abgetöteten Shiga-Bacillen irgendwie zu beeinflussen.

Diesen Versuchsergebnissen Pfeiffers und Ungermans müssen wir unsere eigenen entgegenhalten, zu denen wir auf Grund ganz analoger Versuchsanordnung gelangt sind, und die denen Pfeiffers diametral entgegengesetzt sind.

Tabelle XIV.

28. VI. 09. Auswertung der Dosis letalis für Kaninchen.

24^b Agarkultur von Stamm Nepustil (Shiga-Kruse) in phys. Lösung je 1 Oese auf 1 ccm aufgeschwemmt, 1^a bei 56° gehalten, dann Kaninchen intravenös.

Bakt.-Aufschwemmung		Kan.	Verlauf
2,0 ccm	= 2 Oesen	310	nach 36 ^b †
1,0 „	= 1 Oese	329	nach 36 ^b schwer krank, nach 3 Tagen †
0,5 „	= 1/2 „	275	nach 36 ^b †
0,25 „	= 1/4 „	46	überlebt

Nachdem wir die Dosis letalis abgetöteter Shiga-Bacillen vom Stamme Nepustil festgestellt hatten, gingen wir an die Nachprüfung der eben beschriebenen Versuche Pfeiffers und Ungermans.

Tabelle XV.

6. VII. 09. Neutralisierungsversuch nach Pfeiffer.

24^b Agarkultur von Stamm Nepustil, abgetötet durch 1^a Erhitzen bei 56°. Je 1 Oese + Serum Nassauer 8. VI. 09 resp. phys. Lösung ad 2,0 ccm 1^a bei 37° unter wiederholtem Umschütteln, dann scharf zentrifugiert. Das Sediment wird in 2 ccm phys. Lösung aufgeschwemmt Kaninchen intravenös injiziert.

Sediment von	Kan.	7. VII.	8. VII.	9. VII.
2,0 ccm Nassauer	499	gesund	gesund	überlebt
1,0 „ „	248	„	„	„
0,5 „ „	190	„	krank	„
2,0 „ phys. Lösung (Kontrolle)	115	krank	†	„

Tabelle XVI.

3. VIII. 09. Neutralisierungsversuch nach Pfeiffer.

24^a Agarkultur von Stamm Nepustil. 6 Oesen in 3 ccm phys. Lösung verrieben, 1^a bei 56°, abgetötet. Je 0,5 ccm (= 1 Oese) Aufschwemmung + Serum resp. phys. Lösung 1^a bei 37° unter wiederholtem Aufschütteln, dann scharf zentrifugiert. Sediment in 1,0 ccm phys. Lösung aufgeschwemmt, Kaninchen intravenös.

Sediment von 0,5 Bakt. +	Kan.	4. VIII.	5. VIII.	6. VIII.	7. VIII.	8. VIII.	9. VIII.
6,0 Nassauer 8. VI. 09.	24	gesund	gesund	gesund	} überleben		
4,0 dgl.	106	"	"	"			
2,0 dgl.	452	krank	matt	"			
1,0 dgl.	371	schwer krank	†				
6,0 (Choleraser.) Mikado 5. VI. 09.	190	dgl.	†				
6,0 phys. Lösung	248	dgl.	†				

Tabelle XVII.

Neutralisierungsversuch nach Pfeiffer.

24^a Agarkultur von Stamm Nepustil, durch 1^a Erhitzen bei 56° abgetötet. Je 1 Oese + 2,0 resp. 4,0 Serum Nassauer 8. VI. 09 resp. 2,0 phys. Lösung verrieben, 1^a bei 37° unter häufigem Schütteln, dann zentrifugiert. Die Sedimente in je 2,0 phys. Lösung aufgeschwemmt, Kaninchen intravenös injiziert. Außerdem in dem abpipptierten Serum je 1 Oese der abgetöteten Kultur verrieben, nach 1/2^a ebenfalls Kaninchen intravenös. Als Kontrolle 1 Oese abgetöteter Kultur in 2,0 Serum Nassauer verrieben, nach 1/2^a intravenös injiziert.

	Kan.	Verlauf
Sediment von 1 Oese + 2,0 Nassauer	168	gesund, überlebt
Sediment von 1 Oese + 4,0 Nassauer	452	" "
Abpipptierte Flüssigkeit von 2,0 Nassauer + 1 Oese	113	" "
Abpipptierte Flüssigkeit von 4,0 Nassauer + 1,0 Oese	365	" "
1 Oese + 2,0 Nassauer	91	" "
Sediment von 1 Oese + 2,0 phys. Lösung	125	nach 36 ^a Paresen, nach 5 Tagen Exitus unter typischen Erscheinungen.

Die Protokolle (Tabelle XV, XVI und XVII) zeigen, daß das die doppelte letale Dosis enthaltende Sediment nach

Digerieren sogar mit viel kleineren Mengen Immunserum, als sie Pfeiffer verwendete, neutralisiert war, so daß die Tiere am Leben blieben.

Die in unseren Versuchen überdies angeführten Kontrollen mit Kochsalz oder nicht spezifischem Serum zeigen, daß es sich bei dem Unwirksamwerden der Sedimente um echte Neutralisierungen, nicht um Toxinverluste gehandelt hat. In dieser Beziehung ist auch der in Tabelle XVIII mitgeteilte Versuch besonders lehrreich. In diesem wurden die Sedimente nach dem Digerieren mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Nur das mit Dysenterieserum vorbehandelte Dysenterievaccin war unwirksam geworden; Vorbehandlung mit Normalserum oder mit physiologischer Kochsalzlösung hatte die letale Wirkung des Vaccins nicht zu beeinflussen vermocht. Der Versuch Tabelle XVII lehrt außerdem, daß solche Serummengen, wie sie Pfeiffer und Ungermann verwendeten, zur Neutralisierung des Sedimentes gar nicht erforderlich waren, da die abzentrifugierte Flüssigkeit noch imstande war, ihrerseits die doppelte letale Dosis unwirksam zu machen.

Weiter haben Pfeiffer und Ungermann Meerschweinchen zur Prüfung der antitoxischen Wirkung des Dysenterieserums herangezogen. Dabei zeigte es sich, „daß selbst 5 ccm Dysenterieserum, welches 4 Stunden vor der Giftinjektion, über verschiedene Stellen des Körpers verteilt, subkutan eingespritzt worden war, auf das noch nicht einmal Zweifache der tödlichen Dosis absolut ohne jede Wirkung waren“. Nach Pfeiffer und Ungermann besitzt das Immunserum einen sehr begrenzten, aber doch die Vergiftung etwas stärker hemmenden Einfluß als das Normalserum, ohne daß jedoch echt antitoxische Einflüsse dabei eine Rolle spielen.

Schon Kraus und Doerr haben darauf hingewiesen, daß Meerschweinchen für die Prüfung der antitoxischen Wirksamkeit des Dysenterieserums wegen ihrer individuell stark verschiedenen Empfindlichkeit für das Dysenteriegift nicht geeignet seien. Auch unsere Versuche haben das inkonstante Verhalten der Meerschweinchen neuerdings erwiesen. Für die abgetötete Kulturaufschwemmung gelang es überhaupt

nicht, eine sichere letale Dosis festzustellen (Tabelle XVIII und XIX).

Tabelle XVIII.

8. VII. Auswertung der Dosis letalis an Meerschweinchen.

24^h Agarkultur Stamm Nepustil; je 2, 3, 5 und 8 Oesen in 2,0 ccm physiologischer Lösung aufgeschwemmt, durch 1^h Erhitzen bei 56° abgetötet, dann Meerschweinchen intraperitoneal.

Dosis	Meerschweinchen	Verlauf
2 Oesen	405	gesund
3 "	502	9. VII. krank, erholt sich, überlebt
5 "	206	9. VII. †
8 "	schwarz	gesund

Tabelle XIX.

15. VII. Auswertung der Dosis letalis an Meerschweinchen.

24^h Agarkultur Stamm Nepustil in 5 ccm physiologischer Lösung aufgeschwemmt, 1^h bei 56° (1 ccm Aufschwemmung = ca. 2 Oesen Kultur), Meerschweinchen intraperitoneal.

Dosis	Meerschweinchen	Verlauf
3,0 ccm Aufschwemmung	532	16. VIII. krank, überlebt
2,0 " "	538	16. VIII. †
1,0 " "	466	überlebt
0,5 " "	474	16. VIII. krank, 19. VIII. †
0,3 " "	544	gesund, überlebt

Ein Meerschweinchen, das 8 Oesen intraperitoneal erhielt, blieb am Leben, ein anderes, das nur 5 Oesen erhielt, ging ein; ebenso überlebte im anderen Versuche das Tier, das 3 ccm Bakterienaufschwemmung erhalten hatte, während eines nach Injektion von 2 ccm, eines sogar von 0,5 ccm einging.

Konstantere Werte erhielten wir allerdings, als wir Sodaextrakte von Agarkulturen, die durch Karbol abgetötet und filtriert waren, in Anwendung brachten. Auf diese Weise läßt sich, wie Kraus und Doerr festgestellt haben, ein hochwirksames Dysenteriegift gewinnen. Der von uns verwendete Extrakt tötete Kaninchen (von 800—1000 g) noch in der Dosis 0,05 intravenös, Mäuse bei etwa 0,2 intraperitoneal und auch Meerschweinchen bei intravenöser wie bei intraperitonealer Injektion von 0,2—0,3 (Tabelle XX).

Tabelle XX.

20. IX. Auswertung des Dysenterieagarextraktes Nepustil.

Darstellung: 5 Flaschenkulturen (24^h) mit je 10 ccm $\frac{n}{10}$ -Sodalösung aufgeschwemmt, $\frac{1}{2}$ Proz. Karbol, 24^h im Eisschrank, dann durch gewöhnliches und feinstes schwedisches Filtrierpapier filtriert.

a) Kaninchen, intravenös.

Dosis	Kan.	Verlauf	Dosis	Kan.	Verlauf
2,0 Extrakt	499	† nach 6 ^h	0,5 Extrakt	312	} † nach 24 ^h
1,0 "	179	} † nach 18 ^h	0,3 "	270	
0,5 "	431		0,2 "	467	† nach 2 Tagen
0,2 "	362		0,1 "	389	} † nach 5 Tagen
			0,05 "	329	

b) Meerschweinchen.

Intravenös.

Dosis	Meerschweinchen	Verlauf	Dosis	Meerschweinchen	Verlauf
3,0 Extrakt	915	† nach 18 ^h	0,5 Extrakt	959	} † nach 24 ^h überlebt
2,0 "	912	† nach 6 ^h	0,3 "	989	
1,5 "	948	} † nach 18 ^h	0,2 "	960	
1,0 "	914		0,1 "	944	
0,5 "	946				

Intraperitoneal.

Dosis	Meerschweinchen	Verlauf
3,0 Extrakt	68	} † nach 24 ^h
2,0 "	55	
1,0 "	58	} † nach 2 Tagen
0,5 "	57	
0,3 "	52	† nach 3 Tagen

c) Mäuse, intraperitoneal.

Dosis	Bezeichnung	Verlauf	
		a	b
1,0 Extrakt	Kopf rot	† nach 4 ^h	† nach 18 ^h
0,7 "	Rücken rot	† nach 24 ^h	† nach 24 ^h
0,4 "	Steiß rot	† nach 18 ^h	} † nach 18 ^h
0,2 "	unbezeichnet	† nach 4 ^h	
0,3 "	linker Vorderfuß rot	} † nach 24 ^h	} † nach 24 ^h
0,2 "	rechter Vorderfuß rot		
0,1 "	Steiß rot		
0,05 "	Rücken rot	} überlebt	} "
0,03 "	Kopf rot		

Es war nicht verwunderlich, daß das erstgenannte, von Pfeiffer und Ungermann bei ihren Meerschweinchenversuchen verwendete Dysenteriegift auch bei unseren Neutralisierungsversuchen, von denen wir zwei charakteristische in Tabelle XXI und XXII wiedergeben, keine brauchbaren Resultate ergab. So gingen gelegentlich sogar Tiere mit Immunserum zugrunde, während die Kontrollen am Leben blieben.

Tabelle XXI.

19. VII. Neutralisierungsversuch an Meerschweinchen.

24^b Agarkultur von Stamm Nepustil in 5,0 ccm physiologischer Lösung aufgeschwemmt, durch Erhitzen 1^b bei 56° abgetötet.

Aufschwemmung + Serum resp. Bouillon ad 3,5 ccm in vitro $\frac{1}{2}$ ^b bei Zimmertemperatur, Meerschweinchen intraperitoneal.

	Aufschw.	Meerschweinchen	Verlauf	Aufschw.	Meerschweinchen	Verlauf
0,5 Bouillon	2,0	576	20. VII. †	3,0	570	20. VII. krank, überlebt
0,5 Marius 8. VI. 1909 (Meningok.-Ser.)	2,0	574	20. VII. †	3,0	586	20. VII. †
0,2 Nassauer 8. VI. 1909	2,0	550	20. VII. †	3,0	572	20. VII. †
0,5 Nassauer 8. VI. 1909	2,0	555	überlebt	3,0	577	überlebt

Tabelle XXII.

22. VII. 09. Toxinneutralisierung (Dysenterie, Meerschweinchen).

Toxin: 24^b Agarkultur Stamm Nepustil, Aufschwemmung von je 5 ccm Kochsalz pro Kultur. 1^b bei 56° sterilisiert.

Toxin + Serum (Bouillon ad 4,0 ccm) in vitro $\frac{1}{2}$ ^b bei Zimmertemperatur gemischt, dann Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

	Meerschw.	Verlauf
3,0 Toxin + 1,0 Bouillon	551	23. VII. krank, 25. VII. †
3,0 „ + 0,5 Nassauer v. 8. VI. 09	500	23. VII. krank, 24. VII. †
3,0 „ + 1,0 „ v. 8. VI. 09	526	24. VII. lebt, 26. VII. lebt
3,0 „ + 1,0 Marius v. 8. VI. 09	457	24. VII. lebt, 26. VII. lebt

Doch auch die Neutralisierungsversuche mit dem Sodaextraktgift ergaben kaum bessere Ergebnisse

hinsichtlich der Schutzwirkung des Dysenterieserums bei Meerschweinchen. Weder bei intravenöser, noch bei intraperitonealer Applikation der für Kaninchen sicher neutralisierten Gemische gelang es, Meerschweinchen mit einiger Sicherheit am Leben zu erhalten. Immerhin geht aus den von uns in Tabelle XXIII mitgeteilten Resultaten eine, wenn auch geringe, Schutzwirkung hervor, die allerdings auch großen Dosen von Normalserum zuzukommen scheint. Andere Versuche, wie die in Tabelle XXIV und XXV dargestellten, beweisen aber, daß von einem konstanten Verhalten überhaupt nicht die Rede sein kann, einige Tiere kamen auch mit kleineren Dosen nicht spezifischen Serums davon, andere gingen trotz größerer Mengen Immuns serum ein.

Tabelle XXIII.

25. IX. 09. Neutralisierungsversuch.

Dysenterieextrakt (Nepustil vom 20. IX. 09. Dos. let. 0,2) + Dysenterieheils serum (Nassauer vom 27. VII. 09) oder Normalserum (Choleraheils serum Norbert vom 15. VII. 09) $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$ bei Zimmertemperatur gemischt, dann Meerschweinchen intravenös.

	Meerschweinchen	Verlauf
0,3 Toxin + θ (Kontrolle)	970	† 27. IX.
0,3 „ + 1,0 Norbert	979	überlebt
0,3 „ + 0,2 Nassauer	981	„
0,3 „ + 0,5 „	959	„
0,3 „ + 1,0 „	989	„
0,6 „ + 0,2 „	960	† 27. IX.
0,6 „ + 0,5 „	955	überlebt
0,6 „ + 1,0 „	973	„

Tabelle XXIV.

2. X. 09. Neutralisierungsversuch.

Dysenterieagarextrakt (Nepustil vom 20. IX. 09) + Dysenterieserum (Nassauer vom 27. VII. 09) resp. + Normalserum (Choleraheils serum Mikado vom 15. V. 09), $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{2}$ bei Zimmertemperatur gemischt, dann Meerschweinchen intraperitoneal.

	Meerschweinchen	Verlauf
0,5 Toxin + θ (Kontrolle)	53	† 3. X.
0,5 „ + 0,3 Mikado	56	überlebt
0,5 „ + 0,5 „	61	† 6. X.
0,5 „ + 0,3 Nassauer	85	† 3. X.
0,5 „ + 0,5 „	49	überlebt

Tabelle XXV.

28. IX. 09 Neutralisierungsversuch.

Dysenterieagarextrakt (Nepustil vom 20. IX. 09, Dos. let. 0,2) + Dysenterieheilserum (Nassauer vom 27. VII. 09) oder mit Normalserum (Choleraheilserum Norbert vom 15. VII. 09), $\frac{1}{2}$ ^b bei Zimmertemperatur gemischt, dann Meerschweinchen intravenös.

	Meerschweinchen	Verlauf
0,3 Toxin + \emptyset (Kontrolle)	11	+ 29. IX.
0,3 " + 0,2 Normalserum	19	+ 29. IX.
0,3 " + 0,5 "	20	überlebt
0,3 " + 1,0 "	27	+ 29. IX.
0,3 " + 0,2 Dysenterieserum	13	+ 29. IX.
0,3 " + 0,5 "	21	+ 30. IX.
0,6 " + 0,5 "	12	+ 30. IX.
0,6 " + 1,0 "	18	+ 29. IX.
1,0 " + 0,5 "	5	+ 29. IX.

Eine sichere und spezifische Schutzkraft auch bei Meerschweinchen ließ das Dysenterieserum jedoch erkennen, wenn es 24 Stunden vor dem Gift präventiv injiziert wurde. Schon relativ kleine Dosen (0,5) genügten, während selbst 10-fach größere Quantitäten nicht spezifischen Serums unwirksam waren. Analoge Verhältnisse hat Kraus beim Choleraserum beobachtet. Im Mischversuch ließen sich *Multipha* der Agargifte nicht neutralisieren, wohl aber wenn Serum präventiv injiziert wurde.

Tabelle XXVI.

2. X. 09 Präventivversuch.

Die Meerschweinchen erhalten 24^h vor der Injektion von je 0,5 Dysenterieagarextrakt Nepustil vom 20. IX. 09 (außer der Kontrolle) die angegebenen Serumengen intraperitoneal injiziert, das Toxin ebenfalls intraperitoneal.

	Meerschw.	Verlauf
0,5 Toxin + Kontrolle (\emptyset Serum)	53	+ 3. X.
0,5 " + 0,5 Normalserum Mikado v. 15. V. 09	91	+ 3. X.
0,5 " + 1,0 desgl.	88	+ 3. X.
0,5 " + 3,0 desgl.	92	+ 3. X.
0,5 " + 5,0 desgl.	94	+ 4. X.
0,5 " + 0,5 Dys.-Ser. Nassauer v. 27. VII. 09	47	überlebt
0,5 " + 1,0 desgl.	84	"
0,5 " + 3,0 desgl.	63	"
0,5 " + 5,0 desgl.	83	"

Demgemäß handelt es sich hierbei nicht um eine Erhöhung der natürlichen Resistenz, sondern um echte passive Immunität. Wenn Pfeiffer und Ungermann bei ihrem Präventivversuche zu einem negativen Resultate gelangten, so dürfte dies vielleicht der lokalen Trennung der Applikation des Serums und des Giftes, besonders bei der Kürze der dazwischen liegenden Zeit (4 Stunden), zuzuschreiben sein.

Daß in unseren Versuchen das Serum seine antitoxische Fähigkeit gegenüber dem Dysenteriegift nur bei präventiver, nicht bei gemischter Einführung zeigte, findet vielleicht eine Erklärung in dem bekannten Phänomen der Sprengung von in vitro neutralisierten Toxin-Antitoxingemischen durch den Organismus. Da aber nach alledem das Dysenterieserum auch gegen das für Meerschweinchen wirksame Gift aus Agarkulturen (Kraus und Doerr) zu schützen vermag, scheint kein Anlaß vorzuliegen, mit Pfeiffer und Ungermann ein besonderes, von dem echten Toxin differentes Gift für Meerschweinchen anzunehmen.

Schließlich haben Pfeiffer und Ungermann zur Stütze ihrer gegen die antitoxische Natur der Serumwirkung gerichteten Einwände auch einen negativen Neutralisierungsversuch an drei Personen zitiert. Sie beobachteten nämlich, daß — ähnlich wie bei der Kontrollperson — auch bei denjenigen, denen sie Toxin mit Serum gemischt subkutan injiziert hatten, leichte Fiebersteigerung, Kopfschmerzen und geringe Lokalerscheinungen auftraten. Ihre Schlußfolgerung, „daß also das Krausche antitoxische Serum weder die lokalen noch die allgemeinen Giftwirkungen derart minimaler Dosen der abgetöteten Ruhrbacillen für den Menschen irgendwie zu beeinflussen vermag“, scheint uns aber aus der Erwägung nicht berechtigt, daß jene von ihnen beobachteten, durch das Serum nicht beeinflußten Folgen der Injektionen vermutlich gar nicht Wirkungen des Dysenterietoxins waren.

Zur Stütze dieser Vermutung haben wir die in den Tabellen XXVII und XXVIII wiedergegebenen Versuche durchgeführt. Diese zeigen, daß bei Kaninchen, die neutrali-

sierte Toxin-Serumgemische injiziert erhielten, vorübergehende Temperatursteigerungen auftreten, die teilweise gerade durch die Serumeinverleibung (Tabelle XXVII) bedingt sind. Es ließ sich aber durch Entfernung des Serums und Injektion des neutralisierten, im übrigen unwirksam gewordenen Sedimentes erweisen (Tabelle XXVIII), daß in den nach Pfeiffers Angabe als Toxin verwendeten Vaccins neben dem neutralisierbaren Gift auch Stoffe, wahrscheinlich Bakterienproteine, enthalten sind, die starke Temperatursteigerungen herbeiführen können. Solche Substanzen sind auch in analog hergestellten Diphtherievaccins vorhanden, deren temperatursteigernde Wirkung sich auch durch antitoxisches Diphtherieserum nicht aufheben ließ.

Tabelle XXVII.

11. X. 1909. Kaninchen (unter 1000 g) erhalten intravenös die angegebenen Gemische (physiol. Lösung ad 2,0), werden vor der Injektion und in den angegebenen Intervallen nach dieser rektal gemessen.

Dysenterieextrakt Nepustil vom 20. IX., Dos. let. 0,05 (s. Tabelle XX).

Dysenterievaccin (1 Oese einer 24^h Agarkultur von Stamm Nepustil in 1 ccm physiol. Lösung aufgeschwemmt, 1^h bei 60° sterilisiert).

Diphtherievaccin (ebenso dargestellt von Stamm Mac Farlan).

Dysenterieheilserum Ser. 11 vom 22. IX. 09.

Diphtherieheilserum Landsturm vom 27. X. 08.

	Kan.	vor der Injekt.	nach 1 ^h	nach 2 ^h	nach 3 ^{1/2} ^h	nach 6 ^h	nach 20 ^h
0,05 Dys.-Extrakt	200	38,5°	38,8°	37,7°	37°	37°	†
0,5 Dys.-Vacc.	72	38,6°	37,2°	38°	35°	†	
0,05 Dys.-Extrakt + 1,0 Dys.-Serum	286	38,5°	39°	40°	39,8°	38,6°	38,1°
0,5 Dys.-Vaccin + 1,0 Dys.-Serum	445	38,7°	38,9°	40°	38,9°	39,4°	38,5°
1,0 Dys.-Serum	112	38,7°	39,5°	39,2°	40°	39,5°	38,4°
0,5 Diphth.-Vacc. + 1,0 Diphth.-Serum	406	38,5°	38,7°	39,5°	39°	38,6°	38,5°

Tabelle XXVIII.

14. X. 1909. Gemische (1,0 Vaccin + 1,0 Serum) 1^h bei 37° digeriert, dann abzentrifugiert, die Sedimente mit physiol. Lösung gewaschen, dann in 2 ccm physiol. Lösung aufgeschwemmt, davon je 1,0 ccm (= 1/4 Oese Dysenterie resp. 1/8 Diphtherie) Kaninchen intravenös. Diese werden vorher und nach den angegebenen Intervallen rektal gemessen.

Dysenterievaccin: 1 Oese einer 24^a Agarkultur von Stamm Nepustil in 2,0 ccm physiol. Lösung 1^a bei 60°.

Diphtherievaccin: ebenso dargestellt von Stamm Mac Farlan (1 Oese in 4,0 ccm physiol. Lösung).

Dysenterieheilserum: Ser. 11 vom 22. IX. 09.

Diphtherieheilserum: Landsturm vom 27. X. 08.

Sediment von	Kan.	vor der Injekt.	nach 1 ^a	nach 3 1/2 ^b	nach 5 1/2 ^b	nach 20 ^a	weiterer Verlauf
Dys.-Vaccin + Dys.-Serum	134	39°	40,8°	40,8°	39,4°	38,5°	gesund
Dys.-Vaccin + Diphth.-Ser.	66	39,2°	40,5°	41,4°	39,5°	38,5°	16. X. Paral. 20. X. †
Dys.-Vaccin + phys. Lösg.	146	38,6°	40,4°	41,1°	39,8°	37,5°	15. X. Paral. 17. X. †
Diphth.-Vaccin + Diphth.-Ser.	249	38,8°	40,3°	40°	38,6°	38,8°	gesund
Diphth.-Vaccin + Dys.-Serum	92	39,2°	40,2°	40,5°	38,7°	39°	gesund
Diphth.-Vaccin + phys. Lösg.	155	39°	40,4°	40°	38,7°	39,4°	gesund

Pfeiffer und Ungermann haben demnach durchaus keine zwingenden Beweise gegen die antitoxische und für die antiinfektiöse Wirkungsweise des Dysenterieheilserums der Ruhr gegenüber erbracht.

Zusammenfassung.

1) Das Dysenterieserum läßt im Organismus gewisse antiinfektiöse Eigenschaften erkennen.

2) Eine bakterizide Wirkung in vitro war weder bei Komplettierung mit Serum noch mit Exsudat von Meerschweinchen zu erweisen.

3) Das Serum zeigt bakteriotrope Kraft, die jedoch das wirksame Prinzip bei der Heilwirkung nicht ausmachen dürfte.

4) Im Serum finden sich spezifische komplementbindende Substanzen, doch ist der Gehalt an solchen inkonstant, und zur Wertbemessung der Immunsera nicht verwendbar.

5) a) Die antitoxische Wertbemessung am Kaninchen hat sich bewährt.

b) Die Versuche von Pfeiffer und Ungermann, auf Grund deren sie die antitoxische Wirksamkeit des Dysenterie-

serums bestreiten, konnten nicht bestätigt werden. Das Dysenteriegift wirkt höchst inkonstant bei Meerschweinchen, doch zeigt das Serum bei präventiver Anwendung deutliche Schutzwirkung. Es besteht daher kein Grund, ein besonderes Meerschweingift anzunehmen.

Literatur.

- Conradi, Ueber lösliche, durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe von Ruhr- und Typhusbacillen.
- Doerr, Das Dysenterieantitoxin. Handbuch für die Technik der Immunitätsforschung von Kraus und Levaditi.
- Kraus, Ueber die Beziehungen der sog. Endotoxine zu den Toxinen. Wiener klin. Wochenschr., Bd. 26, 1908.
- Kraus und Doerr, Ueber Dysenterieantitoxin. Wiener klin. Wochenschr., 1905, No. 7.
- — Ueber experimentelle Therapie der Dysenterie. Ebenda, 1905, No. 42.
- — Die experimentelle Grundlage einer antitoxischen Therapie der bacillären Dysenterie. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 55, 1906.
- — Die Wertbemessung des Dysenterieserums. Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 27.
- Kraus, 1. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie. Centralbl. f. Bakt., 1906.
- Kruse, Die Blutserumtherapie bei der Ruhr. Deutsche med. Wochenschr., 1903, No. 1 u. 13.
- Neisser und Shiga, Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen und über das Dysenterietoxin. Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 4.
- Pfeiffer, R., Ueber die Beziehungen der sog. Endotoxine zu den Toxinen. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie, 1908. Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 41.
- Pfeiffer und Ungermann, Zur Antitoxinfrage bei der Dysenterie. Centralbl. f. Bakt. etc., I. Abt., Orig., Bd. 50, Heft 5.
- Rosenthal, Ueber Serotherapie der Dysenterie. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34.
- Todd, Ueber ein Antitoxin bei der Dysenterie. Brit. med. Journ., 1903.

Nachdruck verboten.

[Travail du Laboratoire d'Hygiène et de Bactériologie
de l'Université de Gand.]

Sur l'interprétation de l'incubation.

Par le Dr. **Henri De Waele** (Gand).

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Oktober 1909.)

La période d'incubation constitue un des phénomènes les plus caractéristiques des maladies infectieuses. De date ancienne elle a pu être établie par l'observation et l'expérimentation clinique, mais l'interprétation de son essence n'a pu être entreprise que depuis l'extension de nos connaissances sur les agents infectieux.

Sur la base des idées darwiniennes et de la théorie phagocytaire de Metchnikoff, une étude a été consacrée au phénomène de l'incubation par J. Bordet, 1892. Il donne de l'incubation dans les maladies infectieuses aiguës une interprétation qui peut se résumer ainsi: les microorganismes, ayant pénétré par une brèche dans les tissus de l'individu atteint, ont aussitôt à se défendre contre la phagocytose; les moins résistants y succombent, les autres se développent et se renforcent par sélection. Les leucocytes s'adaptent également à cette lutte; c'est précisément cette lutte qui cause le retard dans l'éclosion de la maladie et c'est l'issue de cette lutte qui décide de l'apparition des symptômes morbides. Samuel (Eulenburg's Realencyklopädie) émet des considérations analogues.

Etudiant les phénomènes qui suivent la revaccination jennérienne, v. Pirquet établit que la période d'incubation est raccourcie et que l'aire réactionnelle apparaît plus vite autour des vésicopustules, qui sont d'ailleurs peu prononcées. Il considère les symptômes inflammatoires comme liés à la formation d'anticorps dans l'organisme et il estime que la marche plus rapide d'une revaccination est due à une production plus rapide d'anticorps.

Cette théorie diffère de celle de Bordet par ce qu'elle repose plutôt sur des conceptions humorales, cependant

les idées de ces auteurs sont, pour ainsi dire, superposables.

v. Pirquet s'attacha également à l'étude de ce qu'il désigne sous le nom de „maladie du sérum“ : il montra qu'au moment d'une seconde injection la réaction de l'organisme se produit plus rapidement et d'une façon plus prononcée, mais qu'elle se termine aussi plus vite. Ce mode de réaction, pour lequel l'auteur a créé le nom d'allergie (agissant autrement) est l'analogue des faits découverts par Richet et auxquels cet auteur donna le nom de phénomènes d'anaphylaxie.

v. Pirquet compare ces faits avec ce qu'il a décrit à propos de la revaccination jennérienne et pour expliquer l'allergie il admit que la formation d'un anticorps qui suit une première injection, modifie la façon de réagir de l'organisme : le sérum qui la première fois ne produit qu'exceptionnellement des symptômes morbides, d'ailleurs tardifs, trouve la seconde fois un anticorps préformé et l'union de l'anticorps et du sérum donnerait naissance à la substance toxique, laquelle se manifeste par une action plus rapide, un délai d'incubation raccourci.

Richet admet une théorie semblable, la première injection développe une toxogénine, laquelle, à la seconde injection, transforme la toxine en apotoxine plus toxique et cause des phénomènes anaphylactiques.

Mais l'existence, ou de cette combinaison du sérum avec un anticorps, ou de cette apotoxine, était tout à fait hypothétique.

De Waele, reprenant l'étude de l'anaphylaxie sérique put démontrer qu'au cours de la résorption du sérum injecté dans le péritoine il se forme des peptones et que cette protéolyse est accélérée chez les animaux sensibilisés, sous l'influence d'une leucocytose plus prononcée; il interprète les phénomènes d'anaphylaxie à l'égard du sérum comme l'expression d'une production et d'une résorption plus rapide et plus intense des produits de la digestion partielle du sérum par les enzymes leucocytaires : l'anaphylaxie sérique serait la manifestation d'une intoxication propeptonique plus ou moins aiguë.

Vaughan ainsi que Biedl et Kraus arrivèrent depuis à des conclusions analogues.

Ces explications rendent compte jusqu'à un certain point du délai d'incubation et du raccourcissement de celui-ci au cours d'injections et de réinjections de substances albuminoïdes. L'intervention de cette leucocytose nous ramène à l'ordre d'idées qui donna naissance à la théorie de Bordet et à la forme un peu différente que lui attribua v. Pirquet.

L'explication n'est cependant pas complète; elle rend compte du temps qu'il faut pour la production des propeptones, mais elle n'est pas encore suffisante pour interpréter le transport et l'arrivée plus ou moins lents aux cellules sensibles.

Mais la période d'incubation est également une caractéristique de l'action des toxines microbiennes. Très courte pour les venins, si proches des toxines, plus longue pour les toxines elles mêmes, elle peut atteindre jusqu'à 4 et 5 jours p. ex., pour la toxine tétanique injectée au cheval.

La période d'incubation diminue, il est vrai, quand on augmente la dose, mais sans proportionnalité simple et elle ne descend jamais en dessous d'une certaine limite. Ainsi on peut diminuer le délai d'incubation de la toxine tétanique chez la souris de 36 heures à 12 heures en injectant 3600 doses mortelles, mais quelle que soit la dose on ne peut amener l'incubation en dessous de 8 à 9 heures.

Ehrlich expliqua la période d'incubation en attribuant à la toxine un groupement haptophore et un groupement toxophore: pendant la période d'incubation la toxine se fixe sur les cellules par son groupement haptophore; ce n'est qu'alors que le groupement toxophore entre en jeu.

La conception d'Ehrlich décompose l'action des toxines en deux actes. On peut se figurer que chacun de ces actes soit long, mais il manque l'explication de leur longueur, d'autant plus qu'il est démontré que la toxine injectée dans le sang ne s'y retrouve déjà plus libre après quelques minutes.

Faut-il admettre avec Richet la transformation plus ou moins rapide de la toxine en une apotoxine hypothétique.

A la suite d'une série de recherches nous croyons que cette hypothèse n'est nullement nécessaire.

Ehrlich insista jadis fort sur le délai d'incubation des toxines en opposition avec l'action immédiate des alcaloïdes. Plus tard quand on connut l'action rapide du venin de serpents et de l'ichtyotoxine, il y attribua moins de valeur. Il reste toujours entre les toxines et les alcaloïdes la différence que les unes produisent un anticorps, les autres pas; l'incubation au contraire est devenue plutôt un point de contact: maint alcaloïde a une période d'incubation plus longue que le venin de serpents.

Dans un travail récent, nous avons pu montrer l'énorme importance de l'intervention de la lécithine dans l'action des alcaloïdes.

L'addition d'une petite quantité de lécithine active la toxicité et raccourcit l'incubation; au contraire une grande quantité (10 à 20 fois l'équivalent moléculaire) annihile la toxicité. Nous avons pu exclure l'existence d'une combinaison chimique de la lécithine avec l'alcaloïde.

D'autre part on sait l'importance que l'on a reconnue ces dernières années à la lécithine et aux lipoides en général dans l'activité physico-chimique des cellules.

Le protoplasme est imperméable aux solutions aqueuses. Les éléments cellulaires et leurs parois sont constitués en partie de lipoides; les substances dissoutes dans l'eau et qui en même temps sont solubles dans les lipoides ne pénètrent dans le protoplasme cellulaire que par la voie des lipoides et diffusent aussi par cette voie jusqu'à équilibre de concentration ¹⁾).

Du moment où nous avons trouvé que la lécithine a une importance primordiale dans l'absorption des alcaloïdes nous avons été conduit à appliquer les données générales sur les

1) On a établi au point de vue du mode d'absorption et du mode d'action une différence essentielle entre les substances solubles dans les lipoides et celles qui y sont insolubles. D'après des travaux récents ces différences sont moins grandes qu'il n'avait paru; il ne faut pas seulement tenir compte de la solubilité, mais aussi de l'action des ions sur les solutions colloïdales que sont les lipoides.

lipoïdes et à interpréter l'action des alcaloïdes d'après le mécanisme suivant :

Une fois la dissolution aqueuse d'un alcaloïde injectée, il se fait un partage : une partie de l'alcaloïde se dissout dans les lipoïdes des cellules environnantes en grande partie fixes, et diffuse aussi de proche en proche ; le rapport des masses entre l'eau et les tissus ambiants est tel que bientôt il ne reste plus que fort peu d'alcaloïdes dissouts dans l'eau. Il y a lieu de tenir compte ici de l'affinité élective ou mieux des différences de solubilité de chaque poison dans les divers lipoïdes en présence ¹⁾.

De proche en proche, par la voie des lipoïdes lymphatiques, plasmiques, hématiques leucocytaires et tissulaires, l'alcaloïde arrive, plus ou moins vite suivant les cas, aux cellules nerveuses sensibles, où il se fixe d'une manière plus ferme et ainsi s'y concentre peu à peu.

Dès que la dose fixée est devenue suffisante, les phénomènes d'intoxication éclosent.

L'intervention des lipoïdes est donc prépondérante dans l'absorption, la diffusion, bref dans la circulation des alcaloïdes. Cette progression par la voie des lipoïdes des éléments cellulaires en majorité fixes explique la période d'incubation.

Pour un même alcaloïde et pour un animal sain et pour des lieux d'injection analogues, ces facteurs sont à peu près constants ; de là la constance de la dose toxique et la variabilité de celle-ci dans les conditions expérimentales anormales.

Mais revenons aux toxines : ici aussi l'intervention de la lécithine est prépondérante tout comme pour les alcaloïdes.

1) Lombard injecta à des lapins de fortes doses de sulfate d'atropine, il saigna ces animaux, sépara les éléments de leur sang et les injecta à des chats. Les chats qui reçurent les globules rouges et le plasma ne manifestèrent que des symptômes d'empoisonnement insignifiants ; ceux qui, au contraire, furent injectés avec la quantité correspondante des leucocytes présentèrent des phénomènes d'intoxication beaucoup plus graves.

Calmette fit des expériences analogues, et Metchnikoff, à qui nous empruntons ces citations y voit une preuve de l'intervention de la phagocytose, négligeant peut être un peu trop, au bénéfice de son point de vue, les portions de l'alcaloïde dissoutes dans les lipoïdes du plasma et des globules rouges.

C'est ce qui ressort d'un travail qui nous a conduit aux conclusions suivantes :

1) L'action des toxines se trouve renforcée en quantité et en rapidité dans toutes les conditions d'expériences où, soit à l'endroit d'injection, soit dans l'organisme entier, la quantité d'alexine est augmentée.

2) Là où l'alexine est rare ou fait défaut, la lécithine peut jusqu'à un certain point prendre elle-même ce rôle favorisant.

3) L'addition de grandes quantités de lécithine annihile leur action. Laissant pour un travail ultérieur la question de savoir si l'action d'une alexine se confond avec celle d'une lécithine ou si elle n'en constitue qu'un élément (ce qui paraît plus probable), ces données actuelles permettent cependant de conclure à l'importance de la lécithine pour l'absorption des toxines et de répéter à leur sujet ce que nous avons développé à propos des alcaloïdes; ici encore la progression de proche en proche par la voie des lipoïdes des éléments tissulaires, en majorité fixe, explique la période d'incubation.

Les phénomènes d'intoxication n'apparaissent que quand les éléments cellulaires sensibles ont attiré et concentré peu à peu la toxine jusqu'à dose suffisante¹⁾.

Ce délai est en général bien plus long pour les toxines que pour les alcaloïdes; leurs molécules paraissent devoir être beaucoup plus grandes, ce qui doit diminuer leur vitesse de diffusion.

La molécule plus stable des alcaloïdes est progressivement éliminée comme telle soit au cours du cycle gastro-hépatique, soit au cours du cycle hémato-entérique. Une nouvelle injection faite avant que l'effet de la première ne soit épuisé, ne produit donc que des phénomènes d'accumulation.

1) Citons comme intéressant à ce sujet le sort de la toxine tétanique chez la poule. Cet animal est réfractaire à ce poison; même injecté dans le péritoine celui-ci pénètre dans le sang et y reste intact pendant quelques jours, fixé en partie sur les leucocytes; puis on constate que ce sont surtout les glandes génitales, testicules et jeunes ovaires, qui sont les plus riches en toxine. Il semble donc que chez la poule ces cellules sont plus sensibles à la toxine que les cellules nerveuses, mais elles ne manifestent pas de symptômes visibles d'intoxication et l'animal paraît réfractaire. Toutefois une injection de toxine, même à très petite dose, faite directement dans le cerveau donne le tétanos à la poule.

Au contraire les toxines moins stables sont détruites et c'est probablement dans la complexité et dans l'instabilité moléculaire qu'il faudra chercher le pouvoir de donner des antitoxines, propriété qui surtout les distingue des alcaloïdes.

Nous avons démontré qu'une seconde injection de toxine, faite avant que des anticorps ne se soient produits, provoque des phénomènes d'anaphylaxie. Les expériences semblent indiquer qu'il ne faut pas l'attribuer à l'accumulation, il est plus probable qu'il s'agisse de meilleures conditions d'absorption telles que serait un exsudat réactionnel différent, une leucocytose plus prononcée, une augmentation momentanée de la quantité d'alexine; c'est ce que nous chercherons à élucider par de nouvelles recherches sur l'alexine.

Ce n'est donc pas la pénétration de la solution aqueuse de l'alcaloïde ou de la toxine dans le sang et sa dilution dans celui-ci qui détermine le transport et l'arrivée progressive des poisons aux cellules sensibles. Sachant d'ailleurs qu'une circulation complète du sang se fait en un temps correspondant à 27 pulsations, on comprendrait mal une période d'incubation un peu longue.

Du fait que nous avons démontré l'importance des lipoides de l'organisme pour la circulation des alcaloïdes et des toxines, on peut conclure qu'une fois les poisons injectés il faut tenir compte bien plus des éléments solides que des éléments liquides pour la dilution, la diffusion et pour le transport progressif aux cellules sensibles.

Celles-ci fixent les poisons d'une façon plus ferme, les attirent peu à peu soit par un pouvoir dissolvant plus grand, soit par affinité élective de leurs lipoides, les concentrent et dès que la dose fixée est suffisante l'intoxication éclot, à moins que les cellules sensibles soient de celles dont l'intoxication ne se traduit pas au dehors.

Ce délai plus ou moins long est la période d'incubation.

Zusammenfassung.

Die Inkubation läßt sich bei einer Infektion als eine Verzögerung durch den Kampf zwischen Bakterien und Phagocyten erklären.

Die Inkubation bei Einspritzung fremdartiger Eiweißstoffe läßt sich, in ähnlicher Weise, als eine stärkere und beschleunigte Auflösung derselben (Allergie, Anaphylaxie) auffassen.

Bezüglich der Inkubation bei Einverleibung von schon in Wasser löslichen Stoffen kommt diese Löslichkeit im Wasser (von Alkaloiden oder Toxinen) für den Umlauf und die Fixation des Giftes nicht in Betracht — man weiß übrigens, daß die durchschnittliche Kreislaufzeit durch 27 Herzsystemen vollführt wird und eine lange Inkubationszeit wäre in dem Falle schwerlich zu erklären.

Die Demonstration der Vermittlung der Lipide bei dem Umkreisen dieser Gifte hat als Folge, daß noch mehr die festen Körperbestandteile als die flüssigen zu berücksichtigen sind für die Verdünnung, die Diffusion und die allmähliche Fortschaffung zu den empfindlichen Zellen. An diesen werden die Gifte verankert, entweder durch eine elektive Affinität oder durch eine größere Lösungsfähigkeit ihrer Lipide. Sobald die Konzentration einen gewissen Grad erreicht hat, werden die Vergiftungserscheinungen ausgelöst.

Littérature.

- Bordet, J., Sur la nature et les causes de l'incubation dans les maladies aiguës. Soc. des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles, 1892.
- v. Pirquet, Zur Theorie der Inkubationszeit. Wien. klin. Wochenschr., 1903, No. 45.
- v. Pirquet u. Schick, Die Serumkrankheit. Wien (Deuticke) 1905.
- Richet, Annales Inst. Pasteur 1907. C. R. Soc. Biol., 16 mars 1908.
- De Waele, H., Contribution à l'étude de l'anaphylaxie. Bull. Acad. Médec. Belgique 1907.
- Etude sur l'immunité conférée par la méthode des sacs de cellulose et sur les produits microbiens dialysants. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 42, 1906.
- Recherches sur l'anaphylaxie contre les toxines et sur le mode d'absorption des toxines. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, 1909, Heft 5.
- Du rôle des lécithines dans l'absorption et l'action des alcaloïdes. Ibid.
- Vaughan, V., Protein sensitization and its relation to some of the infectious diseases. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 1, 1909.
- Biedl u. Kraus, Exper. Studien über Anaphylaxie. Wien. kl. Wochenschr., 1909, No. 11.
- Metchnikoff, L'immunité dans les maladies infectieuses, Paris 1909.

Nachdruck verboten.

[From the Danish State Serum Institute.]

**Experiments upon the Immunising Property of heated
Vibriolysin, and its Neutralisation by Antilysin.**

By **E. E. Atkin,**

Fishmongers' Company's Research Scholar.

With 4 Charts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Oktober 1909.)

The theory of toxoids has suffered little change since Ehrlich postulated their presence in formulating his views on the constitution of diphtheria toxin. A toxoid, according to him, is a modification of a toxin in which the noxious quality is diminished or wanting, but the combining property with cell or antitoxin is retained. To account for these two distinct properties it is supposed that the toxin molecule possesses two active groups, the toxophore producing the deleterious action, and the haptophore being the means of union with cell or antibody. Without this union of the haptophore group, the toxophore group is functionless. A toxoid is considered to have its toxophore moiety deleted, the haptophore remaining intact, and as the production of antilysin is caused solely by the exercise of the haptophore's function, a toxoid should be able to stimulate the manufacture of antibody just as easily as the toxin itself. In some cases it may even be a better agent, when the poisonous action of the toxin is very great, by allowing the action of many haptophore groups without at the same time destroying the animal's life.

In opposition to this Bruck has published some experiments with old tetanus bouillon. Two samples were used, one of which was completely without toxic action, the other had a weak toxicity. He found that only in the case of the latter was there any production of antitoxin, and assumed that besides a binding of the haptophore group, a certain amount of irritation is necessary, for both samples possessed haptophore groups inasmuch as they were able to fix antitoxin.

Since few workers have investigated the matter with toxins deteriorated by heating and which presumably therefore contain toxoids, I have taken up this aspect of the question. Madsen and Famulener (1) having put the question of heated vibriolysin on a surer basis, it was possible for me to obtain lysins destroyed to given extents.

My research has been divided into two parts, firstly, the attempt to immunise animals with heated lysin, secondly, the mode of neutralisation by antibody, in accordance with the two chief aspects of toxoids.

Technique.

The toxin used was the haemolysin of the vibrio Nasik obtained by incubation in alkaline bouillon at 37° C for about 3 weeks. It was afterwards preserved by the addition of toluol. Its strength was such that 0,05 c. c. haemolysed 8,0 c. c. of a 1% suspension of horse erythrocytes. The technique employed in the estimation of the haemolytic strength of given fluids or the neutralising power of antilysin, is that commonly used in this Institute. Its essentials are the heating together of lysin and antilysin for 2 hours at 37° C and then the addition of a 1% suspension of washed horse erythrocytes in 0,9% NaCl solution. A slight modification of the usual technique, is the introduction into the suspending fluid of a very small quantity of sodium citrate to prevent spontaneous agglutination of the erythrocytes, which I described in some previous experiments (2). After further incubation for 3 hours, the tubes are placed in the cold storage room until next day, to allow time for sedimentation of the intact erythrocytes. A tube showing from 40–50% haemolysis is chosen and matched with those having a similar depth of colour throughout the series. These tubes are supposed to all contain the same amount of lysin and are therefore comparable.

Destruction of the Lysin.

Madsen and Famulener (1) have shown in an exhaustive series of experiments that when vibriolysin is heated it is destroyed in a very regular manner, the extent depending upon three known factors,

Temperature,
Time of exposure,
Medium (free alkali is usually the active body).

The destruction increases at first very rapidly both with rise of temperature and length of exposure. There is always some free alkali (NaOH) left in the culture after incubation, for the largest yield of haemolysin is obtained in alkaline bouillon, and so it is designed that there shall be a superfluity at the end of incubation. This constituent also has an effect upon the destruction, but it is almost certain that it simply hastens the normal hydrolytic destruction which is always proceeding, though extremely slowly at low temperatures.

If one heats vibriolysin at a constant temperature and removes samples from time to time, it is found that the destruction can be represented by a curve.

A small flask containing 150 c. c. of vibriolysin was placed in a water bath at 47,3°. It required about 8 minutes for the fluid to attain the temperature of the bath, and a certain amount of destruction occurred during this interval. Samples were removed at intervals of 5 minutes, beginning at the moment the fluid reached 47,3°, and immediately cooled in ice-cold water. The accompanying table gives the respective volumes of fluid necessary to produce a given grade of haemolysis.

Table I.

Time of heating Minutes	Volume of fluid to produce Standard haemolysis c. c.
Normal	0,014
0	0,017
5	0,025
10	0,04
15	0,065
20	0,12
25	0,25
30	0,4

The first increase from 0,014 to 0,017 represents the destruction of lysin which took place during the heating of

the fluid to 47,3°. Afterwards the volumes increase in a regular manner. The curve shows this gradual destruction of the lysin. The reciprocal values of the above volumes have been charted.

As stated above, it has been my purpose to take samples of heated lysin destroyed to various extents, and test their

1. Immunising capacity in rabbits.
2. Neutralisation with vibrio-antilysin.

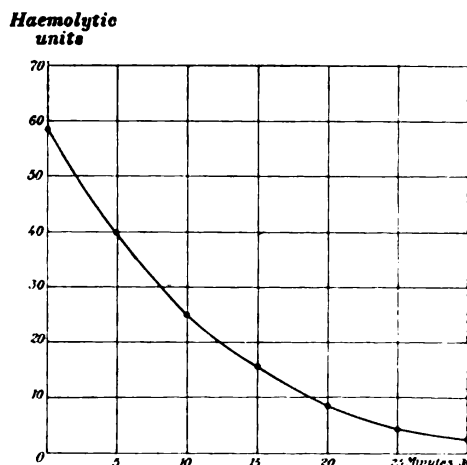


Chart I.

I. Immunisation by injection of heated lysins.

Three rabbits each received intraperitoneally, 5 c. c. lysin.

- A. 5 c. c. lysin unheated. This was a control.
- B. 5 c. c. lysin heated at 47,3° for 20 minutes. It then required 8,57 times more fluid than the normal to produce an equivalent amount of haemolysis. Thus the heated lysin now contained 11,6 % of its original strength.
- C. 5 c. c. lysin heated at 47,3° for 168 minutes. The haemolytic power was practically¹⁾ nil.

The amount 5 c. c. was chosen because this was the maximum quantity of normal lysin the control animal would tolerate without death ensuing. This lethal action is not a function of the active haemolysin injected. Kraus in his original studies distinguished between a haemolysin and a toxin in cultures of vibrio Nasik. Tallquist (3) also found in his experiments that the toxic and haemolytic ingredients are distinct. I have repeatedly noticed that lysins heated at various temperatures and whose haemolytic powers were

1) It is necessary here to add that when the lysin is approaching total destruction, large quantities are required to produce any haemolysis, 2,0 c. c. and over. However the free alkali present in this amount of the culture becomes enough to produce a trace of haemolysis, and so it is difficult without exact neutralisation to determine the point of complete destruction of the lysin.

diminished correlatively, showed no such destruction of their toxicities. In animals which are especially susceptible 5 c. c. may be a lethal dose, and this was the case with the rabbit B of the experiment above, for it died on the third day after the injection, although the haemolytic strength of the lysin it received was only 11,6% of the normal which was injected into the control animal A. Boiling however for five minutes probably quite destroys the toxin, for rabbits will stand injections of large quantities without symptoms.

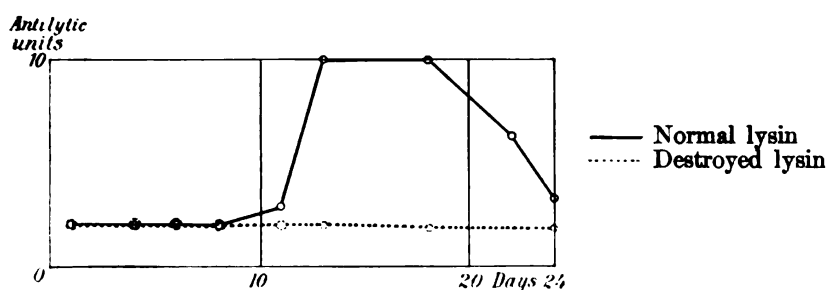


Chart II.

From the curves it is seen that the control animal injected with unheated lysin produced a small but definite amount of antilysin, so that at the highest point of the curve which was estimated, its serum contained just five times the normal content. The rabbit which received the destroyed lysin produced no antibody at all. I have in all cases found a small but definite amount of antilysin in the serum of normal rabbits, and it seems to be very nearly the same quantity in different individuals.

An experiment was now undertaken on a more extensive scale with repeated subcutaneous injections. Six rabbits were taken, each receiving the same injection as regards time and quantity, but they were divided into groups each of which received a lysin differing in its haemolytic strength, weakening having been obtained by exposure to heat. The table gives the details of the injections.

Rabbit	Lysin injected	Day of injection	Volume of fluid injected c. c.
A	Normal	1	0,5
B	Heated 15 minutes at 47,3° About 20% of its original haemolytic power remained	4	1,0
C			
D			
E	Heated 60 minutes	7	4,0
F	Haemolytic power nil		

All injections were subcutaneous.

From the curves representing the antilysin production we see a very large production in the case of the normal lysin, the acme of which is too high to be drawn on the chart; a much less for the 20% lysin, and for the destroyed lysin, one rabbit showed a small production and the other none.

Conclusion.

From these experiments we get the impression that the amount of antilysin produced bears a rough proportion to the quantity of active haemolysin in the injected fluid.

This is against the existence of toxoids, but it must be remembered that they may exist in lysins deteriorated through age.

The fact that one of the rabbits of the last group had a small production of antilysin

can be probably explained by assuming that there was a trace of active haemolysin remaining in the fluid although it was apparently without haemolytic effect. Referring to the criticism on the previous experiment, it was noted that there was great difficulty in being certain that the last traces of haemolysin had disappeared. In this case the same reservation applies. In addition the lysin was heated for 60 minutes only, so that

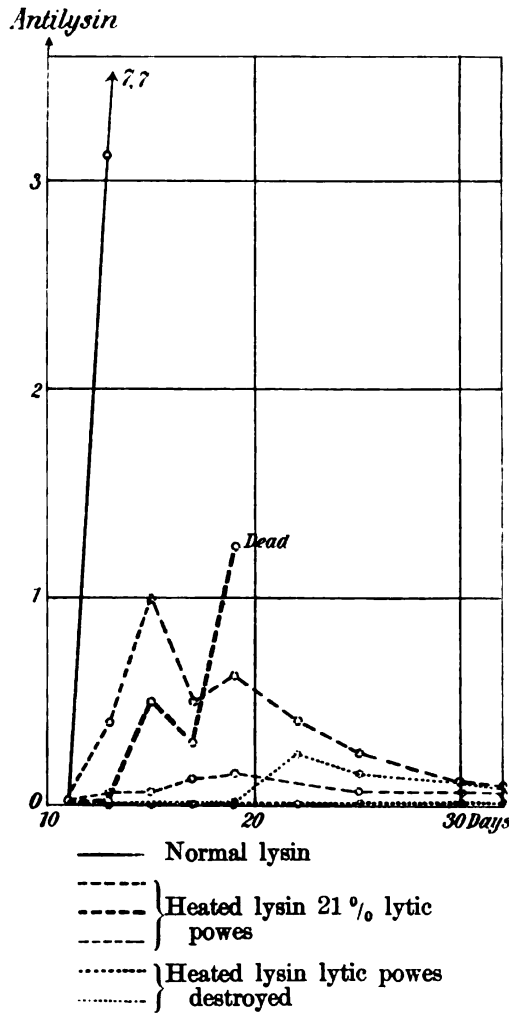


Chart III.

a trace could have escaped destruction and account for the slight antibody production.

Another well known fact in immunity is here exemplified namely the great differences in reaction of different animals to a like injection. Thus great differences are seen in the quantity of antilysin produced by the three rabbits injected with the same amounts of the partly destroyed lysin.

Several other experiments of the same kind, one involving eight rabbits, all point in exactly the same direction.

To complete this series the effect of injecting rabbits with vibriolysin which had been boiled for five minutes, and which was therefore entirely without haemolytic action, was investigated.

Two rabbits each got 1,0, 2,0, 4,0 and 8,0 c. c. of such a lysin subcutaneously at intervals of 3 days. Such relatively large quantities were easily tolerated since the toxin is destroyed by boiling. Not a trace of antilysin was subsequently found in their sera, above the normal content.

There being no evidence of the existence of toxoids from the point of view of immunisation, it was of importance to see if such could be detected in neutralisation experiments.

II. Neutralisation of normal and heated vibriolysin.

The experiments were performed in accordance with the method in general use for the construction of neutralisation curves. The plan was to add increasing quantities of antilysin (goat), to equal amounts of lysin, making the series up to equal volume and incubate at 37° for 2 hours. Afterwards the amount of free lysin in each was estimated by finding what volume of fluid was necessary to give a standard haemolysis in the usual way. In this manner heated lysin was compared with normal diluted with 0,9% NaCl solution to bring its haemolytic power on a par with that of the heated, and also with normal lysin diluted with a lysin whose haemolytic power was destroyed by heating at about 47,4°. The latter was tried as it was thought that if there were substances present in the heated lysin capable of binding antilysin, they would show themselves in this mixture by requiring more antilysin for neutralisation than normal lysin

of the same strength. It was soon discovered however, that it differed in no essential point from the lysin diluted with NaCl solution and so it was omitted from the later experiments.

A quantity of vibriolysin was heated at 47,4° for 5 minutes. It now took twice the volume to give the same haemolysis as before, so that its strength was reduced 50 %.

a) 0,9 % NaCl solution;

b) lysin heated at 47,4° for 4 hours (haemolytic power practically nil), so as to bring its haemolytic power down to that of the heated lysin.

Gradually increasing amounts of antilysin were added to volumes of 1,0 c. c.

The table gives the results obtained.

Table II.

Antilysin c. c.	Volumes of the mixtures producing equal haemolysis		
	Normal lysin diluted with NaCl solution c. c.	Normal lysin diluted with destroyed lysin c. c.	Heated lysin, 50 % c. c.
0	0,1	0,08	0,1
0,0004	0,13	0,1	0,13
0,0006	0,17	0,13	0,17
0,0008	0,2	0,13	0,25
0,001	0,17	0,13	0,2
0,0013	0,2	0,2	0,4
0,0015	0,3	0,2	0,4
0,0017	0,3	0,25	0,5
0,00185	0,3	0,25	0,65
0,002	0,3	0,3	1,0
0,0025	0,8	0,65	> 2,0

Before discussing the results of the experiment it will be necessary to consider the errors that can arise. In making an estimation of the amount of lysin in a fluid, a series of tubes is taken containing the following proportions of this fluid, 20,0, 16,0, 12,0, 10,0, 8,0, 6,5, 5,0, 4,0, 3,0, 2,5, 2,0, 1,7, 1,3, 1,0 etc.

In this series there is a difference about of 20 % between each term, with slight modifications to facilitate measuring. It is chosen because experience has shown that, with the technique used, these are the smallest differences which will produce a distinct change in colour between any two adjacent tubes. Thus it is obvious that a tube containing an intermediate quantity of lysin will be estimated above or below its real value according as that quantity and therefore also

its haemolytic tint agree with one or the other tube. That is to say there can be a maximum error of 10% resulting from the rationale of the experiment. All errors together, including measurement, judging of the colours, and the reaction itself seem not to exceed 20% in my experiments.

Looking now at the results of the experiment we see that with no addition of antilysin, the amount of lysin in all three tubes is about the same, the one in the second column differing from the other two by 20% which is within the experimental error. It may also be mentioned here that it is very difficult to dilute a lysin to such an extent that it will exactly produce a desired amount of haemolysis, because the latter is not proportional to the amount of haemolysin, but probably more nearly proportional to its square.

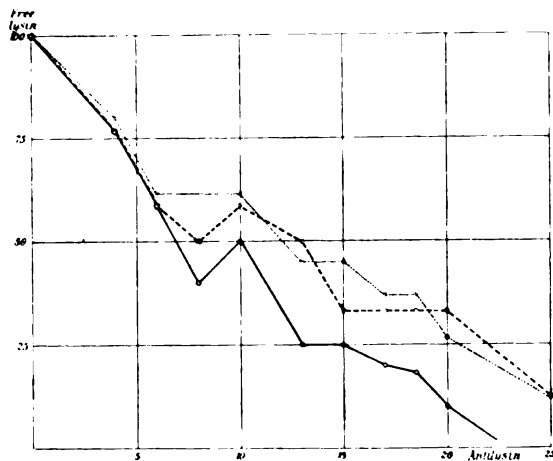
When the antilysin added reaches 0,0008 there is obviously an experimental error in the first and third columns the values of which should probably be 0,17 and 0,2 respectively. The reason that this error has become apparent, is because the increases in the antilysin additions have been so small at this point that the difference in the amount of free lysin in two or three adjacent tubes has fallen within what was called above, "the error of 10% resulting from the rationale of the experiment". The values not changing for one or two increases in antilysin, any error of experiment easily shows itself, which otherwise becomes engulfed in the constantly altering values.

Now if we look at the figures when the antilysin has reached 20, we see that the volume of heated lysin necessary to produce a given grade of haemolysis is more than three times that of the two diluted normal lysins. In other words the quantity of free lysin in the heated sample at this point, is over three times less than in the other two, that is to say the heated lysin requires less antilysin to neutralise it than does the normal. The difference is doubtless still greater with the next increase of antilysin, for as much as 2,0 c. c. in the case of the heated lysin only gave a very faint haemolysis which can partly be attributed to the alkali present, and fell far below the standard haemolysis for the rest of the tubes. But in my experiments I have not

thought fit to exceed 2,0 c. c. of the mixtures of lysin and antilysin in the tubes, partly because of the interference caused by the significant amounts of alkali present in large quantities, and partly owing to the inconvenience and alteration of technique required when using such large bulks.

It will be seen that the two normal lysins diluted with salt solution and heated lysin differ by no more at the end of the columns than at the beginning, that is, 20%. In many experiments I have found that the neutralisation curves of these two diluted lysins always run parallel and so I have been able to dispense with one of them (that diluted with destroyed lysin) in later investigations. One sees therefore that this lysin destroyed by heat has no fixing power upon antilysin.

The difference between the three lysins is graphically represented by the curves in Chart IV, which have been superimposed so as to make the starting point the same in each case. It can easily be seen that the curve for the neutralisation of the heated lysin diverges from the other two as neutralisation proceeds.



— Heated lysin 50%
 - - - Normal lysin diluted with an equal volume of NaCl solution
 Normal lysin diluted with an equal volume of lysin destroyed by heat.

Chart IV.

Another experiment with a lysin whose haemolytic power was further destroyed by heating is given below.

A sample of vibriolysin was heated at $47,4^{\circ}$ for 15 minutes. It was then found that 0,1 c. c. of heated lysin and 0,03 c. c. of normal lysin gave equivalent haemolysis. Therefore the lysin now contains 13% of its original haemolytic power. A quantity of normal lysin was diluted with five times its bulk of 0,9% NaCl solution so as to bring its haemolytic power as nearly as possible to the same strength as that of the heated lysin. The neutralisations of the two were then compared as before and gave the values tabulated.

Table III.

Antilysin c. c.	Volumes of the mixtures producing equal haemolysis	
	Normal lysin c. c.	Heated lysin 13% c. c.
0	0,2	0,25
0,00001	0,2	0,25
0,00005	0,25	0,3
0,0001	0,3	0,4
0,00012	0,3	0,4
0,00015	0,3	0,5
0,0002	0,4	0,65
0,00025	0,4	0,8
0,0003	0,4	1,0

The antilysin (goat) used is the same in all the experiments.

Here we see the same phenomenon that the heated lysin requires less antilysin for neutralisation.

The series has not been extended quite so far as in the previous case.

Before attempting an investigation into the quantitative variations of this phenomenon under the influence of different lengths of exposure to heating, it was necessary to eliminate one of the two varying factors namely the haemolytic action. If one could keep this constant during exposure to heat, it might be possible to measure differences in the amount of antibody required for neutralisation, if there were any under such circumstances. To this end it was expedient at first to find the temperature which the lysin would tolerate for an extended period of time (as 24 hours) without deterioration of any of its haemolytic power. In the crude state of the lysin it was found that this point was only very slightly raised above 37° , the temperature at which the lysin was prepared, owing to the content of alkali present. When this was largely neutralised, the temperature limit was raised to about 41° .

Experiments upon the Immunising Property of heated Vibriolysin. 167

Three portions of 100 c. c. of vibriolysin were prepared, to each of which was added 2,6 c. c. of $\frac{1}{1}$ normal HCl. The solutions were still faintly alkaline to litmus. One portion was heated at 40°, another at 39° for 24 hours, the last remaining as a control. The neutralising effect of antilysin was investigated as before.

Table IV.

Antilysin c. c.	Volumes of the mixtures producing equal haemolysis		
	Normal lysin c. c.	Lysin heated at 39° c. c.	Lysin heated at 40° c. c.
0	0,065	0,065	0,065
0,003	0,25	0,25	0,3
0,0035	0,3	0,3	0,4
0,004	0,4	0,4	0,5
0,0045	0,4	0,5	0,65
0,005	0,65	0,65	1,2
0,00525	0,65	0,8	1,6
0,0055	0,8	1,0	2,0

From this experiment we observe that the heating has had no deleterious effect upon the haemolysin, for all three lysins start from the same point, but despite this fact neutralisation proceeds differently. Just as before the heated lysin requires less antilysin to neutralise it. This is well seen in the case of the sample heated at 40°. With that heated at 39° the difference is not enough to prove anything definite, and this can be well understood as the temperature is only 2° above 37°.

In another experiment the lysin was partially neutralised with acid as before, but heated at a temperature of 40,7—41° for 24 hours.

Table V.

Antilysin c. c.	Volumes of mixtures producing equal haemolysis	
	Normal lysin c. c.	Heated lysin 40,7°—41° c. c.
0	0,05	0,05
0,003	0,25	0,3
0,0035	0,3	0,4
0,004	0,4	0,4
0,0045	0,5	0,65
0,005	0,8	0,8
0,00525	1,0	2,0
0,0055	1,2	>2,0

Here again we see the same phenomenon as in the last experiment.

Hence we arrive at the conclusion that it is possible to heat vibriolysin so that it requires less antilyisin for neutralisation although there is no change in its haemolytic power.

Further experiments are being proceeded with to investigate the cause of this unexpected result.

In conclusion I wish to thank Dr. Madsen for his kind help and suggestions throughout this research.

Zusammenfassung.

1) Vibriolysin, dessen hämolytische Wirkung durch Erwärmung auf 47,3° verloren gegangen ist, hat auch seine antilyisinproduzierende Fähigkeit verloren.

Bei partiell destruiertem Vibriolysin ist die antilyisinproduzierende Fähigkeit in groben Zügen proportional dem Gehalt von wirksamem Hämolysin.

2) Bis 47,4° erwärmtes Vibriolysin erfordert für Neutralisation weniger Antilyisin als normales (nicht erwärmtes) Vibriolysin von derselben Stärke.

Wird das freie Alkali des Vibriolysins neutralisiert, kann man bei gewissen Temperaturen das Vibriolysin erwärmen, ohne Aenderung der hämolytischen Fähigkeit, während die antilyisinbindende Fähigkeit vergrößert wird.

3) Bei der Erwärmung des Vibriolysins findet eine Bildung von Toxoiden in dem Ehrlichschen Sinne nicht statt.

References.

- 1) Madsen and Famulener, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 2, Heft 1, 2 u. 3.
- 2) Atkin, *Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exper. Therapie*, Bd. 1.
- 3) Tallquist, *Zeitschr. f. Hygiene u. Inf.*, Bd. 58, 1907.

Nachdruck verboten.

[Aus den Runcorn Research Laboratories der Liverpool School of Tropical Medicine.]

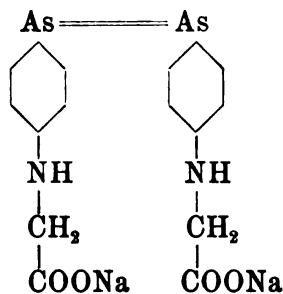
Beitrag zur Kenntnis des Arsenophenylglycins.

Von **A. Breinl** und **M. Nierenstein**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Oktober 1909.)

Die von Ehrlich und seinen Mitarbeitern aufgestellte Auffassung, daß das Atoxyl im Organismus einer Reduktion unterliege und erst nachher auf Parasiten, wie Trypanosomen, einen zerstörenden Einfluß ausübe, hat Ehrlich dazu veranlaßt, das Arsenophenylglycin, in dem das Arsen dreiwertig ist, auf dessen trypanozide Wirkung zu prüfen.

Das Arsenophenylglycin,



wurde zuerst von Bertheim dargestellt. Ehrlichs¹⁾ Versuche damit haben ihn zu der Schlußfolgerung geführt, daß „wir in dem Arsenophenylglycin einen Stoff ausfindig gemacht haben, der im Tierversuche geradezu Ideales leistet, da es, genau genommen, gelingt, bei jedem Versuchstier und bei jeder verwandten Trypanosomenart mit einer einzigen Injektion Heilung herbeizuführen“.

Die Ehrlichschen Versuche wurden hierauf von Roehl²⁾ wieder aufgenommen und weiterhin ausgedehnt. Es wurde von ihm nicht nur auf die heilende Wirkung des Arsenophenylglycins bei den verschiedensten Versuchstieren, die mit

1) Ehrlich, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Jahrg. 42, Heft 1.
 2) Roehl, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909, p. 633.

pathogenen Trypanosomen infiziert waren, sondern auch auf dessen prophylaktische Wirkung bei Mäusen hingewiesen. Er kommt zu der Ueberzeugung, daß Arsenophenylglycin mit Sicherheit bei einmaliger Injektion und gefahrlosen Dosen selbst schwere Trypanosomenerkrankungen bei Mäusen und Kaninchen heile, Meerschweinchen dagegen schwerer heilbar seien. Dieselben guten Resultate wurden dann auch von Wendelstadt¹⁾ an trypanosomeninfizierten Ratten erhalten; er wies jedoch darauf hin, daß, wenn er nicht das Vakuumpräparat, das nicht Arsenoxydphenylglycin enthielt, verwendete, die behandelten Ratten erblindeten. Insbesondere interessant war die Feststellung der Tatsache, daß auch Trypanosoma Lewisi, das bisher gegen jede Behandlung sich resistent erwiesen hatte, durch Arsenophenylglycin aus der peripheren Zirkulation zum Verschwinden gebracht werden konnte.

Weitere Versuche wurden dann von Schilling²⁾ und Schilling und Jaffé³⁾ mitgeteilt, die das Arsenophenylglycin mit Rücksicht auf seine Wirksamkeit auf trypanosomeninfizierte Hunde und Pferde beobachteten. Schilling konnte feststellen, daß kleinere Versuchstiere nach Injektion von Arsenophenylglycin einen gewissen Grad von Immunität erworben hatten, welche jedoch nach kurzer Zeit wieder verloren ging. Er fand weiterhin, daß besonders große Versuchstiere nach Dosen von 0,06—0,1 g pro Kilo in ziemlich kurzer Zeit an Vergiftung zugrunde gingen und lenkte die Aufmerksamkeit besonders auf die Abmagerung der Tiere nach Darreichung von großen Dosen von Arsenophenylglycin.

Weiterhin wurde dann auch die Wirksamkeit dieses Präparates bei Syphilis und progressiver Paralyse⁴⁾ erprobt.

Durch die Gefälligkeit Ehrlichs, der uns eine größere Menge von Arsenophenylglycin (Vakuumpräparat) zu Versuchszwecken überließ, wurden wir instand gesetzt, im hiesigen Laboratorium dessen Wirksamkeit in der Behandlung der experimentellen Trypanosomiasis zu erproben. Hatten doch Ehrlich

1) Wendelstadt, Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 2263—2268.

2) C. Schilling, Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. 13, 1908.

3) C. Schilling und J. Jaffé, Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. 13, 1909.

4) K. Alt, Münch. klin. Wochenschr., 1909, No. 29.

und Roehls Mitteilungen schon die Hoffnung erweckt, daß wir endlich das ersehnte Mittel in unserer Hand hätten, mit dem es gelingt, durch eine einmalige Medikation (Therapia sterilisans Ehrlich) den Organismus tatsächlich von allen Parasiten zu befreien und daß wir im Arsenophenylglycin ein praktisches Heilmittel für die Trypanosomiasis von Mensch und Tier kennen gelernt hätten.

Wir hatten nach einigen tentativen Versuchen an Ratten und Meerschweinchen unser Hauptaugenmerk hauptsächlich auf die Behandlung größerer Tiere, wie Hunde, Esel und Pferde, gerichtet.

Von 20 Ratten, die wir teils mit der von Roehl angegebenen Dosis 0,4, per Kilogramm, teils mit geringeren Mengen behandelten, starben die meisten einige Tage nach der Injektion an einer Vergiftung; bei der Sektion fand sich dabei gewöhnlich eine heftige Entzündung der Darmschleimhaut. Nur eine einzige überlebte die Behandlung und ist nach einer einmaligen Injektion (0,35 pro Kilo) am 240. Tage nach der Infektion noch am Leben.

Tabelle I enthält unsere Resultate an Meerschweinchen. Von 5 Tieren sind noch 2 am Leben und können diese wohl als definitiv geheilt angesehen werden.

Tabelle I.

Ex-periment No.	Krankheit	Gewicht	Behandlung nach	Dosis	Rezidive	Bemerkungen
377	Tryp. equinum	625 g	55 Tag.	0,11 g	∅	Tod 61 Tage nach Beginn der Behandlung an Vergiftung
389	T. gambiense	515 g	29 „	0,1 g	—	Tod 33 Tage nach Beginn der Behandlung
397	T. Brucei	495 g	24, 57 Tagen	0,1, 0,1 g	nach 46 Tagen	Tod am 58. Tage (Vergiftung)
286 A	T. Brucei	515 g	13 Tag.	0,1 g	∅	Noch lebend am 240. Tage, Gewicht 665 g
286 B	T. Brucei	370 g	13 „	0,05 g	∅	Noch lebend am 240. Tage, Gewicht 780 g

Bei der Behandlung von Affen (Tabelle II) erhielten wir sehr gute Resultate, indem eine einzige Injektion eine Heilung

herbeiführte; die Maximaldosis war beiläufig 0,1 g pro Kilo; Affe XXVII, der eine Injektion von beiläufig 0,13 pro Kilo erhielt, ging an einer Vergiftung zugrunde.

Tabelle II.

Experiment No.	Species	Krankheit	Gewicht	Behandlung nach	Dosis	Rezidive	Bemerkung
XXI	Macacus rhesus	T. gambiense	2 kg 750 g	38 Tagen	0,2 g	+	Noch lebend am 275. Tage. Gewicht 3 kg 320 g.
XXIII	Macacus rhesus	T. gambiense	2 kg 465 g	37 Tagen	0,2 g	+	Noch lebend am 276. Tage. Gewicht 3 kg 40 g.
XXVII	Cercopithecus mona	T. gambiense	2 kg 290 g	24 Tagen	0,3 g	+	Starb am 27. Tage (Vergiftung). Sektionsbefund: Lungenödem, leichte Nephritis, Hyperämie des Dünndarmes.

Sehr günstige Resultate erhielten wir bei der Behandlung von infizierten Hunden mit Arsenophenylglycin.

Es ist eine wohlbekannte Tatsache, daß Hunde gegen Arsen in Form des Atoxyls sehr empfänglich sind¹⁾ und schon geringe Dosen davon eine heftige Nierenentzündung und damit den Tod der Tiere hervorrufen. Ganz verschieden verhalten sich Hunde gegen das Arsen im Arsenophenylglycin. Man kann relativ enorme Dosen, bis zu 0,25 pro Kilo, einem mittelgroßen Hunde darreichen, ohne daß Vergiftungserscheinungen sich einstellen. Höhere Dosen als 0,3 pro Kilo haben gewöhnlich den Tod des Tieres in einigen Tagen zur Folge.

Wie Tabelle III zeigt, konnte nur in jenen Fällen, in denen die Behandlung sehr frühzeitig begonnen wurde (Experiment 298, 299), durch eine einmalige Injektion das Rezidiv verhindert werden. Wurde die Behandlung jedoch in einem vorgeschrittenen Stadium der Krankheit begonnen, so traten zwar im Verlaufe der Behandlung Rückfälle wieder auf, es konnte aber (mit Ausnahme von 283, welches Tier schließ-

1) Vergl. Igersheimer und Itami, Zur Pathologie und pathologischen Anatomie der experimentellen Atoxylvergiftung. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakologie. Bd. 61, 1909, p. 35.

lich einer Vergiftung erlag) die übrigen Tiere durch wiederholte Injektionen von Arsenophenylglycin der Heilung zugeführt werden ¹⁾).

Tabelle III.

Experiment No.	Krankheit	Gewicht	Behandlung nach	Dosis Arsenophenylglycin	Rezidiv am	Bemerkung
282	T. Brucei	6 kg 600 g	4, 11 Tagen	0,25, 0,3 g	11. Tage	Nach 195 Tagen war das Blut noch frei von Parasiten. Der Hund erkrankte an Räude und wurde absichtlich nicht behandelt. Er starb am 214. Tage an Räude, ohne daß Trypanosomen wieder im Blute beobachtet wurden ²⁾).
283	T. Brucei	19 kg	9, 13, 21, 36, 49, 68, 89, 119 Tagen	0,6, 0,5, 0,5, 0,5, 0,9, 1,5, 2,0, 4,0 g	36., 49., 68., 89., 119. Tage	Starb am 120. Tage an Vergiftung. Sektionsbefund: Parenchymatöse Degeneration von Herz und Leber, geringgradige Nephritis, leichte Milzvergrößerung.
284	T. Brucei	11 kg 190 g	13, 39, 70, 103 Tagen	1,1, 1,2, 1,1, 2,0 g	39., 69., 102. Tage	Noch lebend am 245. Tage in guter Gesundheit.
296	T. Brucei	7 kg 960 g	14 Tagen	0,8 g	⊕	Noch lebend am 219. Tage in guter Gesundheit.
298	T. Brucei	15 kg	4 Tagen	1,5 g	⊕	Noch lebend am 112. Tage in guter Gesundheit.
299	T. Brucei	15 kg 750 g	3 Tagen	1,5 g	⊕	Noch lebend am 112. Tage in guter Gesundheit.

Weniger günstig waren die Behandlungsergebnisse von infizierten Eseln und einem infizierten Pony mit Arsenophenylglycin. (Siehe Tabelle IV.)

Einer unserer Esel starb nach Darreichung von beiläufig 0,1 g Arsenophenylglycin pro Kilo Tier in 5 Stunden nach der Injektion. Esel No. 297 starb am 13. Tage nach einer intramuskulären Injektion in die Glutäalregion; dieselbe war

1) Der von uns verwendete Stamm von T. Brucei tötete Hunde in der Regel nach 15–20 Tagen.

2) In einem unserer Affenexperimente fanden wir, daß eine interkurrente Eiterung nach einem längeren negativen Zwischenstadium die Parasiten zum Wiedererscheinen gebracht hatte.

von einer jauchigen Gangrän der Muskeln gefolgt, der das Tier auch erlag.

In den beiden anderen Tieren 290 und 291 und dem Pony No. 285 war die Injektion sehr hoher Dosen doch von einem Rezidiv gefolgt. Eine weitere Injektion brachte die Parasiten zwar zeitweilig zum Verschwinden, doch erlagen die Tiere späterhin der Krankheit.

Tabelle IV.

Ex-periment No.	Krank-heit	Ge-wicht	Be-hand-lung nach	Dosis	Rezidiv am	Bemerkung
Esel 290	T. Brucei	104 kg 700 g	34, 71 Tagen	10 g, 8 g	71., 96. Tage	Starb am 100. Tage. Zahlreichste Parasiten im Blute.
Esel 291	T. Brucei	108 kg 324 g	18 Tagen	10 g	∅	Starb 5 Stunden nach der Injektion; Sektionsbefund: akutes Lungenödem, Herzmuskelfasern mikroskopisch stark fettig degeneriert. Die übrigen Organe zeigten nur die typischen Veränderungen von Trypanosomiasis.
Esel 292	T. Evansi	145 kg 048 g	17, 49 Tagen	10 g, 10 g	48., 65. Tage	Starb am 19. Tage. Zahlreichste Parasiten im Blute.
Esel 297	T. Brucei	107 kg	3 Tagen	8 g	∅	Starb am 13. Tage an einer jauchigen Gangrän der Glutäalmuskulatur, folgend der Injektion.
Pony 285	T. Brucei	170 kg 950 g	26, 63, 79 Tagen	12, 10, 8 g	62., 78. Tage	Starb am 85. Tage. Keine Parasiten im Blute mikroskopisch nachzuweisen; das Tier stark abgemagert.

Eine Zusammenfassung unserer Versuchsergebnisse zeigt uns, daß das Arsenophenylglycin in seiner Wirkung auf Trypanosomen dem Atoxyl sicherlich überlegen ist; doch weisen unsere Resultate auch darauf hin, daß proportional mit dem Körpergewichte des Tieres die Schwierigkeit einer erfolgreichen Behandlung wächst. Während bei Meerschweinchen, Affen und mittelgroßen Hunden mit großen Dosen von Arsenophenylglycin ziemlich gute Resultate erhalten wurden, waren wir nicht imstande, infizierte Esel, mit Dosen, die der letalen sehr nahe kamen, vom sicheren Tode zu retten.

Bemerkenswert ist, daß nach der Injektion innerhalb 3—4 Stunden die Parasiten aus dem Blute verschwunden waren, während nach Atoxyldarreichung derselbe Effekt erst 14—19 Stunden nach der Injektion erreicht wurde.

Während, wie wir oft zu beobachten Gelegenheit hatten, kurze Zeit nach Atoxylinjektion die Anzahl der Parasiten im Blute für einige Zeit stetig zunahm, ist solchen nach Darreichung von Arsenophenylglycin nicht zu beobachten. Auch in letzterem Falle ist der bekannte Temperaturanstieg nach der Injektion zu beobachten.

Während jedoch nach Atoxyl die Körpertemperatur an dem der Injektion folgenden Tage subnormal ist, findet nach Arsenophenylglycin nur ein langsames und stetiges Fallen zur Norm statt. Tabelle V ist ein Beispiel für diese Behauptung, enthaltend eine stündliche vergleichende Beobachtung der Temperatur und Parasitenzahl in unserem Pony nach der Injektion von 12 g von Arsenophenylglycin.

Tabelle V.

Datum	Zeit	Temperatur	Parasitenzahl
23. März Injektion	9 a. m.	104,4	30 Tryps. im Gesichtsfelde
	11 "	102,9	30 " " "
	12 Mittag	102,9	30 " " "
	1 p. m.	103,6	15 " " "
	2 "	104,6	15 " " "
	3 "	106,1	1—5 " " "
	4 "	104,0	negativ
	5 "	103,9	"
24. März	8 a. m.	105,6	"
	6 p. m.	103,6	"
25. März	8 a. m.	102,4	"
	6 p. m.	101,2	"

Besonders auffällig ist die Tatsache, auf die auch schon Schilling hinwies, daß sehr häufig im Verlaufe der Behandlung die Tiere in sehr kurzer Zeit auffallend abmagerten.

Um einen Einblick in den Wirkungsmechanismus des Arsenophenylglycins im Organismus zu gewinnen, wurde einerseits dessen Ausscheidungsmodus im Harne studiert, und andererseits besonderes Augenmerk auf jene Veränderungen gerichtet, welche sich nach der Injektion im Blutserum abspielten.

Für die Ausscheidungsexperimente wurden Hunde verwendet; zur Klarstellung der Frage, ob die Trypanosomeninfektion als solche das Schicksal des Arsenophenylglycins im Körper beeinflusse, wurden einem Hunde die gleiche Menge von Arsenophenylglycin zunächst einige Zeit vor der Infektion und späterhin zu einer Zeit injiziert, wo die Trypanosomeninfektion voll entwickelt war.

Hund A: Gewicht 4 kg 800 g, erhielt am 25. III. 0,5 g Arsenophenylglycin subkutan. In den folgenden 24 Stunden schied er 554 ccm Harn aus.

100 ccm wurden zur Bestimmung des Totalarsengehaltes verwendet, welcher 0,0394 g As_2O_5 betrug. In weiteren 200 ccm wurde der Gehalt an freiem anorganischen Arsens bestimmt, das im Organismus aus dem Arsenophenylglycin freigesetzt worden war. Dieser betrug 0,0084 g As_2O_5 .

Gefunden wurde in 554 ccm Harn demnach 0,2410 g As_2O_5 .

Das injizierte Arsenophenylglycin enthielt 0,256 g As_2O_5 .

Bei der qualitativen Prüfung konnte sowohl Aceton und Acetessigsäure, als auch Eiweiß im Harne nachgewiesen werden.

In den folgenden 24 Stunden, vom 26. bis zum 27. III., wurden 114 ccm Harn ausgeschieden. Bei der qualitativen Prüfung konnte noch deutlich mittels der von Nierenstein¹⁾ modifizierten Sangerschen Methode Arsen gefunden werden; auch die obigen Reaktionen auf Eiweiß, Aceton und Acetessigsäure waren noch positiv. In den nächsten zweimal 24 Stunden wurden 157 und 194 ccm Harn ausgeschieden; die Untersuchung auf Arsen ergab keine eindeutigen Resultate, während die übrigen Proben noch deutlich positiv waren.

10 Tage später wurde derselbe Hund mit Tryp. Brucei infiziert und erhielt am 15. IV., als im peripheren Blute ca. 15 Trypanosomen im Gesichtsfelde im frischen Präparate gesehen werden konnten, eine Injektion von 0,5 g Arsenophenylglycin.

Während der folgenden 24 Stunden schied er 1046 ccm Harn aus. 100 ccm enthielten 0,0196 g As_2O_5 bei der Prüfung auf den Totalarsengehalt. 200 ccm enthalten 0,0098 g freies anorganisches Arsen.

Gefunden wurde für 1046 ccm Harn 0,284 g As_2O_5 .

Das injizierte Arsenophenylglycin enthielt 0,256 g As_2O_5 ²⁾.

Eiweiß, Aceton und Acetessigsäure waren deutlich nachweisbar.

In den folgenden zweimal 24 Stunden wurden 280 ccm und 176 ccm Harn ausgeschieden. Ebenso wie in den früheren Experimenten konnte auch hier Eiweiß, Aceton und Acetessigsäure, doch auch Arsen deutlich nachgewiesen werden.

1) Nierenstein, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, Vol. 2, 1908, p. 249.

2) Die Differenz zwischen gefundenem und injiziertem Arsenophenylglycin beruht auf einem Versuchsfehler.

Hund B: Gewicht 7 kg 730 g, erhielt am 29. IV. 1,0 g Arsenophenylglycin subkutan. Während der folgenden 24 Stunden schied er 670 ccm Harn aus. 100 ccm enthielten 0,0724 g As_2O_5 (Totalarsen) und weitere 100 ccm 0,0059 g freies anorganisches Arsen.

Gefunden wurde in 670 ccm Harn 0,485 g As_2O_5 .

Das injizierte Arsenophenylglycin enthielt 0,512 g As_2O_5 .

Während der folgenden zweimal 24 Stunden wurden 194 resp. 235 ccm Harn ausgeschieden; derselbe enthielt Arsen in qualitativ nachweisbarer Menge; auch in diesem Falle konnte Eiweiß, Aceton und Acetessigsäure bei jeder Untersuchung nachgewiesen werden.

Die oben angeführten Versuche führen uns zu der Schlußfolgerung, daß das Arsen des Arsenophenylglycins beinahe quantitativ während der der Injektion folgenden 24 Stunden im Hundeharn ausgeschieden wird, und daß eben nur Spuren im Organismus zurückbleiben.

Der Gehalt des Harnes an Eiweiß, Aceton und Acetessigsäure weist darauf hin, daß das Arsenophenylglycin beim Durchgang durch den Organismus ziemlich tiefgreifende Läsionen verursacht. Interessant ist ferner auch die bedeutende Zunahme der Harnmenge nach Darreichung von Arsenophenylglycin, eine Zunahme, wie sie ähnlich auch nach Atoxylarreicherung beobachtet werden kann.

Im Verlaufe unserer Experimente war es auffällig, daß bei der Sektion jener Versuchstiere, die an einer Vergiftung einige Tage nach der Injektion zugrunde gegangen waren, sich die Verfettung von Leber und Niere, wie eine solche regelmäßig nach Atoxylvergiftung aufzutreten pflegt, nicht nachweisen ließ. Hingegen konnten wir beobachten, daß das Blutserum, welches dem Pony einige Stunden nach der Injektion von Arsenophenylglycin entnommen worden war, hochgradig verändert erschien. Das Serum war nach Gerinnung und Segmentierung der festen Bestandteile ganz undurchsichtig opak und wies eine dottergelbe Färbung auf. Daß diese Veränderung auf einem abnormen Fettgehalte des Serums beruhte, konnte dadurch festgestellt werden, daß nach gründlicher Ausziehung mit Aether dasselbe anscheinend seine normale Farbe und Beschaffenheit wieder erhielt.

Um festzustellen, ob im Verlaufe der Arsenophenylglycinbehandlung der Fettgehalt des Blutserums eine deutliche Ver-

änderung erfahre, wurde Eselserum vor und nach der Injektion von großen Dosen Arsenophenylglycin auf dessen Gehalt an Lecithin und Fett untersucht. Zu diesem Zwecke wurde 100 ccm Serum mit 150 ccm Aether gut geschüttelt, der Aether vom Serum getrennt und abgedampft. Der Rückstand wurde dann, nachdem er gewogen war, wieder in Aether aufgenommen und daraus das Lecithin und Cholestearin, späterhin kurzweg Lecithin genannt, mittels Acetons gefällt; hierauf wurde filtriert und der Aether abgedampft. Die Gewichts-differenz gibt dann den Gehalt an Lecithin und Cholestearin an.

In Tabelle VI geben alle Werte die Durchschnittszahl zweier Experimente an.

Tabelle VI.

Experiment No.	Lecithin	Fett	Jodzahl
290			
Vor der Injektion	0,7772	0,5015	112,5
4 Stunden nach der Injektion	0,9643	0,8764	74
292			
Vor der Injektion	0,5492	0,7437	117,5
4 Stunden nach der Injektion	1,9689	1,6940	62
289			
Vor der Injektion	0,5643	0,8236	124
4 Stunden nach der Injektion	1,244	2,4364	45

Aus diesen Experimenten ist ersichtlich, daß kurze Zeit nach der Injektion von Arsenophenylglycin der Gehalt des Blutes an Fett eine deutliche Zunahme erfährt, was wohl sicherlich auf Kosten der Proteine des Organismus vor sich geht, eine Annahme, die wohl auch die auffällige und so rapide Abmagerung der Versuchstiere nach Arsenophenylglycinbehandlung erklärt. Dieses steht auch im Einklang mit dem Auftreten von Eiweiß, Aceton und Acetessigsäure im Harne.

Sehr interessant ist ferner auch die Lecithinzunahme des Blutserums. Ob es sich hierbei wirklich um eine Transformation der Proteine des Organismus in Fett im Sinne der

Hofmannschen Theorie¹⁾ handelt, können nur weitere und die ausgedehntere Versuche klarstellen.

Man könnte annehmen, daß dem Fette vielleicht die Eigenschaft zukomme, das Arsenophenylglycin und das freie Arsen zu lösen. Andererseits könnte es sich dabei vielleicht um einen Additionsvorgang zwischen Fett und Arsenophenylglycin handeln, zum Zwecke der rascheren Entgiftung des Organismus. Letztere Auffassung ist wahrscheinlicher, da sie die auffällige Verminderung der Jodzahl erklärt.

Zusammenfassung.

1) Das Arsenophenylglycin hat sich in der Behandlung der experimentellen Trypanosomenerkrankungen dem Atoxyl gegenüber überlegen erwiesen, besonders in Affen, Hunden und Meerschweinchen.

2) In großen Versuchstieren, besonders Eseln, können selbst der letalen Dosis nahestehende Mengen von Arsenophenylglycin den tödlichen Ausgang einer Trypanosomeninfektion nicht verhüten.

3) Das Arsenophenylglycin wird beim Hunde in den ersten 24 Stunden beinahe quantitativ im Harne ausgeschieden.

4) Injektionen von Arsenophenylglycin sind von einer beträchtlichen Fett- resp. Lecithinzunahme des Blutserums gefolgt.

1) Hofmann, Der Uebergang von Nahrungsfett in die Zellen des Tierkörpers. *Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 8, 1872, p. 153. Vergl. auch K. B. Lehmann, Ein Beitrag zur Entstehung des Leichenwachses aus Eiweiß. *Sitzungsber. der physikal.-med. Gesellsch. zu Würzburg*, 1888. Auch Jakobsthal, Die Fettbildung beim Reifen des Käses. *Pflügers Archiv*, Bd. 54, 1903, p. 484.

Nachdruck verboten.

[Aus der Hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg a. L.]

Ueber die Schnellimmunisierungsmethode von Fornet und Müller (Präzipitine und Hämolysine).

Von Prof. **H. Bonhoff** und Generalarzt Dr. **M. Tsuzuki**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Oktober 1909.)

In einer Arbeit von W. Fornet und M. Müller, die im 1. Band der Zeitschrift für biologische Technik und Methodik, Straßburg 1908, erschienen ist und den Titel führt: „Zur Herstellung und Verwendung präzipitierender Sera, insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch“, geben die Autoren an, daß sie mit einer „Schnellimmunisierung“ imstande gewesen seien, innerhalb 12 Tagen präzipitierende Sera von höchster Wirksamkeit gegen 10 verschiedene Eiweißarten herzustellen, und zwar ohne jeden Tierverlust. Die Methode bewährte sich den Autoren auch zur Erzeugung agglutinierender und vor allem auch hämolytischer Sera (Titer 1 : 20 000). Die Methode besteht darin, „den Tieren alles zur Antikörperproduktion notwendige Antigen einzuführen, bevor noch die Antikörperbildung entwickelt war. Die Kaninchen erhielten daher am 1., 2. und 3. Tage 5, 10 und 15 ccm der zu injizierenden Eiweißart intraperitoneal und wurden am 12. Tage verblutet“.

Diese Mitteilung hat uns veranlaßt, in eine Nachprüfung derselben einzutreten, da sie geeignet erschien, falls die Methode sich auch in anderen Händen bewährte, eine wesentliche Zeitersparnis bei der Erzeugung aller antikörperartigen Substanzen in die Immunisierungspraxis einzuführen, ganz abgesehen von dem fast zu verheißungsvoll klingenden Ausbleiben aller Tierverluste. Die Methode ist an einer größeren Anzahl von Kaninchen, und zwar mit verschiedenen Antigenen, mit roten Blutkörperchen, verschiedenen Eiweißarten und lebenden wie abgetöteten Bakterien geprüft worden. Im folgenden werden die Resultate dieser Prüfung, gesondert nach der Art der Antikörper, mitgeteilt.

I. Präzipitine.

Um einen Vergleich bezüglich der Schnelligkeit der Antikörperbildung zu haben, wurden hier wie bei den später zu beschreibenden Hämolyseversuchen neben den nach der Schnellimmunisierungsmethode behandelten Tiere solche geimpft, bei denen nach alter Weise steigende Dosen des Antigens in Pausen von etwa 6–8 Tagen eingespritzt wurden.

Als Antigen ist meist das frisch erhaltene sterile Blutserum der betreffenden Tierspecies benutzt worden. Von den kleineren Tieren, Ziegen, Kälber, Hammel, war je 1 Exemplar in den Tierstall der Abteilung eingestellt worden. Diesen Tieren ist das Blut aus der Vena jugularis am Tage der Kaninchenimpfung entnommen, sofort ausgeschleudert und das erhaltene Serum in den unten angegebenen Dosen den mit dem Kopfe nach unten gehaltenen Kaninchen intraperitoneal einverleibt worden. Bei Schweinen wurde das Blut im Schlachthofe steril aufgefangen, nach Sedimentierung und Erproben der Sterilität ebenso, wie soeben angegeben, injiziert. Pferdeserum wurde in größeren Mengen steril bezogen, das Menschenserum wurde uns seitens der hiesigen Frauenklinik aus Placenten zur Verfügung gestellt. Außer dem Blutserum ist noch in einigen Fällen Muskelauszug von Rind, Pferd und Schwein zur Antikörperbildung verwendet worden. Dabei wurden möglichst fett- und fascienfreie große Fleischstücke (ca. $\frac{1}{2}$ kg) zunächst etwa 5 Minuten in kochendem Wasser gehalten, dann mit sterilem Messer durchschnitten und nun mit einem zweiten sterilen Messer aus dem Kern der beiden Teilstücke etwa 25 g rohen Fleisches ausgeschabt; die Schabsel wurden mit sterilem Sand und etwas Kochsalzlösung im Mörser zerkleinert, bis zu 50 ccm Kochsalzlösung zugegeben, 2 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und schließlich durch sterile Tücher filtriert, wobei die mit sterilem Gummihandschuh versehene Hand das Auspressen der letzten Flüssigkeitsreste übernahm. Die sterilen, mit dem Fleischsaft gefüllten Gefäße kamen dann für 6 Stunden in den Eisschrank und wurden sodann auf Sterilität geprüft. Nach weiterem 12- bis 18-stündigem Aufenthalt im Eisschrank wurden die steril befundenen Proben Kaninchen in oben beschriebener Weise in die Bauchhöhle eingespritzt.

Als Eiweißarten sind also benutzt worden: Ziegen-, Hammel- und Kalbsserum, Schweineserum, Pferdeserum, Menschenserum. Ferner Muskelauszüge aus Rind-, Schweine- und Pferdefleisch. An Kaninchen sind im ganzen 26 geimpft worden, 10 nach der von Fernet und Müller angegebenen, 16 nach alter Methode. Von den 10 nach Fernet und Müller geimpften Tieren fallen 4 aus, weil sie vor Erleben des 9. Tages nach der Impfung zugrunde gingen. Die Tiere magerten bei uns alle ohne Ausnahme nach der an 3 aufeinander folgenden Tagen beigebrachten Impfung enorm ab und gingen augenscheinlich im Gefolge dieser Impfungen ein. Bei der Sektion zeigten sich keine für eine Infektion charakteristischen Veränderungen, und Ausstriche aus Herzblut, Milzsaft und Bauchhöhle blieben steril.

Von den 6 Tieren, die den 9. Tag nach der letzten Impfung erlebten, sind geimpft worden: 1 mit Schweineserum, 1 mit Pferdeserum, 2 mit Pferdemuskelextrakt, 1 mit Schweinemuskel- und 1 mit Rindermuskelextrakt.

Von den 16 nach alter Methode geimpften Tieren kommen 6 nicht in Betracht, weil sie vor der 4. bzw. 5. Impfung eingingen. Es bleiben also 10 verwertbare Tiere übrig. Je eines derselben ist mit Menschen- bzw. Schweineserum, je 2 mit Ziegen-, Hammel-, Kalbs- und Pferdeserum behandelt worden. Die Dosen, die dabei zur Anwendung kamen, sind sehr verschieden gewesen, ebenso auch die Art der Steigerung. Um über diese Punkte Aufschluß zu geben, mögen eine Anzahl von Impfprotokollen hier wiedergegeben werden.

A. Ziegenserum.

K. 354.	3. III. 09	22,5 ccm	Ziegenserum	ip.	
	11. III. 09	45	"	"	"
	20. III. 09	45	"	"	"
	28. III. 09	45	"	"	"
	5. IV. 09	45	"	"	"
	14. IV. 09	Blutentnahme.	"	Titer gegen	Ziegenserum = 0
			"	"	Hammelserum = 1:1000.
K. 355.	3. III. 09	10 ccm	Ziegenserum	ip.	
	11. III. 09	22,5	"	"	"
	20. III. 09	35	"	"	"
	28. III. 09	45	"	"	"
	5. IV. 09	55	"	"	"
	14. IV. 09	Blutentnahme.	"	Titer gegen	Ziegenserum, Kalbsserum
					und Hammelserum 1:1000.

B. Hammelserum.

- K. 348. 23. II. 09 18 ccm Hammelserum ip.
 2. III. 09 45 " " "
 9. III. 09 50 " " "
 18. III. 09 65 " " "
 27. IV. 09 Blutentnahme. " Titer gegen Hammelserum 1 : 1000.
- K. 366. 13. III. 09 20 ccm Hammelserum ip.
 20. III. 09 20 " " "
 27. III. 09 20 " " "
 5. IV. 09 20 " " "
 15. IV. 09 20 " " "
 24. IV. 09 Blutentnahme. " Titer gegen Hammelserum 1 : 10.

C. Kalbsserum.

- K. 353. 2. III. 09 20 ccm Kalbsserum ip.
 13. III. 09 45 " " "
 20. III. 09 45 " " "
 28. III. 09 30 " " "
 5. IV. 09 38 " " "
 14. IV. 09 Blutentnahme. Titer gegen Kalbsserum 1 : 10 000.
- K. 356. 3. III. 09 22,5 ccm Kalbsserum ip.
 12. III. 09 45 " " "
 20. III. 09 40 " " "
 28. III. 09 25 " " "
 5. IV. 09 38 " " "
 14. IV. 09 Blutentnahme. Titer gegen Kalbsserum 1 : 1000.

D. Pferdeserum.

- K. 344. 18. II. 09 20 ccm Pferdeserum ip.
 23. II. 09 45 " " "
 2. III. 09 55 " " "
 9. III. 09 70 " " "
 16. III. 09 Blutentnahme, wegen hochgradiger Entkräftung. Titer
 1 : 1000.

Die angeführten Beispiele werden genügen, um zu zeigen, daß nach den verschiedensten Richtungen hin versucht worden ist, möglichst wirksame Sera zu erhalten. Auffallend erscheinen vielleicht die zuweilen benutzten hohen Dosen von 65 oder 70 ccm Serum zu einmaliger Einspritzung. Es liegt uns daran, zu betonen, daß einmal solche Dosen von manchen Tieren recht gut vertragen werden; und daß zweitens diese starke Dosierung keineswegs geeignet erscheint, eine besonders starke oder schnelle Auslösung von Präzipitinen hervorzurufen.

Ehe wir dazu übergehen, die Resultate der alten und der Schnellimpfungsmethode miteinander zu vergleichen, muß noch mit einigen Worten der Art und Weise gedacht werden, wie wir den Titer der präzipitinhaltigen Kaninchensera bestimmt haben. Wir machten immer die Schichtprobe in der

Weise, daß das Kaninchenserum in Mengen von 0,25 ccm in kleine enge Reagenzgläschen gefüllt wurde. Dazu wurde dann langsam und vorsichtig an der Wandung des schräg gehaltenen Gläschens ebensoviel des Antigens und seiner Verdünnungen mit Kochsalzlösung, bezw. von anderen Eiweißarten oder von Kontrollösungen hinzugefügt; die Gläschen wurden vorsichtig aufgerichtet, in ein Gestell gebracht und während der nächsten halben Stunde bei Zimmertemperatur beobachtet. Danach kamen sie für eine halbe Stunde in den Brutschrank von 37° C. Als positiv wurden nur diejenigen Röhrchen bezeichnet, bei denen eine deutliche Ringbildung im Vergleich zu einem Kontrollröhrchen mit Kochsalzlösung oder Kaninchenserum zu konstatieren war. In den nun folgenden Tabellen ist nach der Nummer des Kaninchens zunächst angegeben die Art des Antigens, mit dem das Kaninchen behandelt worden ist; sodann die tierische Eiweißart, gegen welche das präzipitinhaltige Kaninchenserum geprüft wurde, in Verdünnungen von 1 : 10, 1 : 1000 etc. bis 1 : 10000. Die Stärke der positiven Reaktion ist in drei Abstufungen angegeben. Die negative Reaktion ist mit horizontalem Strich bezeichnet.

Es sollen zunächst diejenigen Ergebnisse, welche mit dem Serum der 10 nach alter Methode geimpften Kaninchen erhalten wurden, ganz ausführlich aufgezeichnet werden (Tabelle I).

Tabelle I.

No. des Kaninchens	Art des Antigens	Tierische Eiweißart, zur Reaktion benutzt	In Verdünnungen von						
			1 : 10	1 : 100	1 : 1000	1 : 2500	1 : 5000	1 : 7500	1 : 10 000
354	Ziegenserum	Ziege	—						
		Hammel	++	+	+	+	+	—	
		Kalb	+	+	—				
		Schwein	+	—					
		Pferd	+	—					
		Mensch	+	+	—				
355	Ziegenserum	Ziege	+++	++	+	+	—		
		Hammel	+++	++	+	+	—		
		Kalb	+++	++	+	—			
		Schwein	+	+	—				
		Pferd	+	+	—				
		Mensch	+	+	—				

No. des Kaninchens	Art des Antigens	Tierische Eiweißart, zur Reaktion benutzt	In Verdünnung von						
			1:10	1:100	1:1000	1:2500	1:5000	1:7500	1:10 000
348	Hammelserum	Ziege	++	+	+	-			
		Hammel	+++	++	+	+	-		
		Kalb	++	++	+	-			
		Schwein	+	-					
		Pferd	+	-					
		Mensch	-						
366	Hammelserum	Ziege	+	-					
		Hammel	+	-					
		Kalb	+	+	-				
		Schwein	+++	++	+	+	+	-	
		Pferd	+	-					
		Mensch	+	-					
353	Kalbsserum	Ziege	+++	++	+	+	-		
		Hammel	+++	++	+	+	+	+	+
		Kalb	+++	++	+	+	+	+	+
		Schwein	+	+	-				
		Pferd	++	+	-				
		Mensch	++	+	+	-			
356	Kalbsserum	Ziege	+++	++	+	+	-		
		Hammel	+++	++	+	+	+	+	+
		Kalb	+++	++	+	-	-		
		Schwein	+	+	-				
		Pferd	+	+	-				
		Mensch	+	+	-				
344	Pferdeserum	Ziege	-						
		Hammel	+	-					
		Kalb	+	-					
		Schwein	+	+	-				
		Pferd	+++	++	+	+	-		
		Mensch	+	+	-				
345	Pferdeserum	Ziege	+	-					
		Hammel	+	-					
		Kalb	+	-					
		Schwein	+	-					
		Pferd	++	+	+	-			
		Mensch	+	-					
350	Menschen-serum	Ziege	+	-					
		Hammel	+	-					
		Kalb	+	+	+	-			
		Schwein	+	+	-				
		Pferd	-						
		Mensch	+++	++	+	+	-		
363	Schweine-serum	Ziege	-						
		Hammel	-						
		Kalb	++	+	-				
		Schwein	+++	++	+	+	-		
		Pferd	-						
		Mensch	++	+	-				

Eine genaue Analyse dieser Tabelle würde schon zu einer längeren Auseinandersetzung Anlaß geben können. Auffallend ist zunächst die geringe Anzahl der Tiere, die den Titer 1:10000 erreichen, nur 2 unter 10; dabei erreicht ihn das eine dieser Tiere nicht einmal dem Antigen gegenüber, sondern nur bei einer verwandten Eiweißart. Aber noch andere Ergebnisse dieser Tabelle sind recht wunderbar, vor allem das Verhalten der beiden Sera von K. 354 und 366. Ein mit Ziegenserum behandeltes Kaninchen gibt mit Ziegenserum gar kein Präzipitat, dagegen mit Hammelserum noch in der Verdünnung 1:5000, mit Kalbs- und Menschenserum noch in Verdünnung von 1:100. Und bei K. 366 sehen wir Schweineeiweiß 1:5000 positiv reagieren, während das Antigen, das Hammelserum, ebenso wie das verwandte Ziegenserum zwar bei Verdünnung 1:10, nicht mehr aber bei Verdünnung 1:100 präzipitieren. Es würde zu weit führen, wenn wir uns auf eine ausführliche Besprechung dieser Dinge einlassen wollten, zumal sie mit unserem Thema nur in losem Zusammenhange stehen. Wir begnügen uns deshalb mit der kurzen Erwähnung des bisher Hervorgehobenen und schließen diese Kritik mit der Unterstreichung der Tatsache, daß im großen und ganzen die Ergebnisse bei diesen 10 Tieren übereinstimmen mit den bisher durch die Untersuchungen früherer Autoren auf diesem Gebiete gewonnenen Feststellungen.

Wir wenden uns zur Untersuchung des Verhaltens der 6 Kaninchen, die nach der Fernet-Müllerschen Schnellimmunisierungsmethode behandelt waren. In der folgenden Tabelle II ist mitgeteilt, wie sich die Sera dieser Kaninchen gegenüber den 6 auch oben herangezogenen Eiweißarten verhalten haben.

Diese zweite Tabelle gibt sehr bemerkenswerte Resultate. Es sei zunächst erwähnt, daß das Kaninchen 377 erhalten hat am 23. März 1909 8 ccm Pferdeserum ip., am 24. März 10 ccm, am 25. März 20 ccm. Entblutung am 3. April 1909. Das Kaninchen 381 hat erhalten am 3. April 1909 3 ccm, am 4. April 3 ccm, am 5. April 7,5 ccm Schweineserum in die Ohrvene. Die übrigen vier Kaninchen sind gleichmäßig mit den Muskelextrakten, und zwar derart geimpft worden, daß

Tabelle II.

No. des Kaninchens	Art des Antigens	Tierische Eiweißart, zur Reaktion benutzt	In Verdünnung von						
			1:10	1:100	1:1000	1:2500	1:5000	1:7500	1:10 000
377	Pferdeserum	Ziege	+	—					
		Hammel	+	—					
		Kalb	+	—					
		Schwein	+	+	—				
		Pferd	+++	++	+	+	+	—	
		Mensch	+	—					
371	Pferdemuskel-extrakt	Ziege	+	+	—				
		Hammel	+	+	—				
		Kalb	+	+	—				
		Schwein	+	+	—				
		Pferd	+++	++	+	+	+	+	+
		Mensch	+	+	—				
372	Pferdemuskel-extrakt	Ziege	—						
		Hammel	—						
		Kalb	—						
		Schwein	+	—					
		Pferd	+++	++	+	+	+	+	+
		Mensch	+	—					
381	Schweineserum	Ziege	+?	—					
		Hammel	—						
		Kalb	—						
		Schwein	+	+	—				
		Pferd	—						
		Mensch	—						
368	Schweinemuskel-extrakt	Ziege	—						
		Hammel	—						
		Kalb	—						
		Schwein	—						
		Pferd	—						
		Mensch	—						
369	Rindermuskel-extrakt	Ziege	—						
		Hammel	—						
		Kalb	++	+	—				
		Schwein	—						
		Pferd	—						
		Mensch	—						

ihnen am ersten Tage 10 ccm, am zweiten 20 ccm, am dritten 30 ccm der betreffenden Extrakte in die Bauchhöhle injiziert und ihnen das Blut am 9. Tage nach der letzten Impfung aus der Carotis entnommen wurde.

Wenn wir nun die Ergebnisse der Tabelle zunächst für sich betrachten, so ist zweifellos, daß dem Pferdemuskel-extrakt eine besondere Fähigkeit zur Präzipitinerzeugung zu-

kommt, wie dies ja auch F o r n e t und M ü l l e r schon betonen. Von den beiden einzigen mit diesem Extrakt geimpften Tieren wird ein sehr hochgradig wirksames Blutsèrum geliefert, während das ebenso übertragene Pferdeserum eine weit schwächere Serumart auslöst. Umgekehrt verhält sich das Ergebnis bei den zwei mit Schweineserum und Schweine-muskelextrakt behandelten Tieren. Hier hat nur das in ganz geringen Mengen in die Ohrvene eingespritzte Serum ein schwach positives Resultat ausgelöst, während der Muskel-extrakt überhaupt völlig versagt hat. Und auch der Extrakt des Rindermuskels ist nur zu einer schwachen Präzipitinauslösung befähigt gewesen. Diese Ergebnisse bestätigen also das, was F o r n e t und M ü l l e r behauptet haben.

Nicht minder von Interesse ist aber ein Vergleich der Ergebnisse der zweiten Tabelle mit denen der ersten; vor allem auch wieder bei dem Pferdeeiweiß als Antigen. Wenn wir sahen, daß Kaninchen 377 in 12 Tagen, nachdem ihm in 3 Tagen insgesamt 38 ccm Pferdeserum eingespritzt sind, ein Präzipitin mit der Wirksamkeit 1:5000 beherbergt, während die Kaninchen 344 und 345, nachdem sie in 4 Wochen insgesamt je 190 ccm Pferdeserum erhalten haben, nur einen Titer von 1:1000, bzw. von 1:2500 in ihrem Serum schaffen können, so wird es sich dabei kaum um Zufälligkeiten handeln. Unverkennbar ist auch die größere Spezifität des Serums. Hinsichtlich der übrigen Antigene scheint es uns nicht möglich, aus dem zu kleinen Tiermaterial irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Bezüglich der mit Pferdeeiweiß behandelten Tiere aber sei nochmals hervorgehoben, daß wir die spezifische Wirkung des Pferdemuskelextraktes, sowie den wesentlichen Vorteil bestätigen können, der in der Kürze der zur Erzeugung wirksamer Antikörper nötigen Zeit liegt und in der geringen Menge des einzuspritzenden Materials.

Versuche, die wir anstellten, um nach der ersten Blutentnahme, nach Erholung der Tiere, durch Wiederholung des Impfzyklus die Antikörper noch konzentrierter zu erhalten, sind uns sämtlich gescheitert. Alle derartig behandelten Kaninchen gingen, meist am ersten oder zweiten Tage der Wiederholungsimpfung, unter den Erscheinungen der Anaphylaxie plötzlich zugrunde.

II. Hämolyse.

Zur Gewinnung dieser Antikörper wurden nach alter Methode die dreimal gewaschenen roten Blutkörperchen der betreffenden Tierspecies intraperitoneal den Kaninchen eingespritzt, und zwar meist in zwei Sitzungen: zum ersten Male etwa 20—30 ccm Blutkörperchen; nach etwa 6—8 Tagen zum zweiten Male 30, 40 bis zu 75 ccm derselben Blutkörperchenart. Die Blutentnahme fand meist, doch nicht immer, am 9. Tage nach der zweiten Injektion statt. Bei den nach der Fornet-Müllerschen Methode behandelten Tieren wurden am 1. Tage 5 ccm, am 2. Tage 10 ccm, am 3. Tage 15 oder 20 ccm der dreimal gewaschenen roten Blutkörperchen, von deren Sterilität man durch Aussaat auf Agar überzeugt war, eingespritzt und die Blutentnahme am 9. Tage vorgenommen.

In den Versuch kamen insgesamt 15 Kaninchen. Davon wurden 9 nach alter Methode, 6 nach Fornet und Müller behandelt. Während die 9 nach alter Methode behandelten, sämtlich bis zur Blutlieferung am Leben blieben, starben von den 6 nach Fornet und Müller behandelten 2 vor der Blutentnahme. Wir müssen annehmen, daß auch diese Tiere an der schnell wiederholten Impfung zugrunde gingen; wenigstens ließen sich andere Gründe für den Eintritt des Todes bei der Sektion der Tiere nicht finden. Ohne jeden Tierverlust ist also auch hier die Impfung nicht abgegangen.

Die folgende Tabelle III gibt die Resultate der Untersuchungen, welche mit dem Blute der nach alter Methode geimpften Tiere erhalten wurden. Als Komplement diente immer frisch gelassenes Meerschweinchenblutserum in Mengen von 0,1 ccm. Jedes Röhrchen wurde mit Kochsalzlösung auf 2,5 ccm aufgefüllt.

Geprüft wurde die Ambozeptorwirkung nur in den Dosen zwischen 0,01 und 0,0001. Die Röhrchen kamen für 2 Stunden in 37° C. Dann wurde abgelesen und notiert. — Das Serum der Kaninchen ist zwar zuweilen auch gegen andere Blutkörperchen geprüft worden, als diejenigen waren, welche als Antigen gedient hatten. Doch werden hier nur die Resultate mitgeteilt, welche mit dem Kaninchenserum gegen die als Antigen dienenden Blutkörperchen erhalten wurden.

Tabelle III.

No. des Kaninchens	Art des Antigens, bzw. der Blutkörperchen, 5 % _o , in NaCl	Menge des Ambozeptors	Resultat	Titer
336	Hammelblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,001
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	+	
		0,001	+	
		0,00075	—	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
360	Hammelblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,00075
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	+	
		0,001	+	
		0,00075	+	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
337	Ziegenblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,0075
		0,0075	+	
		0,005	—	
		0,0025	—	
		0,001	—	
		0,00075	—	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
358	Ziegenblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,005
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	—	
		0,001	—	
		0,00075	—	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
343	Kalbsblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,0025
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	+	
		0,001	—	
		0,00075	—	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	

+ bedeutet komplette Lösung. — bedeutet nicht komplette Lösung.
Zwischenstufen zwischen komplett und ungelöst werden nicht mitgeteilt.

No. des Kaninchens	Art des Antigens, bezw. der Blutkörperchen, 5% in NaCl	Menge des Ambozeptors	Resultat	Titer
359	Kalbsblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,001
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	+	
		0,001	+	
		0,00075	—	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
352	Pferdeblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,0005
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	+	
		0,001	+	
		0,00075	+	
		0,0005	+	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
351	Menschenblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,01
		0,0075	—	
		0,005	—	
		0,0025	—	
		0,001	—	
		0,00075	—	
		0,0005	—	
		0,00025	—	
		0,0001	—	
382	Schweineblutkörperchen 1 ccm	0,01	+	0,00025
		0,0075	+	
		0,005	+	
		0,0025	+	
		0,001	+	
		0,00075	+	
		0,0005	+	
		0,00025	+	
		0,0001	—	

Es ergibt sich, daß der vielfach als Grenze für ein brauchbares Serum erachtete Titer von 0,001 als vollständig lösender Dosis des Ambozeptors bei insgesamt 9 Tieren 5mal erreicht, bezw. nach unten überschritten worden ist. Das ist ein günstiges Resultat. Irgendwelche Tierverluste waren nicht zu verzeichnen.

Unter den 6 nach Fornet und Müller geimpften Tieren waren für jede der 6 Blutkörperchenarten ein Kaninchen be-

stimmt worden. Leider gingen, wie schon erwähnt, 2 dieser Tiere, die mit Ziegenblutkörperchen und mit Kalbsblutkörperchen geimpften Kaninchen 378 und 346, vor der Blutgewinnung ein. Es bleibt also je ein Tier für die Prüfung gegenüber Hammel-, Pferde-, Menschen- und Schweineblutkörperchen. Die Tabelle IV gibt die Resultate.

Tabelle IV.

No. des Kaninchens	Art des Antigens, bezw. der Blutkörperchen, 5% in NaCl	Menge des Ambozeptors	Resultat	Titer
335	Hammelblutkörperchen 1 ccm	0,1	+	0,1
		0,075	—	
		0,05	—	
		0,025	—	
		0,01	—	
379	Pferdeblutkörperchen 1 ccm	0,1	+	0,1
		0,075	—	
		0,05	—	
		0,025	—	
		0,01	—	
376	Menschenblutkörperchen 1 ccm	0,1	+	0,05
		0,075	+	
		0,05	+	
		0,025	—	
		0,01	—	
365	Schweineblutkörperchen 1 ccm	0,1	+	0,075
		0,075	+	
		0,05	—	
		0,025	—	
		0,01	—	

Trotz der geringen Zahl der Versuchstiere scheinen uns dies ganz eindeutige Resultate zu sein, die gut zu Schlüssen verwendbar sind. In keinem dieser Sera findet sich eine Anreicherung des Ambozeptors, die auch nur bis zu 0,01 ccm ginge. Also nicht einmal das Zehnfache der für gewöhnlich als Grenze für ein brauchbares Serum erachteten Menge genügt, um eine vollständige Lösung der als Antigen benutzten Blutkörperchen zu erzeugen. Zweimal ist der Titer 0,1, zweimal etwas darunter, das scheinen uns um so ungünstigere Resultate zu sein, als eben bei den nach altem Modus geimpften Tieren selbst da, wo die oben angeführte Grenze nicht erreicht wurde, Werte erhalten worden sind, die mit einer einzigen Ausnahme unter 0,01 liegen. Zur Erzeugung

von Hämolytinen also scheint uns die Methode von Fornet und Müller, die Schnellimmunisierung, wenig geeignet zu sein und wir würden entschieden empfehlen, sich auch in Zukunft zu diesem Zwecke der Ehrlich'schen Methode zu bedienen, um so mehr, als ein wesentlicher Zeitverlust mit der Anwendung derselben gegenüber der Fornet-Müller'schen Schnellimmunisierung nicht verbunden ist. Die Differenz wird ja in der Regel nur 2 Tage betragen, wenn man nach Ehrlich'scher Vorschrift eine zweimalige Einspritzung macht und nur 6 Tage zwischen der ersten und zweiten Injektion vergehen läßt. Da auch Tierverluste bei etwas vorsichtiger Anwendung der Ehrlich'schen Methode (nicht zu große Dosis bei der zweiten Impfung; vorsichtige Injektion bei mit dem Kopf nach unten gehaltenem Tiere) kaum zu verzeichnen sein werden oder wenigstens nicht häufig vorkommen, so liegt unseres Erachtens kein Grund vor, die alte Ehrlich'sche Methode zur Erzeugung von Hämolytinen durch die Fornet-Müller-Schnellimmunisierung zu ersetzen. Die in unseren Versuchen vorgekommenen Tierverluste bei letzterer Methode sollen dabei als ein unglücklicher Zufall gelten und einstweilen nicht der Methode zur Last gelegt werden.

Schließlich soll noch mitgeteilt werden, daß auch bei diesen nach Fornet-Müller behandelten Kaninchen versucht worden ist, durch Wiederholung des Impfzyklus eine größere Anreicherung der Hämolytine im Blute zu erreichen. Der Erfolg war indessen auch bei diesen Versuchen gering, so daß es sich danach nicht empfiehlt, in der angedeuteten Weise vorzugehen.

Zusammenfassung.

Wenn wir das Ergebnis unserer Nachprüfung der Fornet-Müller'schen Schnellimmunisierung bei der Erzeugung von Präzipitinen und Hämolytinen in einigen kurzen Sätzen zusammenfassen, so haben wir die Angaben der Autoren bezüglich der Präzipitinerzeugung vollinhaltlich bestätigen können. Es ist überraschend, in welcher schneller und intensiver Weise die Abstoßung der Antikörper in das Blut in diesen Fällen vor sich geht. Und der Erfolg ist um so höher zu veranschlagen, als zweifellos die Spezifität der Serumwirkung gesteigert ist.

Bezüglich der Gewinnung von Hämolysinen können wir dagegen in der Fornet-Müllerschen Schnellimmunisierung einen Fortschritt nicht erkennen, glauben vielmehr, daß hier die alte, von Ehrlich angegebene Methode bessere Ergebnisse zeitigt. Ob die Verschiedenheit des Antigens, in dem einen Falle gelöste Substanzen, in dem anderen Körperzellen, an dieser Differenz die Schuld trägt, wagen wir vorläufig nicht zu entscheiden.

Ueber die Resultate, welche wir bei unseren Versuchen zur Erzeugung von Agglutininen mit der Schnellimmunisierung erhalten haben, wird Herr Generalarzt Dr. Tsuzuki in einer weiteren Mitteilung berichten.

Nachdruck verboten.

[Aus der Hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg a. L.]

Ueber die Schnellimmunisierung nach Fornet und Müller (Agglutinine).

Zugleich eine Antiformin-Nachprüfung.

Von Generalarzt Dr. **M. Tsuzuki.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Oktober 1909.)

Die guten Resultate, welche wir bei der Nachprüfung der Fornet-Müllerschen Angaben bezüglich der Erzeugung von Präzipitinen durch „Schnellimmunisierung“ erhielten, veranlaßten uns, auch bezüglich der Erhaltung von Agglutininen diese Methode zu prüfen. Es ist zur Genüge bekannt, wie langsam im allgemeinen die Anreicherung agglutinierender Substanz in dem Blute von Kaninchen vor sich geht, wenn man nach der alten Methode, Steigerung der injizierten Dosen in etwa siebentägigen Zwischenräumen, verfährt. Meist werden dabei, je nach der zum Versuch herangezogenen Bakterienart, etwas verschiedene Zeit, im Durchschnitt aber mindestens zwei bis drei Monate vergehen, bevor man imstande ist, eine hohe Wirksamkeit des Serums nachzuweisen. Ein Titer von 1 : 10000 wird sich auch nach dreimonatlicher Vorbehandlung

nur bei einem geringen Prozentsatz der Tiere finden, die Tierverluste bei der Bereitung agglutinierender Sera pflegen nicht gering zu sein. Dazu kommt, daß man mit einem sehr hohen Verbrauch an Nährböden zu rechnen hat, wenn man in der letzten Zeit große Massen des auf Agar gewachsenen Bakterienrasens einspritzt, um nur noch eine gewisse Steigerung der Agglutinationswirkung zu erzielen. Welche Erleichterung für die Immunisierungstechnik, wenn die Angaben von Fernet und Müller sich auch bezüglich der Agglutinine bewahrheiteten! — Bei diesen Versuchen waren Kontrolltiere, nach alter Methode behandelt, unnötig, da die hierdurch zu erhaltenden Ergebnisse vorauszusehen waren.

Wir haben also alle für den vorliegenden Zweck benutzten Kaninchen nach der Fernet-Müllerschen Methode behandelt.

Wir haben durch diese Schnellimmunisierungs-Methode alle Antisera herstellen können, und von den Kaninchen Agglutinine von der höchsten Wirksamkeit erhalten.

Bei dieser Impfungsmethode verfahren wir folgendermaßen:

- I. Art der Tiere: Kaninchen.
- II. Ort der Impfung: Ohrvene.
- III. Arten der Bakterien: Typhusbacillen, *Bac. paratyphosus* B, Meningokokken, Choleravibrionen und Dysenteriebacillen. Es wurden nur frische und gut gewachsene Bakterien benutzt. Die Agarkulturen wurden 20—24 Stunden im Brutschrank gelassen, die zur Kultur verwendeten Reagenzgläser waren gleichmäßig.
- IV. Das Dosieren der Kulturen wurde durch Agarkulturröhrchen bestimmt, z. B. $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{3}$, 1 Agar usf.
- V. Zur Impfung: Alle Kulturen wurden mit 1—2 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung mit Hilfe einer Platinöse gemischt, darauf im Wasserbad von 60° C eine Stunde erhitzt.

Durch die hier beschriebene Methode haben wir folgende Resultate erzielt.

Tabelle I.
Typhusbacillus.

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen			Tag des Blutlassens	Resultate
	I.	II.	III.		
402	13. V. $\frac{1}{5}$ Agar	14. V. $\frac{1}{5}$ Agar	15. V. $\frac{1}{2}$ Agar		15. V. nachts + 13*

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen			Tag des Blutlassens	Resultate
408	I. 17. V. $\frac{1}{20}$ Agar	II. 18. V. $\frac{1}{20}$ Agar	III. 19. V. $\frac{1}{10}$ Agar	27. V. Dieses Kaninchen war nach der dritten Impfung krank. Das Blutlassen erfolgte an diesem Tage, aus Besorgnis, daß das Kaninchen am folgenden Tage gestorben sein würde	Titer 1 : 1000
407	I. 19. V. $\frac{1}{20}$ Agar	II. —	III. —		Nach 4 Std. †
411	I. 25. V. $\frac{1}{20}$ Agar	II. 26. V. $\frac{1}{20}$ Agar	III. 27. V. $\frac{1}{10}$ Agar	4. V. Es ist krank, daher an diesem Tage Blutlassen	Titer 1 : 1000
412	I. 25. V. $\frac{1}{20}$ Agar	II. 26. V. $\frac{1}{20}$ Agar	III. 27. V. $\frac{1}{10}$ Agar		2. VI. †

Tabelle II.
Paratyphusbacillus B.

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfung			Tag des Blutlassens	Resultate
403	I. 13. V. $\frac{1}{5}$ Agar	II. 14. V. $\frac{1}{5}$ Agar	III. 15. V. $\frac{1}{5}$ Agar	24. V.	Titer 1 : 10 000
313	I. 25. V. $\frac{1}{5}$ Agar	II. 26. V. $\frac{1}{5}$ Agar	III. 27. V. $\frac{1}{5}$ Agar		27. V. nachts †
414	I. 2. VI. $\frac{1}{10}$ Agar	II. —	III. —		2. VI. nachts †
415	I. 2. VI. $\frac{1}{10}$ Agar	II. 3. VI. $\frac{1}{10}$ Agar	III. 4. VI. $\frac{1}{5}$ Agar	13. VI.	Titer 1 : 100
	Zweite Impfung				
	I. 23. VI. $\frac{1}{5}$ Agar	II. 24. VI. $\frac{1}{2}$ Agar	III. 25. VI. $\frac{2}{5}$ Agar	4. VII.	Titer 1 : 20 000
	Dritte Impfung				
	I. 13. VII. $\frac{2}{3}$ Agar	II. 14. VII. 1 Agar	III. 15. VII. 2 Agar	24. VII.	Titer 1 : 30 000
	Vierte Impfung				
	I. 25. VII. 2 Agar	II. 26. VII. 2,5 Agar	III. 27. VII. —		26. VII. nachts †

Tabelle III.
Meningokokken (Weichselbaum).

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen			Tag des Blutlassens	Resultate
417	I. 3. VI. $\frac{1}{8}$ Agar	II. —	III. —		3. VI. nachts †
418	I. 3. VI. $\frac{1}{8}$ Agar	II. 4. VI. $\frac{1}{2}$ Agar	III. 5. VI. 1 Agar	14. VI.	Titer 1 : 100 17. VI. nach starker Abmagerung †
419	I. 2. VI. $\frac{1}{8}$ Agar	II. 4. VI. $\frac{1}{2}$ Agar	III. 5. VI. 1 Agar	14. VI.	Titer —
	Zweite Impfung				
	I. 23. VI. $\frac{1}{8}$ Agar	II. 24. VI. 1 Agar	III. 25. VI. 1,5 Agar	24. VI.	Titer 1 : 10 000 13. VII. durch Abmagerung †

Tabelle IV.
Cholera vibrionen.

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen			Tag des Blutlassens	Resultate
420	I. 10. VI. $\frac{1}{3}$ Agar	II. 11. VI. $\frac{2}{3}$ Agar	III. 12. VI. $\frac{2}{3}$ Agar	21. VI.	Titer 1 : 5000
	Zweite Impfung				
	I. 22. VI. $\frac{2}{3}$ Agar	II. 23. VI. 1 Agar	III. 24. VI. 1,5 Agar	3. VII.	Titer 1 : 10 000

Es sind also gegen Typhusbacillen 5 Kaninchen immunisiert worden. 3 von diesen starben nach der Impfung, bzw. vor der Blutentnahme. Bei den beiden anderen wird am 8. Tage nach der letzten Impfung Blut gewonnen, dessen Agglutinationstiter auf 1:1000 bestimmt wird. Die Tiere hatten in den 3 Impfungen zusammen je $\frac{1}{6}$ Agarkultur, und zwar bei 60° C eine Stunde abgeschwächter Kultur, erhalten. Die tödliche Dosis der abgeschwächten Kultur für Kaninchen scheint etwa $\frac{1}{2}$ Agarkultur zu sein.

Gegen den Paratyphusbacillus B sind 4 Kaninchen immunisiert worden. Von diesen sind 2 so lange am Leben geblieben, daß eine Blutentnahme am 9. Tage stattfinden konnte. Der Titer des Serums war im einen Falle 1:10000; im

anderen 1:100. Die insgesamt eingepfunden Kulturmengen $\frac{3}{5}$ bzw. $\frac{2}{5}$ Agarkultur. Auf das Kaninchen 415 wird gleich noch einmal zurückzukommen sein.

Von 3 mit Meningokokken geimpften Tieren ist nur eins bei der ersten Blutentnahme auf den Agglutinationstiter geprüft worden. Das Ergebnis war eine Wirkung bei einer Verdünnung von 1:100. Die insgesamt in den 3 Impfungen injizierte Kulturmenge betrug $1\frac{1}{6}$ Agarkultur. Auf K. 419 komme ich auch sogleich zurück.

Das einzige mit Choleravibrionen geimpfte Kaninchen hatte nach Einverleibung von $1\frac{2}{3}$ Agarkultur einen Titer von 1:5000.

Es wird zugegeben werden müssen, daß diese Ergebnisse derartig günstige sind, wie sie auch nicht im entferntesten geahnt werden konnten. Wenn auch die Tiere durch die 3mal wiederholte Impfung sehr stark mitgenommen werden, so daß nur ein geringer Prozentsatz überhaupt die erste Blutentnahme erlebt, und wenn auch viele dieser Tiere kurze oder etwas längere Zeit nach der Blutentnahme zugrunde gehen, so ist einmal gar nicht ausgeschlossen, daß bei der Wahl geringerer Dosen eine größere Zahl der Tiere am Leben bleibt, ohne daß der Immunisierungseffekt wesentlich beeinflußt wird; andererseits aber ist doch eben dieser Effekt ein so überraschend günstiger, daß es uns niemals mehr in den Sinn kommen wird, Agglutinine nach alter Methode herzustellen.

Dazu werden wir uns umso weniger bereit finden, als es, wie die Kaninchen 415, 419 und 420 zeigen, bei kräftigen, nicht mit zu hohen Anfangsdosen behandelten Tieren leicht gelingt, unmittelbar nach der ersten, nicht zu ausgiebigen Blutentnahme den Impfzyklus zu wiederholen, mit gesteigerten Dosen durchzuführen, dem zweiten Zyklus einen dritten und eventuell vierten folgen zu lassen und bei den respektiven Blutentnahmen Sera zu erhalten, wie wir sie, offen gestanden, überhaupt noch selten in Händen gehabt haben. Es genügt hier, kurz auf die Tabelle II, K. 415 hinzuweisen. Das Tier hat, nachdem es 24 Tage im Versuch gewesen ist, einen Agglutinationstiter von 1:20000 in seinem Serum, nach 36 Tagen einen solchen von 1:30000. Daß es sich dabei nicht um einen vereinzelt Befund handelt, wird die weitere Besprechung zeigen.

Die hochgradige Entkräftung, welcher die Tiere nach der 3-tägigen Impfung meist verfallen, die verhältnismäßig großen Verluste an Tieren, welche wir in dieser Reihe zu beklagen hatten, ließen es wünschenswert erscheinen, nach einem Mittel Umschau zu halten, das den Impfungen ihre Gefahren bis zu einem gewissen Grade nehmen könnte, ohne indes die Auslösung des Immunisierungseffektes wesentlich zu beeinträchtigen. Als dies Mittel bot sich uns dar das Antiformin, das bereits von einigen Seiten zur Immunisierungstechnik empfohlen war.

Prof. Uhlenhuth und Dr. Xylander haben ¹⁾ Näheres über Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel, mitgeteilt. Antiformin ist eine Mischung von Alkalihypochlorit und Alkalihydrat in bestimmtem Verhältnis, und durch Zugabe von HCl lassen sich aus 100 g 5,3 g Chlor entwickeln. Bei Verwendung von Phenolphthalein als Indikator wurde im Mittel ein Alkaligehalt entsprechend 7,5 Proz. NaOH festgestellt. Die Untersuchungen von Uhlenhuth und Xylander zeigten, daß durch eine 2—5-proz. Lösung die meisten Bakterien (Cholera vibrionen, Typhusbacillen, Colibacillen, Paratyphusbacillen, Pestifer, Suisepcticus, Staphylokokken, Streptokokken, Meningokokken, Pneumokokken) sehr schnell, spätestens nach 2 $\frac{1}{2}$ —3 Minuten, abgetötet wurden. Dem Antiformin scheint eine weitere Bedeutung in der Immunisierungstechnik zukommen. Es lag nahe, die durch Antiformin abgeschwächten resp. aufgelösten Bakterien Tieren zwecks Immunisierung einzuspritzen. Bei Uhlenhuths Untersuchungen ergab sich ferner die höchst interessante Tatsache, daß auch Gifte, und zwar echte Toxine (Diphtheriegift, Schlangengift) und Endotoxine schon durch verhältnismäßig schwache Lösungen von Antiformin vollkommen zerstört werden. Eine Ruhrantiforminlösung von 2 Ruhrkulturen konnte einem Kaninchen ohne Schaden einverleibt werden, von einer Kultur, die in Dosen von $\frac{1}{30}$ Oese im abgetöteten Zustand Kaninchen bereits nach 24 Stunden tötet. Und dieses Kaninchen lieferte nach einer Einspritzung ein hochagglutinierendes Serum mit einem Titer 1:1000.

Um diese Methode an Kaninchen zu prüfen, habe ich zunächst eine Paratyphuskultur mit 2 ccm 0,85-proz. NaCl

1) Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 28.

gemischt, dann 2 ccm 2-proz. Antiformin hinzugesetzt. Nach 10 Minuten habe ich von dieser Lösung 1 ccm = $\frac{1}{4}$ Agarkultur eingespritzt, am nächsten Tage 2 ccm der gleichen Lösung (= $\frac{1}{2}$ Agarkultur). Aber dieses Kaninchen starb in der Nacht des 2. Tages. Obwohl ich sogleich die Sektion vornahm, konnte ich die spezifische Ursache des Todes nicht feststellen.

Zur weiteren Prüfung habe ich eine Cholerakultur mit 2 ccm 0,85-proz. NaCl gemischt, dann zu 1 ccm dieser Lösung 1 ccm 2-proz. Antiformin hinzugesetzt. Nach 10 Minuten habe ich von dieser Lösung 1 ccm ($\frac{1}{4}$ Agar) in die Ohrvene eines Kaninchens eingespritzt. In der darauffolgenden Nacht starb es. Die Sektion ergab eine stattgehabte kleine Blutung beider Nieren.

Um festzustellen, ob die Kaninchen durch Antiformin oder durch Bakteriengifte getötet wurden, habe ich folgende Untersuchungen ausgeführt.

1) Wieviel Prozent Antiformin ist nötig und wie lange muß es wirken, um die Bakterien zu töten?

Zur Beantwortung dieser Frage diene folgende Tabelle V.

Tabelle V.

Art der Bakterien	1 Proz. Antiformin (2 ccm)						2 Proz. Antiformin (2 ccm)					
	5'	10'	15'	20'	30'	60'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
Dysenteriebacillen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Choleravibrionen	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Typhusbacillen	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
Hühnercholera-bacillen	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylokokken	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Streptokokken	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—
Paratyphusbacillus B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Meningokokken	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Durch diese Untersuchungen hat sich ergeben, daß die Bakterien zwar mehr oder weniger widerstandsfähig sind, daß sie aber durch 2-proz. Antiformin nach 20 Minuten alle getötet sind.

Um sicher zu gehen, habe ich die ca. 2-proz. Antiforminmischung über 20 Minuten wirken lassen.

2) Werden von den Tieren 1-proz. und 2-proz. Antiforminlösungen ohne Schaden ertragen?

Folgende Tabelle möge zur Klärung dieser Frage dienen.

Tabelle VI.

Art der Tiere	Art der Impfung	1 Proz. Antiformin				Befunde
		6. VII. 1. Tag	7. VII. 2. Tag	8. VII. 3. Tag	9. VII. 4. Tag	
Kaninchen a	Ohrvene	0,05 ccm	0,1 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	lebt
" b	"	0,5 "	0,75 "	1 "	2 "	"
Meerschweinchen a	Bauch	0,05 "	0,1 "	0,25 "	0,4 "	"
" b	subkutan	0,1 "	0,15 "	0,25 "	0,5 "	"
Maus a	Bauch	0,05 "	0,1 "	0,2 "	0,4 "	"
" b	subkutan	0,1 "	0,15 "	0,25 "	0,5 "	"

Art der Tiere	Art der Impfung	2 Proz. Antiformin				Befunde
		9. VII. 1. Tag	10. VII. 2. Tag	11. VII. 3. Tag	12. VII. 4. Tag	
Kaninchen c	Ohrvene	0,25 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	1 ccm	lebt
" d	"	0,5 "	0,75 "	1 "	2 "	"
Meerschweinchen c	Bauch	0,05 "	0,1 "	0,2 "	0,4 "	† am 4. Tg. (12. VII.) durch Peritonitis
" d	subkutan	0,1 "	0,15 "	0,25 "	0,5 "	lebt
Maus c	Bauch	0,05 "	0,1 "	0,2 "	—	† am 3. Tg. (11. VII.) durch Peritonitis
" d	subkutan	0,1 "	0,15 "	0,25 "	0,5 "	lebt

Diese Resultate zeigen, daß von Kaninchen 2 ccm 2-proz. Antiformins ohne Schaden ertragen werden. Eine intraperitoneal geimpfte Maus dagegen und ein ebenso injiziertes Meerschweinchen gingen durch 0,4 ccm der 2-proz. Antiforminlösung zugrunde. Eingespritzt wurde unverändertes, d. h. nicht durch Schwefelsäure neutralisiertes und nicht durch Natriumsulfat von Chlor befreites Antiformin.

In Hinblick auf obige Resultate habe ich zur Herstellung von Immunsera mit Antiformin folgende Methode ausgeführt:

- I. Art der Tiere: Kaninchen.
- II. Ort der Impfung: Ohrvene.
- III. Arten der Bakterien: Cholera vibriionen, Typhus- und Dysenteriebacillen.
- IV. Eine Agarkultur mit 2 ccm Antiformin gemischt mit Hilfe einer Platinöse. Nach 20 Minuten mit dieser Lösung geimpft.
- V. Das Dosieren der Kulturen: Von der obigen Lösung je eine Dosis von 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1 ccm usw. mit 1 ccm 0,85-proz. NaCl vermenget, dann zur Impfung benutzt.
Dosen von 1,25 oder 1,5 ccm mit der gleichen Menge NaCl (1,25 resp. 1,5 ccm) gemischt.

VI. Impfungsmethode: Am 1., 2. und 3. Tage 0,25, 0,5 und 1 ccm usw. eingespritzt, am 12. Tage Blutlassen aus der Ohrmittelarterie der Kaninchen zwecks Untersuchung des Titera. Wenn der Titer den höchsten Grad erreicht hat, läßt man verbluten. Ist der Titer niedrig, so muß eine zweite, dritte oder vierte Impfung erfolgen.

Durch die oben beschriebene Methode haben wir folgende Resultate erzielt:

Tabelle VII.
Cholera-vibrionen.

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen			Tag des Blutlassens	Resultate
429	I. 10. VII. 0,1 ccm	II. 11. VII. 0,25 ccm	III. 12. VII. 0,5 ccm		14. VII. †
430	I. 10. VII. 0,5 ccm	II. 11. VII. 0,75 ccm	III. 12. VII. —		14. VII. †
431	I. 10. VII. 1 ccm	II. —	III. —		10. VII. nachts †
438	I. 13. VII. 0,05 ccm	II. 14. VII. 0,1 ccm	III. 15. VII. 0,25 ccm	24. VII.	Titer 1:100
	Zweite Impfung				
	I. 25. VII. 0,25 ccm	II. 26. VII. 0,5 ccm	III. 27. VII. 0,75 ccm	5. VIII.	Titer 1:5000
	Dritte Impfung				
	I. 5. VIII. 0,75 ccm	II. 6. VIII. 1 ccm	III. 7. VIII. 1,25 ccm	16. VIII.	Titer 1:30 000
441	I. 17. VII. 0,75 ccm	II. —	III. —		17. VIII. 4 Std. nach der Impfung †
442	I. 17. VII. 0,05 ccm	II. 18. VII. 0,1 ccm	III. 19. VII. 0,25 ccm		19. VII. nachts †
443	I. 17. VII. 0,05 ccm	II. 18. VII. 0,1 ccm	III. 19. VII. 0,25 ccm	28. VII.	Titer 1:100
	Zweite Impfung				
	I. 29. VII. 0,25 ccm	II. 30. VII. 0,5 ccm	III. 31. VII. 0,75 ccm	9. VIII.	Titer 1:10 000
	Dritte Impfung				
	I. 12. VIII. 0,75 ccm	II. 13. VIII. 1 ccm	III. 14. VII. 1,25 ccm	23. VIII.	Titer 1:10 000

Tabelle VIII.
Typhusbacillen.

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen	Tag des Blutlassens	Resultate
432	I. 10. VII. 0,1 ccm II. 11. VII. 0,25 ccm III. 12. VII. 0,5 ccm		12. VII. nachts †
433	I. 10. VII. 0,5 ccm II. 11. VII. 0,75 ccm III. —		11. VII. nachts †
434	I. 10. VII. 1 ccm II. 11. VII. 1,25 ccm III. —		11. VII. nachts †
425	I. 3. VII. II. 14. VII. III. 15. VII.	24. VII.	Titer 1 : 100
	Zweite Impfung		
	I. 25. VII. 0,25 ccm II. 26. VII. 0,5 ccm III. 27. VII. 0,75 ccm	5. VIII.	Titer 1 : 10000
	Dritte Impfung		
	I. 5. VIII. 0,75 ccm II. — III. —		5. VIII. nachts †
426	I. 13. VII. 0,05 ccm II. 14. VII. 0,1 ccm III. 15. VII. 0,25 ccm	24. VII.	Titer 1 : 10
	Zweite Impfung		
	I. 25. VII. 0,25 ccm II. 26. VII. 0,5 ccm III. 27. VII. 0,75 ccm	5. VIII.	Titer 1 : 10000
	Dritte Impfung		
	I. 5. VIII. 0,75 ccm II. 6. VIII. 1 ccm III. 7. VIII. —		6. VIII. nachts †
439	I. 17. VII. 0,05 ccm II. 18. VII. 0,1 ccm III. 19. VII. 0,25 ccm	28. VII.	Titer 1 : 10
	Zweite Impfung		
	I. 29. VII. 0,25 ccm II. 30. VII. 0,5 ccm III. 31. VII. 0,75 ccm	9. VIII.	Titer 1 : 10000
	Dritte Impfung		
	I. 12. VIII. 0,75 ccm II. 13. VIII. 1 ccm III. 14. VIII. —		12. VIII. nachts †
440	I. 17. VII. 0,05 ccm II. 18. VII. 0,1 ccm III. 19. VII. 0,25 ccm	28. VII.	Titer 1 : 10
	Zweite Impfung		
	I. 29. VII. 0,5 ccm II. 30. VII. 0,75 ccm III. 31. VII. 1 ccm	9. VIII.	Titer 1 : 1000

Tabelle IX.
Dysenteriebacillen.

Kaninchen No.	Tag und Dosis der Impfungen	Tag des Blutlassens	Resultate
435	I. 10. VII. 0,02 ccm II. 11. VII. 0,05 ccm III. 12. VII. 0,1 ccm	31. VII.	Titer 1 : 1000
	Zweite Impfung I. 22. VII. 0,1 ccm II. 23. VII. 0,25 ccm III. 24. VII. 0,5 ccm	2. VIII.	Titer 1 : 2000
	Dritte Impfung I. 2. VIII. 0,5 ccm II. 3. VIII. 0,75 ccm III. 4. VIII. 1 ccm	13. VIII.	Titer 1 : 5000
436	I. 10. VII. 0,05 ccm II. 11. VII. 0,075 ccm III. 12. VII. 0,2 ccm		16. VII. †
437	I. 10. VII. 0,25 ccm II. 11. VII. 0,5 ccm III. 12. VII. 0,75 ccm	21. VII.	Titer 1 : 1000
	Zweite Impfung I. 22. VII. 0,25 ccm II. 23. VII. 0,5 ccm III. 24. VII. 0,75 ccm	2. VIII.	Titer 1 : 2000
	Dritte Impfung I. 2. VIII. 0,75 ccm II. 3. VIII. 1 ccm III. 4. VIII. —		3. VIII. nachts †
444	I. 17. VII. 0,05 ccm II. 18. VII. 0,1 ccm III. 19. VII. 0,25 ccm	28. VII.	Titer 1 : 100
	Zweite Impfung I. 29. VII. 0,25 ccm II. 30. VII. 0,5 ccm III. 31. VII. 0,75 ccm	9. VIII.	Titer 1 : 1000
	Dritte Impfung I. 12. VIII. 0,75 ccm II. 13. VIII. 1 ccm III. 14. VIII. 1,25 ccm	23. VIII.	Titer 1 : 5000
445	I. 17. VII. 0,05 ccm II. 18. VII. 0,1 ccm III. 19. VII. 0,25 ccm	28. VII.	Titer 1 : 100
	Zweite Impfung I. 29. VII. 0,25 ccm II. 30. VII. 0,5 ccm III. 31. VII. 0,75 ccm	9. VIII.	Titer 1 : 1000
	Dritte Impfung. I. 12. VIII. 0,75 ccm II. 13. VIII. 1 ccm III. 14. VIII. 1,5 ccm	23. VIII.	Titer 1 : 10000

Wir haben also bei unseren Versuchen mit Antiformin Gelegenheit gehabt, zu sehen, daß die Angaben von Uhlenthuth und Xylander bezüglich der Auflösung des Bakterienmaterials bei voller Erhaltung des Antigencharakters der Lösungen zu Recht bestehen. Man ist in der Tat imstande, die durch Antiformin gelösten Bakterien zur Antikörpererzeugung zu benutzen. Daß darin für viele Fälle ein Vorzug liegt, muß ohne weiteres zugestanden werden.

Anders liegt es mit der Beantwortung der Frage, ob für unseren besonderen Zweck, für die Anwendung der Fornet-Müllerschen Schnellimmunisierung zur Erzeugung von Agglutininen, in dem Lösen der Bakterienzellen durch das Antiformin ein Fortschritt gegenüber der Verwendung bei 60° abgetöteter Bakterienzellen zu erblicken ist. Wir hatten uns des Antiformins bedient, um die bei der Abschwächungsmethode immerhin großen Tierverluste einzuschränken. Nun ist in unseren Versuchen freilich das unveränderte Original-Antiformin in 2-proz. Lösung benutzt worden, nachdem wir uns durch besondere Tierversuche überzeugt hatten, daß Kaninchen die Einspritzungen dieser Lösungen in die Ohrvene in Mengen, wie wir sie zu verwenden hatten, auch dann glatt vertragen, wenn die Injektionen in steigenden Dosen an vier aufeinander folgenden Tagen vorgenommen werden. Von anderer Seite¹⁾ ist das Antiformin, nachdem es die Bakterien gelöst hatte, auf völlig neutrale Reaktion gebracht und von jeder Spur freien Chlors befreit worden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß wir bei solchem Vorgehen weniger Tierverluste zu verzeichnen gehabt hätten. Sicher ist jedenfalls, daß auch bei der Verwendung des Antiformins in unseren Versuchen eine große Anzahl von Tieren verloren wurde, bevor man ihnen Blut hätte entnehmen können. Direkt vergleichbar in dieser Hinsicht sind unsere Experimente mit Cholera-vibrionen und Typhusbacillen, die deshalb in den unten folgenden Tabellen X und XI noch einmal direkt nebeneinander gestellt werden (siehe p. 206 und 207).

1) cf. K. Altmann und J. H. Schultz, Zeitschr. f. Immunitätsforschung und exp. Therapie, Bd. 3, 1909, Heft 1, p. 99.

Tabelle X.
Vergleichung.

Inaktivierung Cholera			Antiformin Cholera		
Kaninchen No.	Zählung und Dosieren der Impfungen	Resultate	Kaninchen No.	Zählung und Dosieren der Impfungen	Resultate
420	I. $\frac{1}{8}$ — $\frac{2}{3}$ Agar	Titer 1:5000	438	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	Titer 1:100
	II. $\frac{2}{8}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	„ 1:10000		II. $\frac{1}{8}$ — $\frac{3}{8}$ Agar	„ 1:500
				III. $\frac{3}{8}$ — $\frac{5}{8}$ Agar	„ 1:30 000
			443	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	Titer 1:100
				II. $\frac{1}{8}$ — $\frac{3}{8}$ Agar	„ 1:10 000
				III. $\frac{3}{8}$ — $\frac{5}{8}$ Agar	„ 1:10 000
			429	I. $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{4}$ Agar	†
			430	I. $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Agar	†
			431	I. $\frac{1}{2}$ Agar	†
			441	I. $\frac{1}{40}$ Agar	†
			442	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{20}$ Agar	†

In den bisher mitgeteilten Immunisierungsexperimenten waren immer 2-proz. Antiforminlösungen benutzt worden, die etwas über 20 Minuten bei Zimmertemperatur auf die Bakterienmasse eingewirkt hatten. Es war mir von Interesse, zu erfahren, wie sich Antiforminlösungen verhalten würden, die längere Zeit bei Bruttemperatur mit dem Bakterienmaterial in Berührung geblieben waren. Denn inzwischen hatte ich in eigenen weiteren Versuchen festgestellt, daß die Bakterien sich, bei 37° C gehalten, in 2-proz. Antiforminlösungen besser auflösen, als bei 20° C. Vielleicht war durch den längeren Aufenthalt bei 37° eine Zerstörung der tödlich wirkenden Bestandteile der Bakterienendotoxine zu erhalten, während die Antikörper-erzeugende Eigenschaft der Lösungen nicht be-

Tabelle XI.
Vergleichung.

Inaktivierung Typhus			Antiformin Typhus		
Kaninchen No.	Zählung und Dosieren der Impfungen	Resultate	Kaninchen No.	Zählung und Dosieren der Impfungen	Resultate
408	I. $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$ Agar	Titer 1 : 1000	425	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	Titer 1 : 100
411	I. $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$ Agar	Titer 1 : 1000		II. $\frac{1}{8}$ — $\frac{3}{8}$ Agar	„ 1 : 10 000
402	I. $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{2}$ Agar	†	426	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	Titer 1 : 10
407	I. $\frac{1}{20}$ Agar	†		II. $\frac{1}{8}$ — $\frac{3}{8}$ Agar	„ 1 : 10 000
412	I. $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$ Agar	†	439	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	Titer 1 : 10
				II. $\frac{1}{8}$ — $\frac{3}{8}$ Agar	„ 1 : 10 000
			440	I. $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ Agar	Titer 1 : 10
				II. $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Agar	„ 1 : 1000
			432	I. $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{4}$ Agar	†
			433	I. $\frac{1}{4}$ — $\frac{3}{8}$ Agar	†
			434	I. $\frac{1}{2}$ — $\frac{5}{8}$ Agar	†

einflußt wurde. Es war freilich auch nicht ausgeschlossen — Uhlenhuth hat es schon ausgesprochen —, daß durch zu langes Verweilen der Endotoxine in dem Antiformin die Fähigkeit, Antikörper zu erzeugen, verloren ging. Wir haben uns darauf beschränkt, in ein paar Versuchen festzustellen, ob durch einen Aufenthalt in 2-proz. Antiformin von 30, 60 und 90 Minuten bei 37° die Bakterienmasse die Fähigkeit verlor, als Antigen zu fungieren. Die hier folgende Tabelle XII soll darüber Aufschluß geben (siehe p. 208).

Diese Tierversuche waren insofern nicht erfolgreich, als ein Kaninchen 2 Stunden, ein anderes 10 Tage nach der Impfung starb. Von letzterem habe ich trotz der kurzen Zeit

Tabelle XII.

Kan. No.	Zeit von der Mischung bis zur Impfung (bei 37° C)	Tag und Dosis der Impfungen	Tag des Blutlassens	Resultate
Cholera.				
460	30 Minuten	Erste Impfung		
		I. 25. VIII. $\frac{1}{20}$ Agar II. 26. VIII. $\frac{1}{4}$ Agar III. 27. VIII. $\frac{1}{2}$ Agar	5. IX.	Titer 1 : 1000
461	60 Minuten	Zweite Impfung		
		I. 6. IX. $\frac{1}{2}$ Agar II. 7. IX. $\frac{3}{4}$ Agar III. 8. IX. 1 Agar	17. IX.	Titer 1 : 10 000
461	60 Minuten	Erste Impfung		
		I. 25. VIII. $\frac{1}{4}$ Agar II. 26. VIII. $\frac{1}{2}$ Agar III. 27. VIII. $\frac{3}{4}$ Agar	5. IX.	Titer 1 : 1000
461	60 Minuten	Zweite Impfung		
		I. 6. IX. $\frac{3}{4}$ Agar II. 7. IX. 1 Agar III. 8. IX. $1\frac{1}{4}$ Agar	17. IX.	Titer 1 : 10 000
Typhus.				
462	30 Minuten	I. 25. VIII. $\frac{1}{30}$ Agar II. 26. VIII. $\frac{1}{4}$ Agar III. 27. VIII. $\frac{1}{2}$ Agar	3. IX. †	Titer 1 : 1000 schwach
463	60 Minuten	I. 25. VIII. $\frac{1}{4}$ Agar II. 26. VIII. $\frac{1}{2}$ Agar III. 27. VIII. $\frac{3}{4}$ Agar	27. VIII. † 2 ^b nach d. Impfung	—
469	30 Minuten	Erste Impfung		
		I. 6. IX. $\frac{1}{30}$ Agar II. 7. IX. $\frac{1}{4}$ Agar III. 8. IX. $\frac{1}{2}$ Agar	17. IX.	Titer 1 : 1000
469	30 Minuten	Zweite Impfung		
		I. 20. IX. $\frac{1}{2}$ Agar II. 21. IX. $\frac{3}{4}$ Agar III. 22. IX. 1 Agar	1. X.	Titer 1 : 10 000
470	60 Minuten	Erste Impfung		
		I. 6. IX. $\frac{1}{4}$ Agar II. 7. IX. $\frac{1}{2}$ Agar III. 8. IX. $\frac{3}{4}$ Agar	17. IX.	Titer 1 : 1000
470	60 Minuten	Zweite Impfung		
		I. 20. IX. $\frac{3}{4}$ Agar II. 21. IX. 1 Agar III. 22. IX. —	21. IX. †	—
Dysenterie.				
464	90 Minuten	Erste Impfung		
		I. 25. VIII. $\frac{1}{20}$ Agar II. 26. VIII. $\frac{3}{4}$ Agar III. 27. VIII. 1 Agar	5. IX.	Titer 1 : 1000
464	90 Minuten	Zweite Impfung		
		I. 6. IX. 1 Agar II. 7. IX. $1\frac{1}{4}$ Agar III. 8. IX. $1\frac{1}{2}$ Agar	17. IX.	Titer 1 : 10 000

von 7 Tagen nach der Impfung ein Blutserum mit dem Titer 1:1000 erhalten. Wenn das Tier bis zum 12. Tage am Leben geblieben wäre, so hätte ich von ihm wahrscheinlich ein Antiserum von wesentlich höherem Titer erzielt.

Im übrigen sind die Verluste bei diesen Versuchen nicht hoch, der Titer der erhaltenen Sera ist bei allen Tieren nach der ersten Impfung 1:1000, nach dem zweiten Impfzyklus 1:10000. Jedenfalls geht also aus dieser Tabelle hervor, daß selbst ein 1½-stündiger Aufenthalt von Dysenteriebacillen in 2-proz. Antiformin bei 37° C, ein einstündiger von Cholera-vibrionen und Typhusbacillen unter denselben Bedingungen nicht imstande ist, der Lösung den Charakter als Antigen zu nehmen.

Zusammenfassung.

1) Bei der Immunisierungsmethode von Dr. Fornet und Dr. Müller zur Erzeugung von Agglutininen wurden hochwertige Antisera nach der kurzen Zeit von 12 Tagen erzielt.

2) Wesentlich höhere Titer werden bei Wiederholung des Impfzyklus erhalten.

3) Will man nach 12 Tagen einen Titer von 1:1000 erzielen, so ist das Dosieren der Bakterien für die einzelne Bakterienart natürlich je nach Virulenzgrad in verschiedener Weise, im allgemeinen bei mittlerer Virulenz, etwa folgendermaßen vorzunehmen:

1. Tag	2. Tag	3. Tag
$\frac{1}{10}$ Agar	$\frac{1}{4}$ Agar	$\frac{1}{2}$ Agar.

4) 2-proz. Antiforminlösungen sind für das Auflösen der Bakterien und für die Impfungen gut geeignet.

5) Man kann die Mischung der Antiforminlösung mit den Bakterienkulturen bis zu 90 Minuten im Brutschrank bei 37° C stehen lassen, ohne daß sie die Eigenschaft verliert, als Antigen zu wirken.

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Bonhoff für die Ueberweisung dieser Arbeit und für die liebenswürdige Leitung bei derselben verbindlichsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Beschleunigung der Bakteriolyse im Peritoneum von Meerschweinchen.

Von

Dr. Carl Angerer (München) und Dr. Oskar Hartoch (Petersburg).

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Oktober 1909.)

Das Phänomen der Beschleunigung und der Verstärkung der Antikörperwirkung durch präzipitierende Sera ist von Friedberger und Moreschi (1), Friedberger und Bezola (2) sowie Moreschi (3) zuerst näher untersucht und beschrieben worden. Es handelt sich bei diesen Vorgängen um eine Erscheinung, welche in der doppelten Rolle der Immunkörper bei dem Beschleunigungsverfahren ihre Erklärung findet. Bringt man nämlich Antigen, ein auf dasselbe eingestelltes Immunserum und ein Antieiweißserum (gerichtet gegen die das Immunserum liefernde Tierart), zusammen, so spielt sich einerseits eine Bindungsreaktion ab zwischen Immunserum und Antigen, andererseits eine entsprechende Reaktion zwischen Immunserum und Antieiweißserum. In der üblichen Avidität zum Antigen tritt die Antikörperrolle des Immunserums in Erscheinung, während in der Bindungsreaktion zwischen Immunserum und Antieiweißserum die Antigenrolle des Immunserums evident wird.

Läßt man zuerst die Bindung zwischen Antigen und Immunserum vor sich gehen, entfernt man hernach durch Waschen und Zentrifugieren jeglichen Ueberschuß von nicht gebundenem Immunserum, so hat das später hinzugefügte Antieiweißserum keinen anderen Angriffspunkt als das durch das Antigen bereits gebundene Eiweiß

des Immunserums. Es entsteht hiermit eine Präzipitabildung, deren charakteristischer Bildungsort, nämlich an dem Antigen-Antikörpersystem, für das Verständnis des Beschleunigungsphänomens nach der Theorie ausschlaggebend ist.

Handelt es sich bei diesen Versuchen um einen Antikörper von komplexem Bau, so ist allein schon die Verankerung eines Teiles des Komplementes am System durch das sich bildende Präzipitat genügend, um eine Beschleunigung und Verstärkung der Immunkörperwirkung verständlich zu machen. Es tritt dabei eine Zulenkung des Komplements in Erscheinung, wie es von Friedberger und seinen Mitarbeitern bereits des Näheren ausgeführt worden ist.

Betrifft es hingegen Immunkörper, die auch ohne Komplement schon wirksam sind, so wie bei den Untersuchungen von Moreschi über die Agglutinine, so ist die Moreschische Erklärung sehr wahrscheinlich. Moreschi nimmt nämlich an, daß in solchen Fällen es sich um eine Kombination von Agglutination und Präzipitation handle, erstere hervorgerufen durch die Agglutinine im Immunserum, letztere durch die Präzipitine des Antieißserums.

Bei diesen Versuchen ist der charakteristische Bildungsort der Präzipitate — nämlich am Antigen-Antikörperkomplex, von ausschlaggebender Bedeutung für ein Verständnis der Beschleunigung. Bleibt ein Teil des Immunkörpers bei ungenügender Waschung in der Zwischenflüssigkeit, so findet auch gleichzeitig dort eine Präzipitabildung statt, wodurch die Zulenkung des Komplements in ihr Gegenteil — in eine Komplementablenkung verwandelt wird (Friedberger und Bezzola).

Die Autoren konnten zeigen, daß durch das Hinzufügen von Antieißserum, welches gegen das Serum eines hämolysinliefernden Tieres gerichtet ist, zu beladenen Blutkörperchen eine wesentliche Beschleunigung der Hämolyse erzielt werden kann. In einer weiteren Arbeit konnte ferner der Beweis erbracht werden, daß es sich hierbei nicht nur um eine Beschleunigung der Hämolyse handelt,

sondern daß auch eine Verstärkung der Wirkung in Erscheinung tritt; es wurden eben die unterlösenden Ambozeptordosen durch Hinzutreten des präzipitierenden Serums zu komplett lösenden gemacht. In ähnlicher Weise konnte durch Moreschis Versuche die agglutinationsverstärkende Wirkung der präzipitierenden Sera erwiesen werden, indem speziell bei schwer agglutinablen Stämmen, welche durch ein bestimmtes Immunserum allein nicht agglutiniert werden, das Hinzufügen von Antieiweißserum eine deutliche Agglutination prompt auslöste.

Es war nun interessant, zu untersuchen, inwieweit diese Verhältnisse auch für die Bakteriolyseversuche in vivo Geltung haben, und ob es etwa gelingt, durch eine beschleunigte Bakteriolyse eine tödliche Injektion zu verhüten.

Auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Friedberger haben wir entsprechende Versuche angestellt.

Es war zwar von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß gerade bei den Bakteriolyseversuchen wir auf gewisse Schwierigkeiten stoßen würden. Diese liegen nämlich darin, daß, wie R. Pfeiffer besonders betont hat, wir bei den Bakteriolyseversuchen im Gegensatz zu den statischen Verhältnissen bei den Hämolyseversuchen es mit einem dynamischen Vorgang zu tun haben, bei welchem die unkontrollierbare Vermehrung der Bakterien selbst bei Innehaltung gewisser Kautelen die glatten Versuchsergebnisse beeinflussen mußte. Auch das raschere Freiwerden von Endotoxin, bedingt durch eine schneller vor sich gehende Bakteriolyse, könnte a priori den zu erwartenden günstigen Ausgang der Infektion in das Gegenteil verwandeln, indem die in der Zeiteinheit resorbierte Endotoxinmenge allein schon den Tod des Tieres bedingen könnte.

Unsere Versuche sind angestellt an Meerschweinchen. Als Bakterien benutzten wir einen Stamm von *Vibrio Metschnikoff*, welcher durch gute Granulabildung als besonders geeignet zum Studium der Bakteriolyse erschien. Durch Taubenpassage wurde die Virulenz gesteigert; diesen Taubenstamm bezeichnen wir als *Vibr. Metschn. 1*; durch eine zweite Tierpassage, und zwar durch ein Meerschweinchen, erhielten wir einen zweiten Stamm, welchen wir als *Vibr.*

Metschn. 2 bezeichnen wollen. Als bakteriolytisches Serum benutzten wir normales inaktiviertes Pferdeserum und als präzipitierendes Serum zum Teil ein frisch hergestelltes inaktiviertes Antipferde-Kaninchenserum (nach 3maliger Vorbehandlung), teils ein von uns mit $\frac{1}{2}$ Proz. Karbol versetztes gleiches Serum aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Die Versuchsanordnung war folgende:

Es wurde die zu injizierende Vibrionenmenge mit dem zur Verwendung gelangenden Pferdeserumquantum (inaktiviert bei 56 Grad) in 1 ccm Kochsalz aufgeschwemmt und für 10—15 Minuten in den Thermostaten gebracht. Danach wurde meist durch mehrmaliges Waschen und Zentrifugieren (bei 4000 Umdrehungen) jeglicher Ueberschuß an Pferdeserum entfernt und der Vibrionensatz auf 1 ccm Kochsalzlösung gebracht. Um die Versuchsbedingungen möglichst gleichmäßig zu gestalten, haben wir natürlich zu jeder einzelnen Versuchsreihe eine einzige Aufschwemmung der Vibrionen hergestellt, diese mit Pferdeserum beladen und für die einzelnen Tiere gleiche Volumina dieser Emulsionen abgemessen. Es folgte dann das Hinzufügen von präzipitierendem Serum resp. von Normalkaninchenserum zum Kontrollröhrchen. Nach weiteren 10 Minuten Thermostatenaufenthalt wurden die verschiedenen Proben Meerschweinchen von annähernd gleichem Gewicht intraperitoneal injiziert und der Peritonealinhalt durch Entnahme mit einer Kapillare zu verschieden langer Zeit post injectionem untersucht. Die Untersuchung wurde zumeist nicht im hängenden Tropfen ausgeführt, sondern es wurden Ausstrichpräparate gemacht. Durch G i e m s a - Färbung, zum Teil auch mit Kristallviolett, konnten einwandfreie Präparate hergestellt werden, die ein genaues Vergleichen miteinander gestatteten. Die Auszählung der Verhältniszahlen von Granula und Vibrionen in den verschiedenen Präparaten wurde von uns nur ausnahmsweise vorgenommen, da der Unterschied auch ohne dies deutlich zutage trat.

29. VI. Virulenzbestimmung des Vibrio Metschnikoff 1.

Meerschweinchen	Z. 21	160 g $\frac{1}{10}$	Oese ip.	bleibt am Leben
"	"	17 160 "	$\frac{1}{5}$	" "
"	"	24 170 "	1	" "
				† am folgenden Tag, massenhaft Vibrionen.

30. VI. Auswertung des Pferdeserums für Metschnikoff 1.

Meerschweinchen etwa gleichen Gewichts	{	Z. 18 1 Oese + 0,005 inakt. Pferdeser. nach 24 Std. +
		„ 23 1 „ + 0,01 „ „ lebt
		„ 22 1 „ + 0,05 „ „ „

Diese Auswertung des Pferdeserums hat für die folgende Versuchsanordnung freilich nur einen orientierenden Wert. In diesen Versuchen wurden nämlich die Vibrionen bei der Waschung mit starker Umdrehungszahl zentrifugiert, was bei den zarten Vibrionen, wie schon Pfeiffer und Friedberger gezeigt haben, von ungemein schädigendem Einfluß ist. Infolgedessen ist natürlich der Titer des Pferdeserums gegenüber solchen Bakterien ein viel höherer.

I. Versuch.

1 Oese Vibrio Metschn. I beladen mit 1 mg inaktiv. Pferdeserum 2mal mit reichlicher NaCl-Lösung gewaschen:

A. in 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt: 1) mit 0,1 inaktivem Kaninchenpferdeserum, 2) mit 0,1 normalem inaktivem Kaninchenserum versetzt;

B. analog A, nur mit 3 mg Pferdeserum beladen.

Tabelle I.

	nach 5'	nach 30'	nach 60'	nach 3 ^b	nach 24 ^b
Meerschw. No. 33 mit A ₁	viel Vibrionen, beträchtliche Granula- bildung	vorwiegend Granula	fast nur Granula	ab- gelaufen	ab- gelaufen
Meerschw. No. 34 mit A ₂	viel Vibrionen, vereinzelte Granula	vorwiegend Vibrionen	viel Vibrionen, viel Granula	vereinzelte Vibrionen	dgl.
Meerschw. No. 35 mit B ₁	mäßig Vibrionen, viel Granula	wenig Vibrionen, vorwiegend Granula	fast nur Granula	abgelaufen	„
Meerschw. No. 37 mit B ₂	sehr viel Vibrionen	viel Vibrionen, wenig Granula	wenig Vibrionen, viel Granula	„	„

Aus diesem Versuche ergibt sich, daß der zeitliche Verlauf der Bakteriolyse bei den mit präzipitierendem Serum ver-

setzten Vibrionen schneller von statten geht als in den entsprechenden Kontrollversuchen, wenn auch bei allen Tieren der Infektionsprozeß gleichmäßig zum Ablauf kommt.

II. Versuch.

3. VII. In gleicher Weise wie im ersten Versuch werden je eine Oese Vibr. Metschn. 1 mit 0,01 Pferdeserum vorbehandelt und mit präzipitierendem resp. Normalserum versetzt und Meerschweinchen No. Z 28, 29 intraperitoneal eingespritzt. Die zu verschiedenen Zeiten nach der Einspritzung mit Glaskapillaren aus der Bauchhöhle entnommenen Proben zeigen Befunde, die in der folgenden Tabelle niedergelegt sind.

Tabelle II.

Entnahme	Z 28 200 g	Z 29 200 g
	1 Oese + 0,01 Pferdeser. + präz. Kaninchenser.	1 Oese + 0,01 Pferdeser. + Norm.-Kaninchenser.
nach 10 Min.	viel Vibrionen, mehr Granula	viel Vibrionen, viel Granula
„ 20 „	viel Vibrionen, mehr Granula	viel Vibrionen, viel Granula
„ 60 „	fast nur Granula	recht viel Vibrionen, reichlich Granula.
„ 24 Std.	lebt	lebt
„ 48 „	„	„

Es zeigt sich, daß auch hier dasselbe Phänomen der Beschleunigung der Bakteriolyse in Erscheinung tritt, wie wir es bei dem vorigen Versuche kennen gelernt haben. So sind bei Tier 28 nach 60 Min. im Ausstrichpräparat fast nur Granula zu sehen, während nach gleicher Zeit bei dem Kontrolltier recht viele Vibrionen neben reichlichen Granula noch vorhanden sind. Doch auch bei diesen Tieren ist der Ausgang des Prozesses nach 24 Stunden der gleiche insofern, als zu dieser Zeit keine freien Vibrionen in der Bauchhöhle mehr nachgewiesen werden konnten. Bei dieser Serie studierten wir neben den gefärbten Ausstrichpräparaten auch den Vorgang der Bakteriolyse im hängenden Tropfen. Wir fanden in Uebereinstimmung mit den in der Tabelle niedergelegten Befunden auch bei dieser Art der Untersuchung analoge Resultate. Sowohl das frühere Auftreten der Granulabildung bei den mit präzipitierendem Serum versetzten Vibrionen als auch ein rascheres, zeitliches Eintreten der Unbeweglichkeit von noch erhaltenen Vibrionen deutet darauf hin, daß der Vorgang der Bakteriolyse im Tierkörper in solchen Fällen

rascher von statten geht als in den Kontrollen. Zur weiteren Demonstrierung des großen Unterschiedes, den die mit präzipitierendem Serum versetzten Vibrionen gegenüber den Kontrollvibrionen betreffs der Bakteriolyse im Tierkörper zeigen, zählten wir mit Hilfe des Ehrlichschen Zähllokulars eine gleiche Anzahl Felder in den Ausstrichpräparaten durch. So zeigte z. B. Meerschweinchen Z 28 60 Minuten nach der Injektion der mit präzipitierendem Serum versetzten und mit 0,01 Pferdeserum vorbehandelten Vibrionen bei Auszählung der Verhältniszahl von noch erhaltenen Vibrionen zu deutlich wahrnehmbaren Granula einen Wert von 0,3, während im gleichen Kontrollpräparat von Meerschweinchen 29 (ohne präzipitierendes Serum) die Verhältniszahl 1,1 betrug.

Einen weiteren Beweis für die schnellere Auflösung der Vibrionen unter Einfluß des präzipitierenden Serums gab uns ein Versuch, in dem wir sehr große Mengen von Bakterien verwendeten. Hier ergab es sich, daß alle mit präzipitierendem Serum gespritzten Tiere infolge der schnelleren Vibrionenzerstörung bedeutend früher die Symptome der schweren Endotoxinvergiftung zeigten (Temperatursturz) und früher eingingen als die Kontrollen.

Unser Streben ging natürlich darauf hinaus, einen Bakterienstamm von einer Virulenz zu haben, bei der nicht nur die Bakteriolysebeschleunigung während einer gewissen Zeit deutlich in Erscheinung tritt, sondern bei der auch im endgültigen Resultat der Unterschied deutlich zutage tritt, derart, daß bei gleichen Ambozeptordosen die mit präzipitierendem Serum behandelten Tiere davorkamen und die Kontrollen eingingen. Leider war uns aus äußeren Gründen nicht möglich, diese Versuche mit virulenter Cholera auszuführen, und obgleich wir durch Meerschweinchenpassage die Virulenz unseres *Vibrio Metschn.* auf $\frac{1}{5}$ Oese steigern konnten, so genügte diese Virulenz doch nicht, um den schädigenden Einfluß des Zentrifugierens zu paralyisieren, während andererseits eine entsprechende Steigerung der Bakteriendosis die Gefahr der Endotoxinvergiftung verbot. Immerhin zeigt auch der Versuch mit dieser Rasse des *Vibr. Metschnik.* den beschleunigenden Einfluß des präzipitierenden Serums.

III. Versuch.

In analoger Weise wie bei Versuch I und II benutzten wir dieses Mal pro Meerschweinchen $\frac{2}{6}$ Oese des Stammes II, und zwar beladen mit 5, 1, 0,5 mg mit und ohne präzipitierendes System.

		nach 1 ^a	nach 4 ^a	nach 24 ^a
Z 64	180 g $\frac{2}{6}$ Oese + 5 mg Pferdes. + 2 Trpf. norm. Kan.-Ser.	viel Vibrionen, wenig Granula	keine Vibrionen, viel Granula, abgelaufen	abge- laufen
Z 68	160 „ $\frac{2}{6}$ „ + 5 „ „ + 2 „ präz. Ser.	wenig Vibrionen, viel Granula	keine Vibrionen, wenig Granula, abgelaufen	abge- laufen
Z 65	170 „ $\frac{2}{6}$ „ + 5 „ „ + 2 „ norm. Kan.-Ser.	viel Vibrionen, wenig Granula	abgelaufen	
Z 69	165 „ $\frac{2}{6}$ „ + 1 „ „ + 2 „ präz. Ser.	vorwiegend Granula	abgelaufen	
Z 66	190 „ $\frac{2}{6}$ „ + 0,5 „ „ + 2 „ norm. Kan.-Ser.	viel Vibrionen, viel Granula	vereinzelte Granula, abgelaufen	
Z 70	180 „ $\frac{2}{6}$ „ + 0,5 „ „ + 2 „ präz. Ser.	vorwiegend Granula	vereinzelte Granula, abgelaufen	

Zusammenfassung.

In analoger Weise wie das Phänomen der Hämolysebeschleunigung läßt sich auch eine Beschleunigung der Bakteriolyse durch auf das Ambozeptoreiweiß eingestelltes Antiserum im Pfeifferschen Versuch erzielen.

Literatur.

- 1) Friedberger und Moreschi, Centralbl. f. Bakteriol., Abt. I, Orig., Bd. 45, Heft 4.
- 2) Friedberger und Bezzola, *ibid.*, Bd. 46, Heft 5.
- 3) Moreschi, *ibid.*

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Ueber Beschleunigung und Verstärkung der Opsoninwirkung durch präzipitierende Sera.

Von Prof. Dr. **E. Friedberger** und Dr. **O. Hartoch**¹⁾.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Oktober 1909.)

In der vorhergehenden Arbeit haben Angerer und Hartoch gezeigt, daß die von Friedberger-Moreschi und Friedberger-Bezzola studierten Tatsachen der Hämolysebeschleunigung im Prinzip auf die Bakteriolyse vollkommene Anwendung finden.

Wenn die Verstärkung und die Beschleunigung hier in der Tat nur durch eine Verbesserung der Bedingungen für die Komplementbindung hervorgerufen wird, so müßte diese Beschleunigungs- und Verstärkungswirkung durchgehends bei allen jenen Immunitätsreaktionen sich auslösen lassen, bei denen ein Antikörper von komplexer Konstitution wirksam ist.

Es wird heute allgemein angenommen, daß die Opsonine, die ihre Wirkung durch die Erwärmung auf 56° verlieren, und durch Hinzufügen von frischem Serum reaktivierbar sind, zu jener Gruppe von Antikörpern gehören. Dementsprechend mußte auch hier das Beschleunigungs- und Verstärkungsphänomen in Erscheinung treten, wenn zu den mit dem opsonischen Ambozeptor beladenen Bakterien ein präzipitierendes Serum hinzugefügt wird, das auf jene Tierespecies spezifisch eingestellt ist, von der der Ambozeptor stammt. Denn unter diesen Bedingungen findet das Komplement außer am Ambozeptor auch an dem fixierten Präzipitat eine zweite Angriffsstelle, genau wie bei der Hämolysebeschleunigung und Verstärkung, während bei Gegenwart überschüssigen Ambozeptors in der Zwischenflüssigkeit hier gleichfalls eine Komplement-

1) Die Resultate sind vorgetragen auf der III. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Wien.

ablenkung und Verhinderung der Opsonisation zu erwarten wäre.

Wir stellten nun entsprechende Versuche an, um zu entscheiden, wie weit diese Voraussetzung zutrif.

Zunächst haben wir unter Anwendung der Wrightschen Technik eine Reihe von Experimenten *in vitro* ausgeführt. Wir gingen dabei, soweit nicht ausdrücklich anders bemerkt, wie folgt vor: Eine Bakterienaufschwemmung wurde mit inaktiviertem normalen Pferdeserum versetzt, die Emulsion blieb zur Absorption des Antikörpers 15 Minuten bei Brutschranktemperatur stehen, dann wurde zentrifugiert, der Bodensatz wurde zur Entfernung des überschüssigen Pferdeserums 3–5mal mit großen Mengen physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, und mit dieser zu der Dichte aufgeschwemmt, wie sie zum Anstellen des Wrightschen Versuches erforderlich ist. Die Aufschwemmung wurde zu gleichen Teilen in 2 Röhrrchen verteilt. Das erste Röhrrchen erhielt einen Zusatz von inaktiviertem Kaninchen-Antipferdeserum, das zweite von Kaninchen-Normalserum, oder eine entsprechende Menge von NaCl-Lösung. Mit diesen Bakterienaufschwemmungen wurde der Wrightsche Opsoninversuch in der gewöhnlichen Anordnung ausgeführt. Als Leukocytenmaterial verwandten wir das mehrfach gewaschene Citratblut vom Meerschweinchen oder vom Menschen, als Komplement entsprechende Verdünnungen von Normal-Meerschweinchenserum. Die Mischungen dieser Bestandteile in Wrightschen Kapillaren wurden bestimmte Zeit im Opsonizer bei 37° gelassen.

I. Versuch.

Reagentien:

- A. Staphyl.-alb.-Agarkultur mit unverdünntem Pferdeserum im Ueberschuß abgeschwemmt; 2¼ Std. Brutschrank, 3mal Waschung mit physiol. NaCl-Lösung.
- B. Leukocyten von Meerschweinchen.
- C. 1/10 verdünntes Komplement von Meerschweinchen.
- D. 1/50 verdünntes präzipitierendes Serum (Kaninchen vorbehandelt mit Pferdeeiweiß). Gleiche Mengen von A + C + D bzw. A + B + C kommen 1/4 Std. in dem Opsonizer. Danach Anfertigung und Auszählung der Präparate.

1) A + B + C + D abs. O.I. 1) 11,8.

2) A + B + C + physiologische NaCl-Lösung abs. O.I. 7,0.

1) Abs. O.I. = absoluter opsonischer Index.

Wir sehen also aus diesem Experiment, daß im Hauptversuch unter dem Einfluß des präzipitierenden Kaninchenserums das gegen das Eiweiß des von den Bakterien gebundenen Pferdeambozeptors gerichtet ist, der absolute O.I. um 57 Proz. gestiegen ist.

Es wäre möglich, daß für diese Differenz wenigstens zum Teil das $\frac{1}{50}$ verdünnte Kaninchenserum als solches durch seinen normalen Opsoningehalt verantwortlich zu machen sei. So unwahrscheinlich diese Annahme bei der starken Verdünnung des Kaninchenserums an sich auch ist, so haben wir sie doch in der folgenden Versuchsreihe auszuschalten gesucht durch einen weiteren Kontrollversuch, in dem wir die physiologische NaCl-Lösung des Versuches II durch ein normales inaktiviertes Kaninchenserum ersetzen, das in gleicher Verdünnung verwandt wurde, wie das präzipitierende Serum im Hauptversuch.

II. Versuch.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24-stündige Agarkultur mit inaktivem Pferdeserum im Ueberschuß beladen, $\frac{1}{2}$ Stunde Thermostaten-aufenthalt. 4mal Waschung mit reichlicher NaCl-Lösung. Aufschwemmung des Satzes zur nötigen Dichte. Teilung in 2 Portionen, zur ersten Portion präzipitierendes Kaninchenserum, zur zweiten Portion gleiche Menge und gleiche Verdünnung normalen Kaninchenserums. Wieder 20 Minuten Thermostat.

Reagentien:

- A. 1 Portion der beladenen Bakterien.
- B. 2 Portionen der beladenen Bakterien.
- C. Leukocyten von Meerschweinchen.
- D. Meerschweinchenkomplement.

Gleiche Volumen A—D.

Versuchsröhrchen		1, 2 $\frac{1}{4}$ Stunde im Opsonizer			
		3, 4 $\frac{1}{2}$ " " "	Abs. O.I.	Proz. der Freßzellen	Aufenthalt im Opsonizer
1	A + C + $\frac{1}{20}$ verd. D		10,47	80	15'
2	B + C + $\frac{1}{20}$ " D		5,38	69	15'
3	A + C + $\frac{1}{40}$ " D		12,9	84	30'
4	B + C + $\frac{1}{40}$ " D		4,6	50	30'

Dieser Versuch zeigt, daß nicht das Kaninchenserum an sich im Versuch I für die stärkere Opsonisierung im Vergleich zum Kontrollversuch mit physiologischer NaCl-Lösung

verantwortlich zu machen ist. Vielmehr sehen wir auch hier wieder, daß der absolute O.I. bei Verwendung des präzipitierenden Kaninchenserums im Vergleiche zum Kontrollversuch mit normalem Kaninchenserum bei Verwendung von 20 fach verdünntem Komplement nach $\frac{1}{4}$ Stunde, sowie bei Verwendung eines 30-fach verdünnten Serums nach $\frac{1}{2}$ Stunde Thermostataufenthalt ganz bedeutend erhöht ist.

Daß diese verstärkende Wirkung des präzipitierenden Serums schon sehr früh einsetzt, zeigt das folgende Experiment, in dem bereits nach 3 Minuten die analogen Differenzen im Hauptversuch und Kontrollversuch zum Ausdruck kamen wie im vorigen Experiment.

III. Versuch.

Staphylococcus pyogenes aureus, beladen mit inaktivem Pferdeserum im Ueberschuß. 4malige Waschung mit reichlicher NaCl-Lösung. Auffüllen des Satzes auf die für den Opsoninversuch nötige Dichte.

Reagentien:

- A. mit Pferdeserum beladene, 4mal gewaschene Bakterienaufschwemmung.
- B. $\frac{1}{5}$ verdünntes präzipitierendes Kaninchenserum.
- C. $\frac{1}{5}$ verdünntes normales Kaninchenserum.
- D. $\frac{1}{10}$ verdünntes Komplement.
- E. Leukocyten vom Menschen.

Versuchsröhrchen	1, 2	15 Min. im Opsonizer	
	3, 4	3	„ „ „
			Abs. O.I. Aufenthalt im Opsonizer
1	A + B + D + E	25,0	15'
2	A + C + D + E	14,3	15'
3	A + B + D + E	10,4	3'
4	A + C + D + E	4,8	3'

Es ist bekannt, daß bei den bisher studierten Beschleunigungsphänomenen die Reaktion in ihr Gegenteil verwandelt wird, d. h. eine bedeutende Hemmung bzw. Verzögerung des Prozesses eintritt, wenn neben dem an das Antigen gebundenen Ambozeptoreiweiß ein Ueberschuß davon sich in der Zwischenflüssigkeit findet.

Während nämlich sonst eine Zulenkung des Komplementes z. B. an das Hämolyse-system-Präzipitat statt hat, erfolgt hier im Gegensatz dazu eine Komplementablenkung durch die freien Präzipitate. Daß diese Verhältnisse auch bei der Phagocytoseverstärkung in Erscheinung treten, zeigt deutlich der folgende Versuch.

IV. Versuch.

Staphylococcus albus mit Pferdeserum im Ueberschuß beladen und zur nötigen Dichte aufgeschwemmt (ohne Waschung).

- A. Die mit Ambozeptor beladene, ungewaschene Staphylococcus-Aufschwemmung.
 B. $\frac{1}{10}$ verdünntes Komplement.
 C. Leukocyten vom Meerschweinchen.
 D. präzipitiertes Kaninchenserum 1:5.

Gleiche Mengen von A—D $\frac{1}{4}$ Stunde im Opsonizer.

	Abs. O.I.
1) A + B + C + D	0,65
2) A + B + C + physiol. NaCl	5,5

Wir sehen also aus diesem Versuche, daß die Gegenwart geringer Mengen von überschüssigem Pferdeserum in der Zwischenflüssigkeit die Phagocytosewirkung unter Einwirkung des präzipitierenden Serums nicht nur nicht verstärkt hat, sondern sogar unseren Erwartungen entsprechend eine starke Hemmung der Phagocytose bewirkt hat.

In den vorausgehenden Versuchen ist von den beiden Erscheinungsformen, die wir bei den übrigen Immunerumreaktionen unter dem Einfluß eines präzipitierenden Serums gesehen haben, nämlich Beschleunigung und Verstärkung, naturgemäß bei den eigentümlichen Versuchsbedingungen, wie sie die Phagocytose bietet, nur die Verstärkung, nicht aber die Beschleunigung hervorgetreten, da ja auch im Kontrollversuche die Phagocytose, wenn auch in geringem Grade, sehr schnell statt hat. Als wir nun daran gingen, die Versuche statt im Reagenzglas in der Bauchhöhle des Meerschweinchens anzustellen, da zeigte es sich, daß unter den hier obwaltenden Bedingungen nach einer gewissen Zeit zwischen den Tieren mit und ohne präzipitierendes Serum kein Unterschied bestand. Dagegen sahen wir ähnliche Differenz wie im Reagenzglasversuche sehr wohl in den ersten Minuten nach der Injektion.

Bei dieser Versuchsanordnung tritt auch sehr deutlich die Beschleunigung in Erscheinung. Es genügt, wenn wir von den zahlreichen hierher gehörigen Versuchen, die alle das gleiche Resultat gaben, einen in extenso mitteilen.

V. Versuch.

12. VI. 2 Meerschweinchen von je 200 g Gewicht erhalten je 3,5 Bouillon ip.

13. VI. Starkes polynukleäres Exsudat.

Es wurde nun eine Aufschwemmung von Staphylokokken bereitet, in der üblichen Weise mit Normalpferdeserum beladen und mehrmals gewaschen; in einem Röhrchen wurden 0,1 Normal-Kaninchenserum (Versuch A), in anderen Röhrchen die gleiche Menge Kaninchen-Antipferdeserum zugesetzt (Versuch B).

Meerschweinchen No. 1 erhält Mischung A
 „ „ 2 „ „ B

In verschiedenen Zeiten nach der Injektion wird mittels Glaskapillaren Exsudat entnommen und in gefärbten Präparaten aus 50 Leukocyten der abs. O.I. festgestellt.

	nach 3'	10'	30'
Meerschweinchen 1	1,7	12,4	3,6
„ 2	18,6	13,0	4,1

Wir haben also in dem Versuch nach 3 Minuten eine ausgesprochene Beschleunigung der Phagocytose (bei No. 2 starke Wirkung, bei No. 1 fast null), während bereits nach 10 Minuten die Differenzen vollständig ausgeglichen sind.

Bemerkenswert in diesem Versuche ist, daß mit der Zeit die Zahl der in den Leukocyten sichtbaren Bakterien bei beiden Tieren abnimmt, was namentlich bei Meerschweinchen No. 2 schon früher in Erscheinung tritt als bei Meerschweinchen No. 1.

Es ist wohl das darauf zurückzuführen, daß bei der starken Beladung unter den günstigen Bedingungen des Peritonealversuches eine schneller fortschreitende Zerstörung innerhalb und wohl auch außerhalb der Leukocyten statthat.

Zusammenfassung.

Die bei der Hämolyse und Bakteriolyse beobachtete beschleunigende Wirkung von gegen den Ambozeptor gerichteten Antieiweißseris tritt auch bei der Opsoninwirkung zutage und ist hier auf das gleiche Prinzip der Komplementverankerung durch die Verbindung Ambozeptor-Antiambozeptoreiweiß zurückzuführen.

Nachdruck verboten.

[Aus der I. inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Am Urban
(Prof. Alb. Fränkel) und dem Bakteriologischen Laboratorium
(Prof. Leonor Michaelis.)]

Ueber den Nachweis von Antitrypsin im Urin.

Von Dr. Alfred Döblin.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Oktober 1909.)

Die Untersuchungen über den „Antitrypsin“ genannten Hemmungskörper des proteolytischen Fermentes betreffen zu meist das Blutserum. Relativ wenige Arbeiten befassen sich mit dem Nachweis einer antitryptischen Wirkung von Organen und Körperflüssigkeiten. So fand Weinland (1) einen Fibrin schutz der Dünndarmextrakte (Zusatz von Dünndarmextrakt zu Trypsinlösungen hebt deren Wirkung auf Fibrin auf), das selbe fand Matthes (2); Fermi und Pernossi (3) wollen zerriebene Organe (Leber, Milz, Muskeln von Meerschweinchen) antitryptische Wirkung entfalten gesehen haben, eine Beobachtung, die Landsteiner (4) nach gründlichem Waschen der Organe nicht bestätigen konnte. Eine neuere Arbeit wiederum von Chiarolanza (5) kommt zu den gleichen Resultaten wie Fermi und Pernossi; Chiarolanza (5) findet in Zellbreien gewaschener Organe verschieden großen Gehalt an Antitrypsin.

Arbeiten über eine antitryptische Wirkung des Urins fand ich wenig in der Literatur. Es liegen vorwiegend ältere Angaben über das tryptische Ferment im Urin vor. Kühn (6) fand solches nicht, andere Autoren berichten wechselnde und widersprechende Resultate.

Müller und Kolaczek (7) finden kein Antitrypsin im normalen Urin; nicht einmal bei Zusatz der 160-fachen Menge zum Trypsin. Dagegen hemmte schon gelegentlich der Zusatz der 30—40-fachen Menge stark eiweißhaltigen Urins die Heterolyse, insbesondere bei Fällen von Stauungsniere und chronischer parenchymatöser Nephritis, eine Hemmungskraft, die sich bei stärkerem Eitergehalt abschwächt, ja verliert. Ebenso findet E. Müller (8) bei Nierenleiden mit Zunahme des Albumengehalts des Urins steigende Hemmungskraft gegenüber dem Testeiter, bei gleichzeitiger Zunahme von

Leukocyten, aber Abnahme des Antifermentes bis zu einem wirksamen Ueberschuß an Ferment.

Vorversuche überzeugten uns zunächst davon, daß in den Urinproben, die uns vorlagen, kein proteolytisches Ferment vorhanden war. Die Untersuchungen wurden angestellt mit der Kaseinmethode, deren genaue Beschreibung sich in der Arbeit Döblins (9) findet. Wir bestimmten zunächst diejenige Menge einer 1-proz. Lösung von Pankreatin (Rhenania) in Glycerinwasser (1,0 Pankreat, 50,0 Aq. dest., 50,0 Glycerin, 24 Stunden im Eisschrank, filtriert: sehr haltbar, von konstantem Titer), welche 5 ccm einer 1-proz. Kaseinlösung in 6 Stunden bei 37° gerade verdaut. Das sind ca. 3 mg des Glycerinwasserextraktes.

Der Urin muß zu jeder Untersuchung vorbereitet werden. Er muß gegen Lackmus leicht alkalisch gemacht werden, weil Trypsin nur bei alkalischer Reaktion verdaut und weil die Reaktion in der Kontrolle und im eigentlichen Versuch gleich sein muß. Bloßer Zusatz von Sodalösung zum frischen Urin ist aber unzuweckmäßig, weil die dann ausfallenden Phosphate antitryptische Substanzen mitreißen könnten, eine Vermutung, welche sich später bestätigte. Zur Entfernung der Phosphate und auch zur Ausschaltung anderer Salze, die eine unspezifische Hemmung üben können, wurde die Dialyse in sog. Fischblasen gewählt¹⁾. Zwei- bis dreitägige Dialyse gegen mehrfach gewechseltes destilliertes Wasser genügt, um die Salze aus dem Urin so gut wie völlig zu entfernen; z. B. ergab die Prüfung der Leitfähigkeit eines 2 Tage dialysierten Urins in einem Falle $6,1 \cdot 10^{-5}$, eines 1 Tag dialysierten $48 \cdot 10^{-5}$, das destillierte Wasser des Laboratoriums hat eine Leitfähigkeit von ca. $1 \cdot 10^{-5}$. Die Dialysiergefäße haben durchschnittlich die Größe von 40 cm Höhe, 10 cm Durchmesser; die jeweilig dialysierende Urinmenge beträgt ca. 50 ccm, die Menge der Außenflüssigkeit ca. 1200 ccm; dem Urin sind einige Tropfen Xylol beigelegt.

Nach vollzogener Dialyse kann der Urin alkalisch gemacht werden, ohne daß eine störende Fällung eintritt und ohne daß Salze eine störende Hemmung der tryptischen Verdauung

1) S. den Abschnitt: Methoden zur Darstellung von Fermenten, von L. Michaelis in Abderhaldens Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden, Berlin 1909.

üben. Zusatz einer verdünnten Sodalösung hat tropfenweise zu erfolgen, bis zugesetzte Lackmuslösung eben rein blau wird, d. h. eine H^+ -Ionen-Konzentration von ca. 10^{-8} besteht. — Es wurde nur eiweißfreier Urin benutzt.

Der Versuch wird in folgender Weise angestellt. Der vorbereitete alkalische Urin wird in fallender Menge in eine Reihe von Röhrchen gefüllt; hinzu kommt in jede Röhre eine Dosis der Trypsinlösung, die mindestens gleich der einfach verdauenden Dose ist. Wir wählten aber meist höhere Dosen, bis zur $2\frac{1}{2}$ -fach lösenden Dosis, = 0,0075 ccm Extrakt. Es können dabei zwar Hemmungen der Beobachtung ganz entgehen; die Reaktion wird unempfindlich gemacht, andererseits empfiehlt sich aber ein geringes Ueberschreiten der einfach verdauenden Trypsindose, um etwaige geringe Ausschläge, die z. B. auf minimalen Differenzen der Alkaleszenz beruhen könnten, auszuschalten. Will man als Zeichen der Verdauungshemmung nach Abschluß der Verdauung intensive Kaseintrübung auf Essigsäurezusatz erhalten, so mag man die Dose dicht an 0,3 der 1-proz. Extraktverdünnung wählen, etwa 0,35 bis 0,4 ccm; bei größeren Trypsindosen muß man sich mit schwächeren Trübungen begnügen.

Die Mischung Urin mit Trypsinlösung bleibt zunächst 5 Minuten stehen; dann wird 5 ccm Kaseinlösung zugefügt; die einzelnen Röhrchen der Reihe auf gleiches Volumen mit Aq. dest. aufgefüllt. Die Reihe kommt auf 6 Stunden in den Brutschrank und wird mit tropfenweisem Zusatz einer 1-proz. Essigsäurelösung geprüft.

Das Protokoll lautet dann:

Urin	2,0	1,0	0,5	0,25	0,12
Trypsin	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Aq. dest.	—	1,0	1,5	1,75	1,88
Kasein	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

6 Stunden Brutschrank; 1% Essigsäure

— nicht fertig | nicht fertig | fertig? | fertig | fertig

Kürzer dauernde Verdauungszeiten als 6 Stunden zu wählen, ist nicht empfehlenswert, weil sie größere Trypsindosen erfordern, welche aber wiederum die Hemmungen nicht erkennen lassen. Wegen der geringen Trypsindose ist auch die Plattenmethode für die Prüfung des Urins ungeeignet; ein Tropfen einer hundertfachen Verdünnung des Trypsinextraktes macht keine Delle mehr auf Serum.

Es wurde Hemmung der Verdauung in allen Fällen gefunden. In den normalen Fällen — es wurden 30 verschiedene Urine Gesunder untersucht — hemmte 2—1 ccm Urin gerade noch die Verdauung der angewandten Trypsindose. Doch wurden 4 Urinproben Gesunder geprüft, von denen sogar 4 ccm eine eben erst erkennbare Hemmung bewirkten; 2 Proben ließen Hemmung erst mit der einfachen Trypsindose erkennen; 2 andere Proben hemmten dagegen noch mit 0,25 ccm die Trypsindose 0,5 ccm.

Urin von Carcinomkranken (5), von Phthisikern (7), von Typhuskranken (3), von Pneumonien (2) zeigte mehrfach Erhöhung des antitryptischen Titers; zwei Phthisiker hemmten mit 0,12 Urin, ebenso ein Typhusurin; aber zwei andere hochkachektische Phthisiker haben normale Werte (einer am Tage vor seinem Tode), ebenso ein Typhuskranker mit Diazoreaktion. Außerordentlich stark hemmt gallenfarbstoffhaltiger Urin. In acht Fällen wurde der Antitrypsingehalt von Serum und Urin desselben Patienten untersucht; eine strengere Parallelität scheint danach nicht zu bestehen; wenigstens hatte ein Apoplektiker mit hohem Serumtiter normalen Urintiter; ebenso eine Bleikolik; auch das Umgekehrte — normaler Serumtiter, erhöhter Urintiter — wurde einmal beobachtet.

Zahlenmäßig hemmt durchschnittlich der Urin ca. 1000mal weniger als Serum, Serum hemmt nämlich bei einer Trypsindose von 0,75 etwa mit 0,001 ccm.

Die antitryptische Eigenschaft des Urins ist in hohem Maße gegen Erhitzen resistent. 1-stündiges Erhitzen des dialysierten Urins bei 70° setzt den Titer gar nicht herab; Kochen schädigt die Wirkung wenig, ein Urin, der ungekocht etwa mit 0,5 hemmte, hemmte gekocht mit 1,0 ccm.

Bei der Dialyse bleibt der Titer ca. 4—5 Tage auf gleicher Höhe, sinkt dann ziemlich rasch, ohne ganz zu verschwinden. Dagegen schädigt wochenlanges Stehen die antitryptische Eigenschaft des vorbereiteten Urins nicht.

Aetherextraktion von 4 Urinen ergab, daß der Titer des Urins vor der Behandlung mit Aether derselbe wie nach der Behandlung war.

Aus dem Verhalten gegen Hitze folgt, daß die antitryptische Wirkung des Urins nicht einem fermentähnlichen Körper zuzuschreiben ist; aus dem Verhalten gegen Aether, daß

sie nicht mit einem Lipoid zusammenhängt. Die Hemmungswirkung ist keine Wirkung der Salze des Urins, denn Urine, die im Salzgehalt fast gleich destilliertem Wasser sind, hemmen stark und verschieden stark.

Es handelt sich bei dem Antitrypsin im Urin um ziemlich schwer dialysierbare, also kolloidale Körper, die hitzebeständig sind, sich mit Aether nicht extrahieren lassen. Auf das schon sonst bekannte Vorhandensein solcher Körper im Urin weist neuerdings eine Arbeit von Lichtwitz und Rosenbach (10), welche Kolloide im normalen Urin finden, die durch Dialyse darstellbar, gegen Hitze und Ausfrieren beständig sind, auf Goldlösung Schutzwirkung ausüben. Die Herkunft der antitryptischen Substanz des Urins aus dem Serum ist möglich, doch nicht erweislich; sie gleicht der des Serums, wie die folgende Arbeit zeigt, im Verhalten gegen Dialyse und Hitze. Ob der Nachweis antitryptischer Substanzen im Urin klinisches Interesse gewinnen kann, wird erst die Durchforschung größeren Materials lehren.

Zusammenfassung.

Im normalen und pathologischen Urin findet sich Antitrypsin, das die Charakteristica des Serumantitrypsins hat. Es hat keine strengere Parallelität mit diesem in den quantitativen Verhältnissen; doch haben auch die Urine verschiedenen Antitrypsingehalt.

Der Nachweis dieser Hemmung gelingt nur mit der empfindlicheren Caseinmethode, nicht mit der unempfindlichen Serumplattenmethode.

Literatur.

- 1) Weinland, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 44, 45, 1902.
- 2) Matthes, Arch. f. experim. Pathologie, Bd. 51, 1904.
- 3) Fermi und Pernossi, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 18, 1894.
- 4) Landsteiner, Centralbl. f. Bakteriologie, Bd. 27, 1900.
- 5) Chiarolanza, Med.-naturwissenschaftl. Archiv, Bd. 2, Heft 1.
- 6) Kühne, Verhandl. des naturw. Vereins Heidelberg (1877), 2.
- 7) Müller und Kolaczek, Münchener med. Wochenschr., 1907, No. 8.
- 8) Müller, Arch. f. klin. Med., Bd. 92, 1908.
- 9) Döblin, Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 25.
- 10) Lichtwitz und Rosenbach, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 61, p. 112.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Krankenhauses
Urban Berlin (Prof. L. Michaelis).]

Untersuchungen über die Natur des Antitrypsins.

Von Dr. **Alfred Döblin.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Oktober 1909.)

Untersuchungen über die Natur der antitryptischen Wirkung des Blutserums werden, von ihrem theoretischen Interesse abgesehen, nahegelegt durch die vielfach erwiesene Tatsache, daß bei einer Reihe von Krankheiten, wesentlich konsumierender Art, der Antitrypsingehalt des Serums gesteigert ist. [Brieger und Trebing (1), Klieneberger und Scholz (2), Eisner (3) etc.] Es bleibe hier die Frage unerörtert, ob von vornherein eine Identität des normalen und pathologischen Antitrypsins anzunehmen ist und ob die Angaben für das normale Antitrypsin auch für das pathologische gelten. Die folgenden Untersuchungen betreffen den Antitrypsingehalt des normalen Pferde- und Menschenserums. Die bisherigen Arbeiten über das Wesen der Eigenschaft des normalen Blutserums, die Eiweißverdauung des Trypsins zu verzögern, haben eine ganze Reihe von Vermutungen und Theorien veranlaßt; als die meist verbreitete kann diejenige hervorgehoben werden, welche die Hemmung auf einen fermentartigen Körper im weitesten Sinne, und zwar auf ein spezifisches Antiferment zurückführt.

Dieser Fermentcharakter des Antitrypsins wird erschlossen aus der Thermolabilität der Antitrypsinwirkung. Schon Hahn (4) gibt an, daß die hemmende Eigenschaft des Serums bei 65° erlösche, nach Achalme (5) erlischt sie zwischen 65–70°; Jochmann und Kantorowicz (6) heben sie durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 66° auf; ebenso vernichtet Chiarolanza (7) die Hemmungskraft seiner Zellbreie durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 70°. Die Autoren arbeiteten teils mit der Gelatine-, teils mit der Plattenmethode.

Die Nachprüfung mit der Caseinmethode, genau ausgeführt nach den Angaben obiger Arbeit (Ueber den Nachweis von

Antitrypsin im Urin), mit 0,75 ccm 1-proz. Trypsinextraktverdünnung, bestätigte diese Resultate nicht; ebenso die Nachprüfung mit der Caseinmethode nach den Angaben Eisners (3), welcher je 0,05 ccm Serum mit 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 ccm unverdünnten 1-proz. Trypsinextraktes mischt und 5 ccm $\frac{1}{3}$ ‰ Caseinlösung zusetzt; Verdauungszeit $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, Prüfung mit 1 ‰ Essigsäure. Vielmehr lautet das stets gleiche Protokoll der oft mit Pferde- und Menschenserum wiederholten Versuche, zu welchen ich Sera benutzte, die ich vor dem Kochen mit 9 Teilen destillierten Wassers verdünnte:

	$\frac{1}{10}$ Serum gekocht			$\frac{1}{100}$ Serum gekocht			$\frac{1}{1000}$ Serum gekocht		
Serum	1,0	0,5	0,25	1,0	0,5	0,25	1,0	0,5	0,25
Trypsin	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Aq. dest.	0	0,5	0,75	0	0,5	0,75	0	0,5	0,75
Casein	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

6 Stunden 37°; Essigsäurezusatz

| n. f.¹⁾ | n. f. | n. f. | n. f. | n. f. | n. f.?²⁾ | f.³⁾ | f. | f.

Kontrolle mit rohem Serum:

	$\frac{1}{10}$ Serum roh			$\frac{1}{100}$ Serum roh			$\frac{1}{1000}$ Serum roh		
Serum	1,0	0,5	0,25	1,0	0,5	0,25	1,0	0,5	0,25
Trypsin	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Aq. dest.	0	0,5	0,75	0	0,5	0,75	0	0,5	0,75
Casein	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

6 Stunden Brutschrank; Essigsäure

| n. f. | n. f. | n. f. | n. f. | n. f. | n. f. | f.?²⁾ | f. | f.

Bei Anwendung der Zahlen Eisners lautet das Protokoll:

	$\frac{1}{10}$ Serum gekocht					$\frac{1}{10}$ Serum roh				
Serum	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Extrakt	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3
$\frac{1}{3}$ ‰ Casein	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

$\frac{1}{2}$ Stunde 37°; Essigsäure

| n. f. | f. | f. | f. | f. | n. f. | f. | f. | f. | f.

Zur Kontrolle wurde auch erstarrtes Serum hinzugezogen. Rohes Pferdeserum wurde mit dem gleichen Volumen destil-

1) Nicht fertig verdaut. 2) Fertig verdaut.

lierten Wassers $\frac{1}{2}$ Stunde lang gekocht; eine gleiche ungekochte Verdünnung diente als Kontrolle. Das Protokoll der oft wiederholten Plattenversuche lautet:

Kontrolle mit gekochtem Serum.

Gekochtes Serum Trypsin	1 Teil 1 Teil	2 Teile 1 Teil	4 Teile 1 Teil	8 Teile 1 Teil
Brutschrank				
	Delle	keine Delle	keine Delle	keine Delle

Kontrolle mit rohem Serum.

Rohes Serum Trypsin	1 Teil 1 Teil	2 Teile 1 Teil	4 Teile 1 Teil	8 Teile 1 Teil
Brutschrank				
	Delle	keine Delle	keine Delle	keine Delle

Kontrolle mit destilliertem Wasser.

Aqua destillata Trypsin	1 Teil 1 Teil	2 Teile 1 Teil	4 Teile 1 Teil	8 Teile 1 Teil
Brutschrank				
	Delle	Delle	Delle	Delle

Benutzte ich unverdünntes Serum und erhitzte es bei 66° $\frac{1}{2}$ Stunde, so nahm es eine gelatinöse Beschaffenheit an, eine Vermischung von Serum mit Trypsin war nur sehr unvollkommen möglich, das Resultat der Verdauungshemmung daher unbrauchbar.

Es ergeben demnach die Untersuchungen mit der Casein- und Plattenmethode gleichmäßig die Hitzebeständigkeit der antitryptischen Wirkung des Blutserums sowohl vom Pferd wie vom Menschen.

Der Antikörpercharakter des als Ferment angesprochenen Antitrypsins wird gefolgert aus der Möglichkeit, seinen Hemmungstiter durch ein spezifisches Antigen zu erhöhen. Achalme (5) steigert den Antifermentgehalt des Meer-schweinchenserums durch intraperitoneale Injektion von Pankreastrypsin. Landsteiner (8) vermag aber trotz langer Behandlung keine solche Steigerung bei seinen Tieren zu er-

zielen. Jochmann und Kantorowicz (6) immunisieren mit 5—10-proz. Pankreastrypsin und gut verdauendem Kokken-eiter subkutan Kaninchen; nach 2—4 Wochen finden sie bis 32-fache Erhöhung des Antitrypsingehaltes. Als Antigen wird von Jochmann aufgefaßt das Leukocytenferment, erschlossen daraus, daß die Immunisierung mit Leukocytenferment nicht nur den Antifermentgehalt gegen das eingeführte Ferment steigert, sondern auch gegen Pankreastrypsin immunisiert; weiter erschlossen aus Absättigungsversuchen: bei Absättigung des Antipankreatins mit Pankreatin geht auch die Wirksamkeit des Antileukocytenferments verloren. Andere Autoren [Fürst (9), Braunstein (10)] nennen als Antigen die beim Zerfall des körpereigenen Eiweißes freiwerdenden Zellfermente, demonstriert an der Erhöhung des Hemmungstiters von Tieren nach Hungertagen, nach Vergiftung mit Phosphor, Phloridzin. Meyer (11) bestätigt diese Angaben nicht, findet aber nach Schilddrüsenverfütterung vermehrte Hemmungskraft des Serums und nimmt eine primäre Vermehrung der proteolytischen Zellfermente durch Stoffwechselgifte an, welche Fermente reaktiv Antifermente erzeugen sollen. Es soll nicht besonders auf die erheblichen Widersprüche der Autoren in tatsächlichen Angaben hingewiesen werden. Aber als Einwand gegen die Antikörpertheorie muß erstens mit Eisner betont werden, daß es sich hier um den exzeptionellen Fall einer Antikörpererzeugung auf körpereigenes Antigen handeln müßte; die Mitteilung Adlers (12) von einer spezifischen Antitoxinbildung gegen körpereigene Spermatozoen bei Meerschweinchen steht allein da, ist noch nicht nachgeprüft; die auch von Meyer herangezogenen Autohämolysine bei paroxysmaler Hämoglobinurie sind noch hypothetisch. Ferner ist höchst auffällig die kurze Zeit der Bildung der „tryptischen Antikörper“. Gläßner (13) findet schon einige Stunden nach der Mahlzeit erhöhten Titer. Den experimentellen Beobachtungen bei Immunisierung mit 5—10-proz. Trypsinlösung und Kokken-eiter wohnt strengere Beweiskraft nicht inne; denn diese Lösungen müssen als mehr oder weniger toxisch angesehen werden, und die Vermehrung des Antitrypsins nach solcher Injektion erscheint demnach nicht eindeutig. Auch wäre für

solchen Versuch körpereigenes Trypsin als Antigen erforderlich, ferner als negative Kontrolle ein Versuch, welcher die Spezifität der Antikörperbildung dadurch erweist, daß nach Injektion anderer Lösungen und Stoffe Vermehrung des Antitrypsins nicht stattfindet. Jochmann zeigt aber selbst, daß körperfremde und artfremde Substanzen die Hemmungskraft erhöhen. Die Injektion und Lösung arteigenen Pankreatins ist noch nicht versucht; ich injizierte solche Lösung (5 g Kaninchenpankreas zerrieben, einen halben Tag lang geschüttelt mit 20 ccm Aq. dest., nach 24 Stunden filtriert, nach der Caseinmethode als proteolytisch wirksam befunden) einem anderen Kaninchen, zum zweiten Male nach einer Woche; in diesem einen Falle trat jedenfalls keine Vermehrung des Titors nach 2 Wochen auf. Ebenso wenig fand Meyer nach künstlicher Erzeugung einer Gewebsnekrose, wodurch körpereigenes Eiweiß resorbiert wurde, vermehrtes Antitrypsin. Es weisen also die vorliegenden Untersuchungen in dem Antitrypsin einerseits nicht einen eigentlichen Antikörper nach, beweisen andererseits fehlende Spezifität.

Mehrere Arbeiten suchen festzustellen, welchen Bestandteil des Serums die antitryptische Eigenschaft zukommt. Bei Trennung der Eiweißsubstanzen durch die fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat nach der Methode von Hofmeister erhielten die Autoren widersprechende Resultate. Landsteiner (8) fand bei Behandlung von Rinderserum Antitrypsingehalt nur in der Albuminfraktion; Gläßner (13) nur in der Euglobulinfraktion, Müller (14), im Einklang mit Opie und Barker (15), wieder nur in der Albuminfraktion. Ich untersuchte im Menschen- und Pferdeserum ebenfalls getrennt die Globuline, welche bei $\frac{1}{8}$ Sättigung mit gesättigter Ammonsulfatlösung (Euglobulin) ausfallen, ferner die Globuline der Halbsättigung (Pseudoglobuline), schließlich das Albumin. Die Globuline wurden in 1-proz. NaCl-Lösung gelöst. Das Ammonsulfat wurde durch 4-tägiges Dialysieren so weit aus den Lösungen entfernt, daß es in den Verdünnungen für die Austitrierung ($\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{1000}$) nicht mit Chlorbaryum nachweisbar war. Annähernd hatte das Albumin den Hemmungsgrad des Vollserums (0,5 mg bei Anwendung von 0,75 ccm 1-proz.

Extraktverdünnung); schwächer hemmte die Euglobulin- und Pseudoglobulinfraktion, beide mit 0,5 cg. Dies beim Pferdeserum; das Menschenserum lieferte bei der verwendeten Menge von 50 ccm keine genügende Quantität Pseudoglobulin; das Albumin und Euglobin verhielt sich wie das des Pferdeserums: Albumin Hemmungsgrad des Vollserums, schwächere Hemmung des Euglobulins.

Ueber die Beziehung der antitryptischen Kraft zum Eiweißgehalt einer Flüssigkeit im allgemeinen belehren folgende Zahlen:

		Esbach %	Antitryptischer Titer bei Ver- wendung von 0,75 Trypsinlösung
Dialyse	Pferdeserum unbehandelt	7	1 mg
	Pf.-Ser. 1 Woche dialysiert, ohne die ausgefallenen Globuline	3½	> 1 mg
	Die Globuline nach 1 Woche Dialyse	¾	0
	Pf.-Ser. wochenlang dialysiert, ohne ausfallende Globuline	2	0,25 g
	Serumalbumin nach wochenlanger Dialyse	½	fast 0
Fällung mit Am- monsulfat	Albumine der Ammonsulf. Fällung (Pferd)	½	1 mg
	Euglobuline d. Fällung (Pferd)	1	0,5 cg
	Pseudoglobuline (Pferd)	½	0,5 cg
	Albumine d. Fällung (Mensch)	½	1 mg
	Euglobuline (Mensch)	1	0,5 cg

Ebenso wie von der Fraktion ist danach die antitryptische Wirkung unabhängig vom Eiweißgehalt im allgemeinen. Die Albumine der Ammonsulfatfällung hemmen mit ½ Proz. Eiweißgehalt ebenso wie das Vollserum mit 7 Proz.; die ¾-proz. Eiweißlösung der Globuline, welche bei einwöchentlicher Dialyse ausfallen, hemmt gar nicht; das 2-proz. Pferdeserum nach wochenlanger Dialyse fast ebenso wie das reine Serumalbumin mit ½ Proz.

Eine weitere Prüfung betraf das Verhalten der antitryptischen Wirkung bei der Dialyse des Serums (die Methode der angewandten Dialyse siehe in obiger Arbeit: Döblin,

Nachweis von Antitrypsin im Urin). Es wurden 50 ccm normales Pferde- und Menschenserum zur Dialyse verwandt. Während der Titer in der ersten Woche auf gleicher Höhe bleibt, trotz Sinkens der Eiweißkonzentration von 7 Proz. auf $3\frac{1}{2}$, fällt er in den folgenden Wochen derart, daß ein wochenlang dialysiertes Serum mit 2 Proz. Esbach den ca. 100. Teil des antitryptischen Gehalts, das Serumalbumin mit $\frac{1}{2}$ Proz. nach weiterer wochenlanger Dialyse ca. den 1000. Teil hat, d. h. fast nicht mehr hemmt.

Die ausgefallenen Globuline hemmen überhaupt nicht, bei $\frac{3}{4}$ Proz. Esbach. Es dialysieren also die Träger der antitryptischen Wirkung, wie das Verhalten der ersten Woche zeigt, selbst nicht; die antitryptische Wirkung ist demnach vom Salzgehalt unabhängig; sie verschwinden aber dann mit dem fortschreitenden Salzverlust der Flüssigkeit. Durch das bloße Stehen werden sie nicht zerstört, wie das zu irgendeiner Zeit entnommene Serum zeigt; sie selbst fallen nicht aus.

Das Enteiweißen des Serums [Michaelis und Rona (16)] mit Kaolin oder kolloidaler Eisenlösung entfernt auch alle antitryptischen Körper aus dem Serum. Daraus ergibt sich natürlich keineswegs ein strikter Zusammenhang zwischen Eiweiß im allgemeinen und Antitrypsin; vielmehr werden ja mittels dieser Methoden alle Kolloide aus der Flüssigkeit entfernt, nicht nur die bekannten Eiweißsubstanzen. Es ergibt sich daraus nur der schon sonst evidente kolloidale Charakter des Antitrypsins resp. die Bindung der antitryptischen Wirkung an Kolloide.

Einige Autoren glauben in Lipoidsubstanzen den Träger der antitryptischen Wirkung zu fassen. Pribram (17) schließt aus Versuchen Weinlands (18), der eine antitryptisch wirkende Substanz aus der Magenschleimhaut und aus *Ascaris lumbricoides* extrahiert, Extrakten von hohem Fettsäureestergehalt, daß die antifermentative Wirkung mit diesem Gehalt zusammenhinge, und berichtet über seine Versuche mit Pick, wonach sie durch Aetherextraktion den antitryptischen Gehalt des Serums erschöpfen konnten. Schwarz (19) bestätigt diese Tatsache, er findet nach 48-stündigem Schütteln des Serums mit Aether keine antifermentative

Wirkung mehr in ihm, — er prüft mit der sehr ungenauen Methode der Mettschen Röhren — er findet auch, daß in gewissen Grenzen mit einer Vermehrung des Aetherextraktes eine Erhöhung der Hemmungskraft im Blute einhergehe. Auch Meyer (11) erschöpft bis auf Spuren durch Aetherextraktion die antitryptische Kraft des Serums. Neumann (20), im Verfolg der Pick-Pribramschen Versuche, konstatiert die hemmende Wirkung von Seifenlösungen. Mit der Casein- und Plattenmethode die Angaben Schwarzs nachprüfend, fand ich nach 24-stündigem Schütteln des Serums mit Aether im Aetherextrakt, der getrocknet und mit wenig Alkohol aufgenommen, mit destilliertem Wasser auf das Quantum des Vollserums gebracht war, eine sehr geringe hemmende Kraft; das Originalserum hemmte mit 1 mg, der Aetherextrakt mit kaum 1 dg sicher; sicher erst mit 0,5 g; eine Schwächung der antitryptischen Kraft des Serums ist nur gering (Titer ca. 0,25 cg). Ein Pferdeserum wird im Exsikkator getrocknet, gepulvert, mit Aether extrahiert; der Extrakt hemmt mit 0,5 dg undeutlich, sicher mit 1 dg. — Eine 1-proz. Lecithinlösung hemmt schon mit 0,25 g undeutlich; eine Mischung von fast nicht hemmendem Serumalbumin mit einer Menge Lecithin, so daß die Mischung 1 Proz. Lecithin enthält, hemmt roh und gekocht gleichmäßig mit etwa 0,5 g wie bloße Lecithinlösung. Daraus folgt, daß den mit Aether extrahierten Lipoiden des Serums eine irgendwie wesentliche Rolle an der Hemmung nicht zukommt. Bemerkenswert ist, daß in wochenlang aufbewahrten Aetherextrakten, welche zuerst antitryptisch gewirkt hatten, später keine hemmende Kraft mehr nachweisbar war. Es wird also das Antitrypsin, das im reinen Serum und in wässriger Lösung sich wochenlang hält, zu gleicher Zeit in alkohol-ätherischer Lösung zerstört.

Es fragt sich, wie man sich die hemmende Wirkung des Serums auf das Trypsin zu denken habe, ob das „Antitrypsin“ etwa eine Bindung irgendwelcher Art mit dem Trypsin eingehe, oder Trypsin absorbiere oder sonst irgendwie das Medium der Fermentwirkung verschlechtere. Eine entscheidende Antwort darauf ist bisher nicht zu geben. Es mögen immerhin folgende Tatsachen aufgeführt werden, die einen vorläufigen Anhaltspunkt geben können. Blieb eine Reihe mit einer

Mischung von Serum mit Trypsin, in den Dosen der Caseinmethode nach Eisner 10 Minuten stehen, wurde dann jede Röhre einzeln gekocht und nach dem Erkalten die zugehörige Trypsindose noch einmal zugesetzt, so zeigte sich in vielen Versuchen, daß der Hemmungstiter der Kontrollreihe (Serum und Trypsin ungekocht) mit der Versuchsreihe übereinstimmt. Das heißt: das Serum resp. sein Antitrypsin geht keinerlei feste resp. unlösliche Verbindung mit dem Trypsin ein. Gekochte 10-proz. Trypsinlösung hemmt nicht, $\frac{3}{4}$ -proz. Globulin ebensowenig. — Die vorgetragenen Untersuchungen lassen eine Reihe von Fragen offen. Als faktische Resultate ergeben sie:

Zusammenfassung.

- 1) Hitzebeständigkeit der antitryptischen Wirkung.
- 2) Bindung der antitryptischen Wirkung an ein Kolloid.
- 3) Unspezifität der Eiweißkörper in bezug auf antitryptische Wirkung. Unabhängigkeit der antitryptischen Wirkung von der Eiweißmenge.
- 4) Unwesentliche Beteiligung von Lipoiden an der Hemmung.

Aus alledem folgt, daß das Antitrypsin des Serums

- 1) kein Antikörper im gewöhnlichen biologischen Sinne ist, weil der Stoff, an den es sich bindet, das Trypsin, nicht als sein Antigen erwiesen werden kann, welcher seine Entstehung im Organismus erzeugt;
- 2) daß es auch sonst nicht die Eigenschaften hat, die wir bei echten Antikörpern zu finden gewohnt sind, nämlich die Thermolabilität, die Aussalzbarkeit durch eine bestimmte Menge von Ammonsulfat;
- 3) daß das Antitrypsin dennoch ein kolloidaler, d. h. schwer diffundierender Stoff ist und die antitryptische Wirkung nicht auf irgendwelchen Salzgemischen oder dergleichen beruht.

Literatur.

- 1) Brieger und Trebing, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 22.
- 2) Klieneberger und Scholz, Arch. f. klin. Medizin, Bd. 93, 1908.
- 3) Eisner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, p. 650.
- 4) Hahn, Berl. klin. Wochenschr., 1897, p. 499.

- 5) Achalme, Annales de l'Inst. Past., 1901; Soc. de Biol., T. 51, 1899.
- 6) Jochmann und Kantorowicz, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 66, 1908.
p. 194.
- 7) Chiarolanza, Mediz.-naturwissenschaftl. Arch., Bd. 2, Heft 1.
- 8) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 27, p. 357.
- 9) Fürst, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 2.
- 10) Braunstein, Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 13.
- 11) Meyer, K., Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 50; 1909, No. 23.
- 12) Adler, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, Heft 5.
- 13) Gläßner, Hofmeisters Beiträge, Bd. 4, 1904.
- 14) Müller, Arch. f. klin. Med., Bd. 92, 1908, p. 200.
- 15) Opie und Barker, Journ. of exp. Med., 1907, März 14.
- 16) Michaelis und Rona, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, 1908, p. 332.
- 17) Pribram, Handb. d. Immunitätsforsch., von Kraus und Levaditi,
Bd. 2, p. 84.
- 18) Weinland, Zeitschr. f. Biol., Bd. 44, 1902.
- 19) Schwarz, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 23.
- 20) Neumann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 26.

Nachdruck verboten.

[From the Laboratories of the Rockefeller Institute for Medical
Research New York.]

On the Reaction of Tumor Mice to Injections of Tumor Emulsion.

By **Peyton Rous, M. D.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Oktober 1909.)

In a recent article Yamanouchi¹⁾ has described a reaction brought about in tumor mice through the intraperitoneal injection of an emulsion in salt solution of a tumor of similar strain. Two injections on successive days caused an abrupt sickness "characterized" by ruffled hair, immobility, and often death within twenty-four hours. In some cases a single injection produced these effects. They were never obtained in animals which had shown themselves resistant to tumor implantation, nor in those bearing a neoplasm different from that of the emulsion. Yamanouchi supposes the reaction to be distinct from that of anaphylaxis; but at present this

1) T. Yamanouchi, Compt. rend. Soc. de Biol., T. 66, 1908, p. 754.

question is secondary to a confirmation of his general results. Apolant¹⁾ has repeated the work and in no case could he elicit effects such as those described. At about the same time a repetition was carried out in the Rockefeller Institute for Medical Research, and with no better success. The results follow in detail.

Our first experiment was closely modelled after those of Yamanouchi. He made use of tumors 2—8 millimeters in diameter, and an emulsion of one such in 15—20 c. c. of salt solution. The tumors employed by Apolant were (in 28 of his 29 mice) very much larger. In view of the fact that the reaction is said to fail always in "Nullen" we have thought it wise to give measurements on the progress of the growths to the time of experiment: since in animals with retrogressing growths the body state may be, for the purposes of the reaction, identical with that in those primarily immune.

Table I.
Jensen carcinoma.

No.		Diameter of tumor in cm.					
		May 28	June 8				
I	} May 17 inoculated with Jensen carcinoma	0,5	0,7	Killed June 8 and tumor emulsified in 20 c. c. salt solution			
II		0,8	0,5	June 8	June 9	June 10	June 11
III		0,5	0,5	all given	animals	animals	animals
IV		0,5	0,8	an intra-	well,	well	well
V		0,4	0,6	peritoneal	injection		
VI		0,7	0,5	injection	repeated		
VII		0,4	0,8	of 1 c. c. tumor emulsion			
VIII	} normal animals						
IX							
X							
XI							

Following these negative results the conditions were varied somewhat. For Experiment II a sarcoma was selected and the emulsion given considerable concentration. Always to emulsify tissue it was ground in a mortar with salt solution and the fluid strained through fine gauze.

1) H. Apolant, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, 1909, p. 108.

Table II.
Ehrlich sarcoma.

No.		Diameter of tumor in cm.					
		June 15	June 17				
I	June 1 inoculated with Ehrlich sarcoma	0,4	0,5	Killed June 17 and tumor emulsified together in 21 c. c. salt solution			
II		0,3	0,6				
III		0,5	0,6	June 17 all given an intra-peritoneal injection of 1 c. c. tumor emulsion			
IV		0,1	1,0 ¹⁾				
V		0,6	0,6	June 18 animals well, injection repeated			
VI		0,5	0,6				
VII		0,4	0,7	June 19 animals well			
VIII		0,3	0,4				
IX	normal animals						
X							
XI							
XII							

In Experiment III the tumors were quite large. This series furnished the only instance suggestive of Yamouchi's findings. Twenty-four hours after the second injection Mouse III was noted to be somewhat paraplegic, and its abdomen abnormally distended. In another twelve hours the paralysis of the hind legs was complete, and on the second day after the last inoculation the animal was found dead. Its abdomen contained several cubic centimeters of blood-stained fluid. The evidence was for trauma from the injecting needle.

Table III.
New York sarcoma.

No.		Diameter of tumor in cm.						
		May 28	June 15	June 18				
I	May 11 inoculated with New York sarcoma	0,5	1,0	1,1	Killed June 18 and Tumor emulsified in 22 c. c. salt solution			
II		0,7	1,0	1,2	June 18 all given an intra-peritoneal injection of 1,0 c. c. tumor emulsion	June 19 animals seem well, injection repeated	June 20 No. III is sick, others all well	June 21 No. III dead, autopsy shows trauma, others all well
III		0,6	1,1	1,3				
IV		0	1,0	1,4				
V		1,0	1,3	1,5				
VI		0	0,5	0,6				
VII		1,0	0,5	0,5				
VIII		0,3	0	0				
IX		0,5	0	0				
X		0,2	0	0				
XI		0	0	0				

1) Beginning to ulcerate.

Apolant notes the slow growth of the tumors used by Yamanoichi, and suggests that the latter's results may be traceable to infection of the masses. None of the common, transplantable sarcomata and carcinomata develop so slowly except under special conditions. For an uninfected tumor of sluggish character we had resort to Ehrlich's chondroma. The objection that it is an unique neoplasm must, of course be granted.

Table IV.
Ehrlich chondroma.

No.		Diameter of tumor in cm.							
		May 10	May 28	June 15	June 18				
I	April 27 inoculated with Ehrlich chondroma	0	0,6	1,2	1,3	Killed June 18 and tumor emulsified in 21 c. c. salt solution			
II		0	0,4	1,0	1,1	June 18 all given an intra-peritoneal injection of 1,0 c. c. tumor emulsion	June 19 animals well, injection repeated	June 20 animals well	June 21 animals well
III		0,5	—	—	1,4				
IV		0,4	0,6	1,3	1,3				
V		0	0,4	1,1	1,2				
VI		0	0,5	1,0	0,8				
VII		—	0,3	1,0	1,0				
VIII		normal animals							
IX									
X									
XI									

A final test was made with the Flexner-Jobling rat tumor, an adeno-carcinoma. The growths were large, and all had ulcerated except that made into the emulsion. One of the rats died forty-eight hours after the second injection. It was to greatly eaten by the others to be useful at autopsy. The animals were in such poor condition at the outset that this fatality can hardly be attributed to the emulsion. (Table V.)

The results here recorded do not support the findings of Yamanoichi, while they do support the negative results of Apolant's experiments. The point is one of theoretical as well, possibly, as of practical interest. A peculiar general susceptibility to the products of tumor cells the counterpart of which are growing in the body and have been derived at some period from somatic cells of the quality of the normal body cells, would be of great significance. Thus far, with

Table V.
Flexner-Jobling rat tumor (adeno-carcinoma).

No.		Diameter of tumor in cm.								
		May 14	May 20	May 27	June 14	June 17				
I	May 3 inoculated with Flexner-Jobling carcinoma	0	0	0,2	1,2	2,0	Killed June 18 and tumor emulsified in 40 c. c. salt solution			
II	Flexner-Jobling carcinoma	0,2	0,7	1,3	2,0 ¹⁾	3,7 ¹⁾	June 18 all given an intra-peritoneal injection of 1,0 c. c. tumor emulsion	June 19 animals well, injection repeated	June 20 all seem well	June 21 body of No. V half-eaten, others seem well
III		0,3	0,8	1,3	2,4 ¹⁾	3,0 ¹⁾				
IV		0,2	0,6	1,4	2,8 ¹⁾	3,5 ¹⁾				
V		0,2	0,4	1,0	2,0	2,5 ¹⁾				
VI		0,2	0,5	1,0	1,5 ¹⁾	2,7 ¹⁾				
VII		0,3	1,2	2,0	3,0 ¹⁾	4,0 ¹⁾				
VIII										
IX	normal animals									
X										
XI										

the exception of lens albumin, only proteids foreign to the body have been shown to lead to the anaphylactic state. Should this reaction be adducible from other proteids of the same nature as those of the body, its significance would be considerably enhanced. But against the occurrence of such a phenomenon in rats and mice stands the fact that it has not yet been found possible to produce in any way in these animals the anaphylactic state. It would not be profitable, at the present time, especially as the interpretation of the experiments of Yamanouchi is subject to considerable doubt, to discuss the question from the point of view of the bearing of the experiments on the theory of the parasitic origin of tumors.

Zusammenfassung.

- 1) Tumormäuse reagieren nicht spezifisch auf die Injektion von Kochsalzemulsionen einer analogen Geschwulst.
- 2) Das Resultat dieser Versuche spricht nicht dafür, daß bei Tumormäusen eine Ueberempfindlichkeit gegen Produkte von Zellen gleichartiger Tumoren besteht.

1) Ulcerated.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Ueber Ambozeptorwirkung in Salzlösung verschiedener Konzentration.

Von Dr. Carl Angerer (München).

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Oktober 1909.)

H. Buchner und Orthenberger¹⁾ haben zuerst die Bedeutung der Salze für die Bakteriolyse und Hämolyse erkannt.

Die von diesen Autoren festgestellte Verhinderung der Lyse bei Anwesenheit von Salzen ist erst in jüngster Zeit wieder Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen und durch die Arbeiten von Ferrata²⁾, Brand³⁾, Sachs und Teruuchi⁴⁾, Tsuzuki⁵⁾ sowie Hecker⁶⁾ weiter geklärt worden. Die Hemmung der Reaktion beruht auf einer Spaltung des Komplementes in salzfreien Medien in 2 Komponenten, deren eine, das „Mittelstück“ (Brandt), bei der Dialyse in das bei Verlust des Salzes ausfallende Globulin übergeht.

In jüngster Zeit hat besonders von Eisler⁷⁾ den Einfluß von Kristalloiden auf die Komplementwirkung von in salzfreien Medien (Rohrzuckerlösung) suspendierten Erythrocyten studiert. In Analogie mit den Untersuchungen von Pauli und Handowski, die die Herabsetzung der Reibung und damit die Begünstigung der Diffusion in Eiweißlösung konstatiert haben, fand v. Eisler, daß die Elektrolyten auch

- 1) Arch. f. Hyg., Bd. 10, 1890.
- 2) Berl. klin. Wochenschr., 1907.
- 3) Berl. klin. Wochenschr., 1907.
- 4) Berl. klin. Wochenschr., 1907.
- 5) Biochem. Zeitschr., Bd. 10.
- 6) Arb. a. d. Inst. f. exper. Therapie in Frankfurt, 1907.
- 7) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.

den Durchtritt des Komplementes durch die Blutkörperchenmembran und damit die Hämolyse im Vergleich zu salzarmen bzw. salzfreien Lösungen begünstigen.

Die beschleunigende Wirkung der Elektrolyten hat eine bei den einzelnen Salzen verschiedene optimale Konzentration, nach deren Ueberschreitung sich vielmehr ein hemmender Einfluß bemerkbar macht.

Diese antilytische Wirkung stärkerer Salzkonzentrationen, die seit längerer Zeit bekannt ist, beruht, wie die Untersuchungen von Nolf¹⁾, Markl²⁾, Ehrlich und Sachs³⁾, Hektoen und Rüdiger⁴⁾, Manwaring⁵⁾ u. a. zeigten, auf einer Verhinderung der Komplementverankerung in konzentrierten Salzlösungen. Nach Hektoen und Rüdiger sowie Noguchi wirken besonders die Calcium- und Baryumsalze antilytisch.

Eine Zerstörung des Komplementes in den hypertonischen Salzlösungen findet nicht statt. Durch entsprechende Verdünnung mit Wasser (Sachs) oder durch Ausfällung der hemmenden Salze [Noguchi⁶⁾, Gengou⁷⁾, v. Dungern und Coca⁸⁾] läßt sich die Komplementwirkung wieder herstellen; ja Friedberger⁹⁾ hat gezeigt, daß vielen Salzen, wie Kochsalz, Kaliumsulfat usw. in höherer Konzentration ein komplementkonservierender Einfluß zukommt, während wieder andere Salze, wie Magnesiumsulfat, Calciumchlorid, Baryumchlorid usw. in hypertonischer Lösung das Komplement zerstören.

Im Gegensatz zu dem Komplement wird nun der Ambozeptor in konzentrierten Salzlösungen in einer für die Hämolyse ausreichenden Weise gebunden. Es erschien jedoch für das Verständnis der Ambozeptorwirkung von Interesse, einmal genau quantitativ festzustellen, ob nicht gleichwohl auch die

- 1) *Annal. Inst. Past.*, 1900.
- 2) *Zeitschr. f. Hyg.*, 1902.
- 3) *Berl. klin. Wochenschr.*, 1902.
- 4) *Journ. of Inf. Dis.*, Vol. 4, 1907.
- 5) *Journ. of Inf. Dis.*, 1909, 1.
- 6) *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 6, 1907.
- 7) *Münch. med. Wochenschr.*, 1907, No. 47.
- 8) *Berl. klin. Wochenschr.*, 1907.
- 9) *Centralbl. f. Bakt., Abt. I*, Bd. 46, 1908.

Ambozeptorbindung in hypertonischen Lösungen wenigstens eine Verzögerung oder Verminderung erfahren würde. Auf Anregung von Herrn Prof. Friedberger bin ich dieser Frage näher getreten.

Zur Entscheidung stand ein doppelter Weg offen. Man konnte einmal die von einer gleichen Blutkörperchenmenge in verschiedener Salzkonzentration gebundenen Anteil einer konstanten Ambozeptormenge bestimmen, oder andererseits unter analogen Bedingungen den nicht gebundenen Ambozeptorrest in der abzentrifugierten Flüssigkeit titrieren.

Das erste Verfahren war nicht durchführbar, denn auch, wenn man ganz allmählich die in stark hypertonischer Kochsalzlösung suspendiert gewesenen und zentrifugierten Blutkörperchen in isotonische Lösung brachte, fand ein beträchtlicher Hämoglobinaustritt statt. Deshalb wurde das zweite Verfahren eingeschlagen, dem keine technischen Schwierigkeiten entgegenstanden. Nur mußte man natürlich bei den hohen Kochsalzkonzentrationen stets einen solchen Ueberschuß von Ambozeptor nehmen, daß auch, nachdem die abgegossene Flüssigkeit durch entsprechende Verdünnung mit destilliertem Wasser auf die Isotonie gebracht worden war, noch genügend Ambozeptor vorhanden war, um eine Titration zu ermöglichen.

Die Versuche wurden im einzelnen in der Weise ange stellt, daß gewaschene Hammelerythrocyten in der entsprechenden Salzlösung zu einer 5-proz. Aufschwemmung suspendiert wurden und das Immunserum zugesetzt wurde. Nach Beladung bei 37° wurden die Röhrrchen zentrifugiert und die obenstehende Flüssigkeit auf ihren Restgehalt an Ambozeptor austitriert, wobei durch entsprechende Verdünnungen der Salzgehalt wieder zur physiologischen Konzentration gebracht wurde.

I. Versuch.

Auf je 2 ccm einer 5-proz. Hammelblutaufschwemmung in 0,85-, bzw. 8,5-, 17-, 25,5-proz. Kochsalzlösung wird je 0,2 ccm der Immunserumverdünnung zugesetzt; hierauf kommen die Röhrrchen $\frac{1}{2}$ Stunde in den Brutschrank. Danach wird zentrifugiert. Von der überstehenden Flüssigkeit werden je 1 ccm auf 1:40 verdünnt, und zwar jeweils mit solchen

Mengen von destilliertem Wasser oder Kochsalzlösung, daß die Konzentration der physiologischen Kochsalzlösung resultierte. Von dieser Flüssigkeit werden fallende Mengen mit je 1 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung gemischt, zu gleichem Volumen aufgefüllt und mit Meerschweinchenserum (0,1) komplettiert. Es ergab sich folgende Tabelle:

Menge des 40-fach verd. Abgusses	aus 0,85-proz. Konzentration	aus 8,5-proz. Konzentration	aus 17-proz. Konzentration	aus 25,5-proz. Konzentration
0,9	Hauch	komplett	komplett	komplett
0,8	etwas trüb	etwas trüb	"	"
0,7	trüb	trüb	trüb	Hauch
0,6	keine Lösung	keine Lösung	keine Lösung	trüb
0,5	" "	" "	" "	"
0,4	" "	" "	" "	keine Lösung
0,3	" "	" "	" "	" "
0,2	" "	" "	" "	" "
0,1	" "	" "	" "	" "

Aus diesem Versuch geht hervor, daß, im Gegensatz zum Komplement, dessen Bindung schon in 2-proz. Kochsalzlösung fast völlig aufgehoben ist, der Ambozeptor auch in hochkonzentrierten Salzlösungen nur um wenig schlechter gebunden wird als in isotonischer Lösung.

Es schien erwünscht, die Versuchsbedingungen noch dahin zu variieren, daß der Ambozeptor auch bei geringerer als physiologischer Konzentration gebunden werden konnte. Zu diesem Zweck wurde eine Schattenaufschwemmung in destilliertem Wasser, bezw. in physiologischer, bezw. in 10-fach physiologischer Konzentration bereitet und der Versuch wie oben durchgeführt.

II. Versuch.

Menge des 40-fach verdünnten Abgusses	aus destilliertem Wasser	aus physiolog. Konzentration	aus 10-fach phys. Konzentration
0,9	Hauch	komplett	komplett
0,4	etwas trüb	"	"
0,7	" "	Hauch	Hauch
0,6	trüb	"	"
0,5	kleine Kuppe	etwas trüb	trüb
0,4	"	"	"
0,3	keine Lösung	trüb "	keine Lösung
0,2	" "	keine Lösung	" "
0,1	" "	" "	" "

Die Unterschiede sind hier wiederum sehr geringfügig, und jedenfalls haben die wechselnden Konzentrationen der Salzlösungen nicht entfernt den Einfluß auf die Bindung des Ambozeptors wie des Komplements. Das zeigt auch der folgende Versuch.

III. Versuch.

Dieser Versuch, bei dem Kochsalz in der Konzentration 0,85, 10-fach und 30-fach physiologisch verwendet wurde, ergab folgendes Resultat:

Menge des 40-fach verdünnten Abgusses	aus physiolog. Konzentration	aus 10-fach phys. Konzentration	aus 30-fach phys. Konzentration
0,9	komplett	komplett	komplett
0,8	"	"	"
0,7	"	"	"
0,6	"	trüb	trüb
0,5	"	stark trüb	stark trüb
0,4	trüb	keine Lösung	keine Lösung
0,3	trüb	" "	" "
0,2	sehr trüb	" "	" "
0,1	Kuppe	" "	" "

IV. Versuch.

Nach diesem Versuch wurde ein weiterer angestellt, in dem Magnesiumsulfat in physiologischer, 2- und 3mal physiologischer Konzentration bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung zur Verwendung kam.

Menge des 40-fach verdünnten Abgusses	aus physiolog. Konzentration	aus 2-fach phys. Konzentration	aus 3-fach phys. Konzentration
0,9	Hauch	komplett	komplett
0,8	"	Hauch	"
0,7	"	"	komplett
0,6	trüb	"	Hauch
0,5	"	"	"
0,4	"	trüb	trüb
0,3	"	trüb	trüb
0,2	trüb	"	trüb
0,1	"	"	"

Auch hier besteht nur ein sehr geringer Unterschied.

V. Versuch.

Bei essigsaurem Kalium fand sich unter gleichen Bedingungen folgendes Resultat:

Mengen des 40-fach verdünnten Abgusses	aus physiolog. Konzentration	aus 10-fach phys. Konzentration	aus 20-fach phys. Konzentration
0,9	komplett	komplett	komplett
0,8	"	"	"
0,7	"	"	"
0,6	"	"	"
0,5	"	"	"
0,4	"	"	"
0,3	trüb	trüb	trüb
0,2	trüb	trüb	trüb
0,1	Spur	Spur	Spur

VI. Versuch.

Nach all diesen Versuchen lagen die Differenzen noch im wesentlichen innerhalb der Fehlergrenze; daher wurde gesucht, durch eine andere Versuchsanordnung die Unterschiede größer zu machen. Dies schien möglich durch Verwendung von Kolloiden bei der Aufschwemmung der Blutkörperchen, wie das auch aus den Untersuchungen v. Eislers über den Einfluß von Salzen auf lytische Gifte hervorgeht. Es wurden deshalb gewaschene Hammelblutkörperchen in normalem Hammelserum aufgeschwemmt und zum Teil soviel Kochsalzlösung zugesetzt, daß die Konzentration 10- bzw. 30-fach physiologisch war; ein drittes Röhrchen blieb als Kontrolle ohne Salzzusatz.

Menge des 40-fach verdünnten Abgusses	aus physiolog. Konzentration	aus 10-fach phys. Konzentration	aus 30-fach phys. Konzentration
0,9	komplett	komplett	komplett
0,8	"	"	"
0,7	"	"	"
0,6	"	"	"
0,5	"	"	"
0,4	trüb	"	"
0,3	trüb	trüb	trüb
0,2	Spur	trüb	trüb
0,1	keine Lösung	Spur	Spur

Das Resultat entspricht ganz den obigen Befunden.

Zusammenfassung.

Eine Bindung des Ambozeptors erfolgt nicht nur im Gegensatz zu der des Komplements in hypertonischen Salzlösungen, sondern sie ist auch quantitativ innerhalb weiter Grenzen fast unabhängig vom Salzgehalt.

Nachdruck verboten.

**Bemerkungen zu der Arbeit von Th. Holobut:
Zur Frage der Bakterleanaphylaxie.**

Von Prof. Dr. **Oskar Bail** und Dozent Dr. **Edmund Weil**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. November 1909.)

Die ziemlich ohne Beispiel dastehende Vorgeschichte der folgenden Zeilen möge kurz angeführt sein. Im Jahre 1908 veröffentlichten Kraus und Doerr Versuche, nach denen es ihnen gelang, mit Bakteriensubstanz echte Anaphylaxie bei verschiedenen Tieren zu erzeugen. Soweit Versuche an Meerschweinchen in Betracht kommen, geht aus dem Text der Arbeit, wie aus den Versuchsprotokollen unzweideutig hervor, daß eine einmalige Vorbehandlung mit Bakterien oder Extrakten aus solchen nach ca. 3 Wochen aktive Ueberempfindlichkeit hervorrief. Für uns waren diese Versuche von hohem Interesse, weil wir damals ein Zwischentreten von anaphylaktischen Zuständen bei gewissen Meerschweincheninfektionen vermuteten, und deshalb unternahm es Braun, die Versuche von Kraus und Doerr ganz in der von den Autoren angegebenen Weise (einmalige subkutane Vorbehandlung mit Bakterien oder Extrakten, Reinjektion mit großen Mengen von Extrakt in die Vena jugularis nach 3 Wochen) zu wiederholen; die einzige Abweichung bestand in der langsam ausgeführten intravenösen Injektion. Das Resultat der Versuche Brauns war ein ganz negatives, indem zwar regelmäßig die Versuchstiere wie die Kontrolltiere an Vergiftung eingingen, aber niemals irgend Symptome eines anaphylaktischen Zustandes zeigten.

Damit war sowohl für Kollegen Braun wie für uns selbst die Sache abgetan, und da es nicht in unserer Publikationsweise liegt, Versuche in extenso zu veröffentlichen, welche über das, was ein Autor vorher gemacht hat, nicht hinausgehen, mögen sie nun im gleichen oder entgegengesetzten Sinne ausfallen, so wurden die Versuche Brauns nicht gedruckt. Nur gelegentlich an anderer passender Stelle hat

Bail sie in einer Randbemerkung in wenigen Zeilen erwähnt, und Weil hat sie in einer Diskussion kurz angeführt.

Da ist es nun von Interesse, bei Holobut zu lesen, daß gegen die Tatsache der Möglichkeit einer Anaphylaxieerzeugung „sich in einer kurzen Notiz Weil und Braun“ wendeten, und „daß es sich offenbar um Fehler in der Versuchsanordnung der letztgenannten Autoren handeln dürfte“.

Zunächst sei der formalen Richtigkeit halber festgestellt, daß Braun überhaupt seine Versuche nicht veröffentlicht hat, daß eine kurze Notiz von vornherein in Druck weder von Weil noch Braun, sondern von Bail gegeben wurde, und daß Weil nur in einer Diskussion diese Versuche besprach; der Bericht über die Diskussion wurde dann gedruckt. Aus diesem Grunde müssen auch wir die folgende Richtigstellung unternehmen. Es ist höchst bequem, einem anderen, der gewisse Versuche nicht bestätigen kann, Versuchsfehler in der Technik vorzuwerfen, ein sehr beliebter Einwand, mit dem freilich jüngere Experimentatoren bei Erstlingsarbeiten sparsam umgehen sollten, und den sie jedenfalls begründen müßten. Für diese Begründung steht aber kein anderes Material zu Gebote als die Diskussionsbemerkung Weils, daß die Technik der Versuche bis auf den einen erwähnten Punkt genau die gleiche war wie bei Kraus und Doerr, d. h. einmalige subkutane Vorbehandlung mit Bakterien oder Bakterienextrakten und intravenöse Reinjektion letzterer nach 3 Wochen in größeren Mengen. Tatsächlich wurde auch keine andere Technik versucht als diese, bei der die erstgenannten Autoren in der Wien. klin. Wochenschr., 1908, No. 28 nicht nur über Erreichung von Anaphylaxie berichten, sondern auch deren Spezifität ermittelten.

Und nun lese man bei Holobut: „Injiziert man Meer-schweinchen mit einer größeren oder geringeren Menge Bakterienaufschwemmung ein oder wenige Male, so gelingt es entweder gar nicht oder sehr selten, dieselben anaphylaktisch zu machen“ (unter Anführung von Versuchstabellen).

Wer wird da eigentlich nicht bestätigt, und wer hat technische Fehler gemacht: Kraus und Doerr, die bei einmaliger Vorbehandlung positive Resultate erhielten und darüber ausführlich mit Versuchsprotokollen berichten, oder

Braun, der seine negativen Versuche nicht veröffentlichte, wo Weil in seiner Diskussionsbemerkung¹⁾ nicht die Versuche bezweifelte, also auch nicht die Möglichkeit einer Bakterianaphylaxie, sondern nur ihre Allgemeingültigkeit, indem er auf die mögliche Besonderheit der Stämme, die Kraus und Doerr benutzten, hinwies? Entweder haben Kraus und Doerr, die einmal vorbehandelten, Recht, oder Braun, der nie, oder Holobut, der gar nicht oder sehr selten reussierte.

Die neue Technik besteht in der oft wiederholten Vorbehandlung von Meerschweinchen mit kleinen Bakterienmengen, ein Verfahren, das Kraus und Doerr bei den Versuchen, ein Serum zu gewinnen, welches die Anaphylaxie überträgt, bereits anwendeten. Man darf sich wohl fragen, ob die Symptome, die dann nach Reinjektion einer so giftigen Substanz, wie es Bakterienextrakte sind, auftreten, noch in das Gebiet der Anaphylaxie gehören, für welches vorläufig als Paradigma doch nur die Serumanaphylaxie gelten kann. Auch ist zu bedenken, daß eine derartige Vorbehandlung nach Wochen ein wirksames bakteriolytisches etc. Immunserum erzeugen muß, bezw. einen derartigen Zustand aktiv hervorruft. Seit Pfeiffer wissen wir aber, daß unter Umständen passiv und aktiv immune Tiere auf Cholerainjektion schwerer reagieren können als normale, und wie sich das mit Extrakten verhält, bleibt noch zu studieren. Bis auf weiteres liegt ein zwingender Grund, die von Holobut studierten Erscheinungen in das Gebiet der Anaphylaxie zu verweisen, nicht vor.

1) Wieso in den Abdruck dieser Diskussionsbemerkungen im Bericht über die 3. Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie (p. 77) ein Zusatz „s. Holobut (erscheint in der Zeitschr. f. Immunitätsforschung)“ hineinkommt, gehört zu den Merkwürdigkeiten.

Ueber Bakterienanaphylaxie.

Von Dr. Th. Holobut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Dezember 1909.)

Unter dem vorangehenden Titel habe ich in dieser Zeitschrift mitgeteilt, daß Meerschweinchen sich mit Antigen bakteriellen Ursprungs ebenso sensibilisieren lassen wie mit tierischen. Diese Versuche bestätigen hiermit die von Kraus und Doerr mitgeteilten Tatsachen. Nach den Versuchen von Kraus und Doerr besteht kein Zweifel darüber, daß alle Phänomene, welche bei den mit Serum sensibilisierten Meerschweinchen gefunden wurden, auch bei der Bakterienanaphylaxie nachgewiesen werden können. Bail und Weil wollen diese Art der Anaphylaxie aber nicht anerkennen, glauben, daß hierzu „kein zwingender Grund“ vorliegt. Der Hinweis dieser Autoren, daß immune Tiere auf eine neuerliche Injektion mit Kultur schwer reagieren können, kann doch unmöglich der zwingende Grund sein, die Uebereinstimmung der von Rosenau und Anderson, Kraus und Doerr beschriebenen Bakterienanaphylaxie mit der Serumanaphylaxie leugnen zu wollen. Es werden wohl zwingendere Gründe als bloß die von Bail und Weil ausgesprochene Vermutung eines Zusammenhanges zwischen Choleraimmunität und den schweren Erscheinungen bei Extraktinjektion beigebracht werden müssen, um für die Bakterienanaphylaxie eine andere Erklärung zu finden als sie Kraus und Doerr gegeben haben.

Jeder, der auf dem Gebiet der Anaphylaxie Erfahrung gewonnen hat, muß zugestehen, daß die Charakterisierung der Bakterienanaphylaxie in der Arbeit von Kraus und Doerr und in meiner Mitteilung erschöpfend behandelt ist. Es lag auch kein zwingender Grund vor, gegen die von mir gemachte Bemerkung, daß Brauns negative Resultate offenbar durch Fehler in der Versuchsanordnung erklärt werden dürften, zu polemisieren. Braun, Schüler Bails, ist bei der Nachprüfung der Arbeit von Kraus und Doerr zu negativen Resultaten gelangt. Wenn auch Braun selbst darüber nichts mitgeteilt hat, war die Mitteilung darüber von Bail in den *Folia Serologica* und eine solche von Weil auf der Mikrobiologentagung Veranlassung¹⁾,

1) Der Zusatz „s. Holobut“ bei der Diskussionsbemerkung Weils (Bericht über die 3. Tagung der Fr. Vereinigung für Mikrob.) ist irrtümlich

die Ursache der Differenz aufzuklären. Kraus hat bereits am Mikrobiologentag auf die Bemerkung von Weil hin mitgeteilt, daß die Technik der Sensibilisierung die negativen Resultate Brauns erklären dürfte. Tatsächlich konnte ich, wie aus meiner Arbeit hervorgeht, die von Kraus bereits gegebene Erklärung bestätigen. Kraus und Doerr ist es, wie aus ihren Protokollen hervorgeht, zweifellos gelungen, so wie bei der Serumaphylaxie schon nach einmaliger Sensibilisierung bei der Reinjektion typische anaphylaktische Erscheinung auszulösen. Die zum Teil negativen Resultate, die ich bei einmaliger Sensibilisierung erhielt, haben uns veranlaßt, die Methodik der Sensibilisierung des Näheren zu studieren. Ganz gleiches finden wir in der Literatur bei der Serumanaphylaxie der Kaninchen. Einige Autoren beschreiben die aktive Serumanaphylaxie der Kaninchen als etwas Typisches, andere, wie z. B. Neufeld, konnten mit Pferde- und Menschenserum keine Anaphylaxie erzeugen. Wie die jüngsten Arbeiten Friedemanns, Friedbergers lehren, wird es wohl hier sowie bei der Bakterianaphylaxie an der Art der Sensibilisierung gelegen sein. Es ist daher berechtigt, von Fehlern in der Versuchsanordnung Brauns zu sprechen, wenn auch die von Kraus und Doerr angegebene Technik zum Teil eingehalten wurde. Wie unsere weiteren Versuche lehren, konnten wir mit der ebenfalls von Kraus und Doerr gleichzeitig mitgeteilten wiederholten Sensibilisierung konstante Resultate gewinnen. Hätte Braun statt der einmaligen Injektion, die zu negativen Resultaten geführt hat, die öftere Sensibilisierung, wie es auch Kraus und Doerr angegeben hatten, noch versucht, wäre er, ebenso wie ich, zu positiven Ergebnissen gekommen. Ich bin bei der Nachprüfung der Arbeit von Kraus und Doerr zur Bestätigung der Bakterianaphylaxie gelangt, habe allerdings beide von den Autoren angegebenen Methoden der Sensibilisierung verwertet und die wiederholte Sensibilisierung der einmaligen als überlegen gefunden. Hiermit war gezeigt, daß Fehler in der Versuchsanordnung Brauns die negativen Resultate begründen.

geschehen. Kraus hat anschließend an Weils Bemerkung die Art der Immunisierung als wichtig hervorgehoben und auf die demnächst erscheinende Arbeit Holobuts hingewiesen. Es bezieht sich „s. Holobut“ auf diese Diskussionsbemerkung, die im Bericht ausgelassen wurde.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zum Artikel von J. Novotný: „Ist die Temperatursteigerung als Kriterium bei der passiven Uebertragung der Tuberkuloseüberempfindlichkeit anzusehen?“

Von Privatdoz. Dr. **Hermann Pfeiffer.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. November 1909.)

Der Herr Verfasser zitiert in seiner Arbeit auch meine vorläufigen Mitteilungen über den anaphylaktischen Temperatursturz, deren Wiedergabe in extenso in dieser Zeitschrift sich derzeit im Druck befindet und demnächst erscheinen wird. Er sagt (p. 600): „H. Pfeiffer meint, daß der Temperatursturz ein charakteristisches und diagnostisch wertvolles Zeichen der Anaphylaxiereaktion bildet. Ranzis Untersuchungen zeigen, daß peritoneale Injektion von normalen Seren einen Temperaturabfall um einen oder mehrere Grade bedingen¹⁾.“ Dies erweckt den Anschein, als sei ich erst durch Ranzis wenige, meine wiederholt angegebene Versuchstechnik außer acht lassenden Versuche an aktiv anaphylaktischen Tieren von der Tatsache belehrt worden, daß normale aktive Seren in genügender Menge unvorbehandelten Tieren eingebracht eine (übrigens unspezifische) Temperaturabnahme erzeugen. Daß dies keineswegs der Fall ist, sondern daß ich vielmehr schon im März dieses Jahres auf die erwähnte Tatsache und die Möglichkeit hingewiesen habe, es könnten sich bei einer unkritischen Versuchsanordnung daraus Fehlerquellen für die so feine und bei Einhaltung einer entsprechenden Technik exakte Reaktion des anaphylaktischen Temperatursturzes einem Ungeübten ergeben, geht aus den folgenden beiden Berichten hervor, von denen ich den ersten im März der k. Akademie der Wissenschaften vorgelegt habe, den zweiten im August dieses Jahres, also mehr als 2 Monate vor dem

1) Die Worte „meint“ und „zeigen“ sind im Original nicht gesperrt gedruckt.

Erscheinen von Ranzi's Angaben, der Redaktion der Wiener klinischen Wochenschrift zugehen ließ. Die erste, von Novotný zitierte Arbeit ist: „Ueber den anaphylaktischen Temperatursturz und seine praktische Bedeutung“, Sitzungsbericht der k. Akad. der Wissensch. in Wien, mathem.-naturwissenschaftl. Klasse, Bd. 118, Abt. III, März 1909. Ich sage dort auf p. 3 des Separatabdruckes: „Anmerkung: Die intraperitoneale Einbringung gewisser stark toxisch wirkender aktiver Seren (z. B. Rinderserum) . . . vermag auch bei einer erstmaligen Injektion die Temperatur stark herabzusetzen . . . usw.“, und führe weiter aus, wie durch eine entsprechende Inaktivierung diese Fehlerquelle vermieden werden kann. Die zweite Arbeit, die Herrn J. Novotný entgangen zu sein scheint, „Versuchstechnische Bemerkungen zum Nachweis des anaphylaktischen Temperatursturzes“, Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 36, wurde der Redaktion am 5. August l. J. eingesendet. Auch dort wird auf p. 3 des Separatabdruckes das Phänomen derartiger, durch artfremde Seren bei unvorbehandelten Tieren erzeugbarer, wie ich wiederholen muß, unspezifischer Temperaturabnahmen Erwähnung getan, und neuerlich die Art und Weise, sie zu vermeiden, ausführlich besprochen. Ich bin also über diese Tatsache, wie es nach J. Novotný's Bemerkung den Anschein haben konnte, nicht erst durch E. Ranzi belehrt worden, sondern habe auf sie schon aufmerksam gemacht und die Möglichkeit, sie zu vermeiden, dargetan zu einer Zeit, da die ganz ungenügende Nachprüfung des genannten Autors experimentell noch nicht einmal begonnen war. Inwieweit seine Einwände zu Recht bestehen, wird meine demnächst im Verein mit S. Mita erscheinende Arbeit im Detail erweisen.

Erwiderung.

Von Dr. J. Novotný.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Dezember 1909.)

Zu den obigen Bemerkungen H. Pfeiffers hätte ich kurz folgendes zu bemerken:

Tatsache ist, daß Pfeiffer in seiner ersten Mitteilung (Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 1) über Versuche mit normalen Seris, Rinder-, Schweine- und Menschenserum, berichtet, welche in Mengen von 5 ccm bei gesunden Tieren keinerlei Temperaturabfall erzeugten, wohl aber bei Reinjektion homologen Serums (5 ccm) bei sensibilisierten. Diese Versuche, namentlich aber die in No. 28 der Wiener klin. Wochenschr. erschienene Arbeit von Pfeiffer und Finsterer „Ueber den Nachweis des anaphylaktischen Reaktionskörpers im Serum Carcinomatöser“ gaben Veranlassung, die Wirkung normaler Sera zu studieren.

Ranzi, der ja vor Pfeiffer bereits den Nachweis des anaphylaktischen Reaktionskörpers zu finden bemüht war, allerdings ohne Erfolg, konnte feststellen, daß schon normale Sera Temperaturstürze bis $4,4^{\circ}$ (Schweineserum) herbeiführen können.

Die Arbeiten Pfeiffers sind uns erst nach Abschluß der Untersuchungen zur Kenntnis gelangt¹⁾, und wir wollen Pfeiffer ohne weiteres zugestehen, daß auch er den früher unberücksichtigten Temperaturabfall durch normale Sera in diesen Arbeiten bereits auch beobachten konnte.

Druckfehlerberichtigung.

In der Arbeit von Kraus und Novotný (Immunitätsforschung, Bd. 3, Heft 7) muß es in den Versuchen III—VI auf p. 687/88 statt

0,1 0,1
Pferdeserum Kaninchenserum heißen.

1) Unsere Arbeit war bereits vor den Sommerferien abgeschlossen und die Arbeiten Pfeiffers sind uns erst nach den Ferien zugekommen. Die Arbeit Ranzis wurde im August, vor Erscheinen der Arbeit Pfeiffers (9. September), der Wiener klin. Wochenschrift eingeschickt.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. IV. No. 3.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg; Direktor Wirkl. Geh.-Rat Prof. Dr. V. Czerny.]

Ueber lokale allergetische Reaktionen gegenüber artfremdem, artgleichem und individuumgleichem Hodengewebe nach spezifischer Vorbehandlung und bei trächtigen Tieren.

Von Prof. Dr. v. Dungern und Dr. Hirschfeld.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. November 1909.)

Die Versuche von v. Dungern und Coca haben gezeigt, daß die lokalen allergetischen Reaktionen für die Geschwulstimmunität bedeutungsvoll sind. Wir hielten es daher für angezeigt, weitere Untersuchungen über die Reaktion des subkutanen Bindegewebes nach der Einführung von zertrümmerten Organen und ihre Veränderung bei mehrmaligen Injektionen vorzunehmen. Es war vor allem zu entscheiden, ob auch gegenüber körpergleichem oder wenigstens artgleichem Gewebe eine allergetische Reaktion eintritt.

Wir benutzten aus technischen Gründen vor allem das Hodengewebe, und zwar entweder Stierhoden oder Kaninchenhoden. Die Hoden wurden aseptisch entnommen und bei -10° aufbewahrt. Zu jeder Injektion wurde ungefähr $\frac{1}{3}$ g in ganz fein zerriebenem Zustande verwandt. Die Injektion erfolgte immer in das Unterhautzellgewebe des Ohres. Wir unterschieden ganz geringe, geringe, mäßige, starke und sehr starke Reaktion. Eine geringe Reaktion dokumentierte sich als eine lediglich lokale Anschwellung der Injektionsstelle, während es bei einer starken Reaktion auch in entfernten Partien zu einem hochgradigen Oedem kam. In den ausgesprochensten Fällen machte das Ohr den Eindruck, als ob es stark erhitzt worden wäre, zur Gangrän kam es aber niemals. Die Reaktion begann nach etwa 1—2 Stunden, erreichte das Maximum nach 4—6 Stunden und war nach 24 Stunden meist verschwunden.

Es blieb dann höchstens eine lokale Verhärtung zurück; ein eigentlicher Abszeß entwickelte sich niemals.

Es stellte sich heraus, daß schwangere Kaninchen gleich die erste Injektion mit einem viel stärkeren Oedem beantworteten als die Männchen und nicht schwangeren Weibchen. Dieses Verhalten wurde sowohl im Anfange der Schwangerschaft wie auch am Ende beobachtet. Einige Kaninchen, die kurz nachdem sie geboren hatten, geprüft wurden, verhielten sich ebenso.

Es wurden im ganzen 125 Kaninchen untersucht, darunter 71 Männchen und 54 Weibchen. Stier- und Kaninchenhoden wirkten nicht wesentlich verschieden. Auch bei gleichzeitiger Prüfung war bei trächtigen Tieren kein Unterschied erkennbar. Dagegen wurde durch Ovarium-, Nebennieren- und Embryonengewebe von Kaninchen nur eine geringere oder gar keine Reaktion bei den auf Hodengewebe stark reagierenden trächtigen Tieren ausgelöst. Auch bei Versuchen mit Erhitzung des Ohres auf 50° 4 Minuten lang wurde kein entsprechender Unterschied zwischen trächtigen Weibchen und Männchen konstatiert, obgleich individuelle Unterschiede beobachtet wurden. Die allergetische Reaktion der schwangeren Kaninchen erwies sich also als nicht artspezifisch und war auffallenderweise hauptsächlich nur durch Hodengewebe zu veranlassen. Alkoholischer Extrakt und aus Stierhoden dargestelltes Lecithin waren unwirksam.

Bei Wiederholung der Injektionen zeigte sich dagegen ein Gegensatz zwischen Stier- und Kaninchenhoden. Die mit Stierhoden vorbehandelten Tiere reagierten fast ausnahmslos erheblich stärker auf die wiederholte Einführung. Bei den Injektionen wurde ein Intervall von 4—7 Tagen eingehalten. Dieses Intervall wurde gewählt, weil erst nach dieser Zeit eine verstärkte Reaktion einzutreten pflegt. Am Tage nach den Injektionen reagierten die Tiere meist ebenso wie vorher; dann erfolgte eine Abschwächung. Wie aus den Protokollen ersichtlich ist, wurden Schwankungen nach beiden Richtungen hin beobachtet.

Wie das in dem Protokoll IV wiedergegebene Beispiel zeigt, reagierten das erste Mal alle gleichzeitig geimpften 8 Männchen gering oder gar nicht, das zweite Mal und ebenso am folgenden

Tage gering oder mäßig, das nächste Mal stark. Die Prüfung der gleichen Tiere mit Kaninchenhoden, welche einen Tag nach der letzten Injektion erfolgte, ergab ein eigentümliches Resultat: 2 Tiere, die mit dem eigenen Hoden geimpft waren, reagierten gar nicht, 6 Tiere, denen fremder Kaninchenhoden eingeführt war, reagierten dagegen stärker, und zwar: 2 gering, 3 mäßig und 1 ziemlich stark.

Bei Verwendung von artgleichem Hodengewebe konnte nur in einzelnen Fällen eine Reaktionsverstärkung bei Wiederholung der Injektionen konstatiert werden.

Besonders fiel es auf, daß 8 Tiere, die mit Kaninchenhoden vorbehandelt waren (Protokoll V), nach Einführung von Kaninchenhodengewebe sogar geringer reagierten, als die mit Stierhoden vorbehandelten (Protokoll IV). Es trat nur eine ganz unwesentliche Steigerung des Oedems auf. Einzelne Kaninchen machten jedoch eine Ausnahme. Ein nicht schwangeres Weibchen, welches das erste Mal gar nicht reagierte, beantwortete die zweite Injektion schon nach 4 Tagen stark und nach weiteren 7 Tagen sehr stark (Protokoll III; Kaninchenweibchen 109). Ein Männchen mit geringem lokalem Oedem bei der ersten Einspritzung zeigte 5 Tage später ein starkes und nach weiteren 7 Tagen ein sehr starkes Oedem. Nachdem das Tier hochgradig allergetisch geworden war, entnahmen wir ihm nach weiteren 7 Tagen den einen Hoden und verwandten diesen zur Injektion, während das Hodengewebe eines fremden Kaninchens in das andere Ohr eingebracht wurde. Die Wirkung des körpergleichen Gewebes war auffallenderweise erheblich stärker. Die Untersuchung wurde dabei zweimal an zwei aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommen, so daß das eigene Hodengewebe, um lokale Empfindlichkeitsunterschiede auszuschließen, in beide Ohren eingeführt werden konnte (Protokoll III; Kaninchenmännchen 49). Ein drittes Tier (Männchen 258) reagierte schon 3 Tage nach der ersten unwirksamen Injektion von Kaninchenhoden stark. Diese drei überempfindlichen Tiere zeigten sich für das Stierhodengewebe ungefähr ebenso empfindlich. Artspezifität war also ebensowenig wie bei den schwangeren Tieren zu konstatieren.

Die Vorbehandlung mit dem eigenen Hoden hatte ungefähr denselben Effekt, meistens kam es zu einer ganz geringen Steigerung der Reaktion, bei den Kaninchen 185 und 174 wurde die Reaktion erheblicher, und zwar war es gleichgültig, ob man zur nachträglichen Prüfung das körpereigene oder körperfremdes, artgleiches Gewebe nahm. Die Untersuchung ergab also, daß die Allergie sich auch gegenüber artgleichem, ja sogar individuumgleichem Gewebe ausbilden kann. Sie ist jedoch nur ausnahmsweise stark ausgeprägt; die meisten Tiere zeigen diese Veränderung des Organismus nur in sehr schwachem Grade.

Die Beobachtung, daß es mit fremdem Hodengewebe leichter gelingt, die Kaninchen allergetisch zu machen als mit artgleichem, sowie die eigenartige Erscheinung, daß man die Verstärkung der Reaktion gegenüber artgleichem Gewebe sogar etwas leichter erzielen kann, wenn man fremdartiges benutzt, als durch das artgleiche selbst, legte den Gedanken nahe, die Allergie gegenüber körpergleichem und artgleichem Hodengewebe unter Zusatz fremdartiger Substanzen zu untersuchen. Wir benutzten vor allem Pferdeserum in der Menge von 0,5 ccm, welches für sich allein im allgemeinen nur eine geringe Reaktion hervorruft. Um die allergetische Reaktion gegen Pferdeserum bei wiederholter Injektion auszuschließen, wurde auch Rinder- und Ziegenserum benutzt. Auch diese Sera riefen bloß ausnahmsweise eine stärkere Entzündung hervor. Trotzdem untersuchten wir bei jedem einzelnen Tier am anderen Ohr, welche Wirkung das benutzte Serum allein auszuüben vermag.

Es zeigte sich, daß in der Tat eine allergetische Reaktion gegenüber Hodengewebe bei Kaninchen, die mit Kaninchenhoden vorbehandelt waren, viel stärker zum Ausdruck kommt, wenn ein artfremdes Serum hinzugefügt wird, während die Mischung bei normalen Tieren nur eine verhältnismäßig geringe Wirkung entfaltet. Diese starken Reaktionen zeigten sich auch dann, wenn die Kaninchen mit dem eigenen Hoden vorbehandelt worden waren und trotz wiederholter Injektionen nicht reagierten. Man muß also annehmen, daß durch die Einverleibung des körpergleichen Hodengewebes bei diesen Tieren eine Umstimmung des Organismus stattgefunden hat,

die aber nur dann zum Ausdruck kommt, wenn gleichzeitig fremdartige Substanzen einwirken (latente Allergie).

Aus all diesen Versuchen ist demnach zu ersehen, daß es in der Tat eine Allergie gegenüber art- und körpereigenem Gewebe gibt. Es ist jedoch zu betonen, daß diese ohne besondere Maßnahmen nur bei wenigen Tieren deutlich ist. Es war nun weiter zu erwägen, ob die starken Reaktionen, die wir schon bei der ersten Einspritzung vor allem bei trächtigen Tieren beobachteten, auf den gleichen Prozeß zurückzuführen sind. Man kann sich ja denken, daß durch Einführung von Sperma oder durch Resorption von embryonalem Gewebe auch unter physiologischen Bedingungen eine zur Allergie führende Veränderung des Organismus ausgelöst werden kann. Gegen die Auslösung vom Embryo aus spricht jedoch die bei Kaninchen 492 beobachtete Tatsache, daß nur Hodengewebe, nicht aber das embryonale eine starke Reaktion veranlaßte. Die Gewebsspezifität deutet andererseits darauf hin, daß hier doch ein spezifischer Vorgang als Ursache der Erscheinung anzunehmen ist. Merkwürdig ist nur, daß die trächtigen Kaninchen sich in so großer Anzahl stark allergetisch verhalten, während nach künstlicher Einführung von Hodengewebe verhältnismäßig wenige Tiere diese Veränderungen aufweisen. Es fiel auch auf, daß die Intensität der Reaktion bei trächtigen Tieren zeitlich und örtlich verschieden war. Es müssen demnach andere noch unbekannte Momente mitspielen. Wir glauben jedoch annehmen zu müssen, daß es sich um eine echte Ueberempfindlichkeit für die im Hoden vorkommenden Substanzen handelt. Dafür spricht auch die Toxizität des Blutes, die in gleicher Weise bei gewebsempfindlichen und schwangeren Kaninchen vorkommt. Wir werden über diese Beobachtung, die von D u n g e r n ¹⁾ bereits erwähnt hat, in der nächsten Mitteilung Genaueres mitteilen. Eine besondere physiologische Bedeutung schreiben wir dieser allergetischen Reaktion gegenüber Hodengewebe nicht zu. Die Konzeption wird durch sie nicht verhindert; wir haben mehrere Weibchen, die gegen Stier- und Kaninchenhoden

1) Verhandlungen des Naturhistorischen medizinischen Vereines in Heidelberg, Mai 1909. Mikrobiologenkongreß in Wien, Juni 1909.

K. 345	6. IV. K.H. +++± Embr. ++±			
„ 488	6. IV. K.H. ++± St.H. +++			
„ 436	6. IV. K.H. ++± Embr. ++			
„ 104	6. IV. K.H. ++ Ovar. +			
„ 105	6. IV. K.H. +++± Ovar. 0	17. IV. N.N. 0		
„ 106	8. IV. K.H. ++	14. IV. N.N. ±		
„ 107	8. IV. „ ++			
„ 81	8. IV. St.H. +++±			
„ 27	15. IV. K.H. ++ N.N. 0	20. IV. K.H. ±± St.H. 0		
„ 402	15. IV. K.H. + N.N. 0			
„ 17	15. IV. K.H. ±± N.N. 0	17. IV. N.N. ±	20. IV. K.H. ± St.H. ±	
„ 201	15. IV. K.H. ++ N.N. 0	17. IV. N.N. 0	20. IV. K.H. 0 St.H. ++±	
„ 410	2. VII. St.H. +	6. VII. St.H. ++++	10. VII. St.H. ++ 15. VII. „ +++	
„ 75	1. VII. „ ++± 9. VII. „ ++± 2. VIII. K.H. ++++	5. VII. „ ++ 13. VII. „ +++	28. VII. K.H. +	
„ 90	1. VII. St.H. ++± 13. VII. „ ++± 2. VIII. K.H. +++	5. VII. „ ++± 23. VII. K.H. +++	9. VII. St.H. +++ 28. VII. K.H. +++	
„ 91	1. VII. St.H. ++± 13. VII. „ ++ 2. VIII. K.H. +++	5. VII. St.H. +++ 23. VII. K.H. +++	9. VII. St.H. ++± 28. VII. K.H. +++	

Ergebnis: Unter 29 trächtigen Weibchen reagieren 18 (62 Proz.) stark.

Embryonales Gewebe wirkt in den Fällen 436 und 345 etwas schwächer, bei Kaninchen 492 ganz erheblich geringer als Hodengewebe. Zerriebenes Ovarium bleibt, wie Fall 105 zeigt, wirkungslos. Nebennierengewebe bedingt keine Reaktion, wie besonders die Fälle 177 und 115 ergeben. Stierhoden erweist sich in den Fällen 136, 100, 103, 207, 48, 177, 448, 488 als mindestens ebenso wirksam wie Kaninchenhoden. Kaninchen 47 bildet eine Ausnahme. Hier handelt es sich aber um ein Tier, das zunächst nicht reagierte; erst bei der zweiten Injektion zeigt sich eine artspezifische Allergie.

II. Trächtige Weibchen eines anderen Institutes.

K. tr. 1	17. IV. K.H. ++ St.H. +	20. IV. St.H. 0 K.H. ++	23. IV. K.H. ++± St.H. ++±
„ „ 2	17. IV. K.H. + St.H. +	23. IV. K.H. ++ St.H. ±±	

K. tr. 3	17. VI. K.H. + St.H. +	20. IV. K.H. +± St.H. -+±	23. IV. K.H. ++± St.H. +++
„ „ 4	17. IV. K.H. + St.H. +	20. IV. K.H. +++ St.H. ++	23. IV. K.H. +++ St.H. ++
„ „ 5	17. IV. K.H. + St.H. +	23. IV. K.H. ++ St.H. +	
K. geworfen vor 16 Tagen	17. IV. K.H. ± St.H. ±		
K. geworfen vor 14 Tagen	17. IV. K.H. + St.H. +		
K. geworfen vor 5 Woch.	17. IV. K.H. + St.H. +		
K. geworfen vor 10 Tagen	17. IV. K.H. + St.H. +		

Ergebnis: Die 5 trächtigen Kaninchen reagieren alle auffallenderweise sehr schwach. Bei Wiederholung der Injektion kommt es jedoch zu einer deutlichen Steigung der lokalen Reaktion. 4 Kaninchen, die einige Zeit, nachdem sie geboren haben, untersucht wurden, reagieren auch nicht stark.

III. Männchen und nicht trächtige Weibchen.

K.W. 108	I. IV. K.H. + 17. IV. N.N. 0	6. IV. K.H. +± St.H. +±	15. IV. K.H. 0
„ 109	2. IV. K.H. 0 17. IV. N.N. +	30. IV. K.H. ++ 6. IV. K.H. +++ St.H. +++±	15. IV. K.H. ++++
K.M. 258	2. IV. K.H. 0	22. IV. K.H. ++++ MäuseH. ++++	30. IV. K.H. ±
„ 487	2. IV. K.H. 0	5. IV. K.H. +++ St.H. ++++	8. IV. K.H. ++ N.N. +
K.W. 58	2. IV. K.H. +	5. IV. K.H. ++	
„ 6	2. IV. K.H. ±	St.H. 0	
K.M. 49	2. IV. K.H. ± 21. IV. operiert, eigen. H. +++ fremd. H. +++	7. IV. K.H. +++ 22. IV. operiert, fremd. H. ++± eigen. H. ++++	15. IV. K.H. ++++ 1. V. eig. H. +++± St.H. ++
„ 24	2. IV. K.H. +++	8. IV. K.H. ++±	
„ 45	2. IV. K.H. ±	7. IV. K.H. +±	15. IV. K.H. +
„ 121	2. IV. K.H. ±	7. IV. K.H. ++	15. IV. ++
„ 402	3. IV. K.H. ± Embr. ±	17. IV. N.N. 0	
„ 147	5. IV. K.H. 0 St.H. 0	15. IV. K.H. ±	
K.W. 442	5. IV. K.H. + St.H. +	15. IV. „ ++	
K.M. 449	5. IV. K.H. ± St.H. ±	7. IV. „ ±	15. IV. K.H. ++
„ 428	6. IV. K.H. ± St.H. ±	15. IV. „ ±	
„ 458	6. IV. K.H. 0 St.H. +	15. IV. „ +	

K.M. 434	6. IV. K.H. + Embr. 0	15. IV. „ +	
„ 415	6. IV. K.H. + St.H. +	15. IV. „ +	
„ alb.	6. IV. K.H. + Embr. ±	17. IV. „ +	15. IV. K.H. +
„ 110	6. IV. K.H. ± St.H. ±	15. IV. „ ++	
„ 73	8. IV. K.H. + N.N. 0	15. IV. „ +	
„ 159	15. IV. K.H. ± N.N. 0	17. IV. N.N. 0	
„ 444	15. IV. K.H. + N.N. 0	17. IV. N.N. 0	
„ 443	15. IV. K.H. 0 N.N. 0	17. IV. N.N. 0	
„ 445	15. IV. K.H. +±	17. IV. N.N. 0	
K.W. 426 (vor 2 Wochen Junge ge- worfen)	15. IV. K.H. +±		
K.W. 422 (vor 16 Tagen ge- worfen)	15. IV. K.H. ++± N.N. 0	17. IV. N.N. ±	
K.W. 111 „ 27	15. IV. K.H. + 17. IV. N.N. ±	17. IV. N.N. +	
K.M. VIII	17. IV. K.H. 0	23. IV. K.H. ++ St.H. ++	
„ 13	17. IV. „ +++		
„ 14	17. IV. „ +		
„ 154	22. IV. „ +±		
„ 151	22. IV. „ ++		
„ 131	22. IV. St.H. 0 alk. Extr. +		
„ 437	1. V. Lec. 0 St.H. 0		
„ 433	1. V. Lec. + St.H. +		
„ 421	1. V. Lec. 0 St.H. +++		
„ 460	1. VII. St.H. ++± 13. VII. „ ++±	5. VII. St.H. +++ 28. VII. K.H. 0	9. VII. St.H. ++
K.W. 76	1. VII. „ +±	5. VII. St.H. ++	9. VII. „ 0
„ 77	1. VII. „ +± 28. VII. K.H. ++	5. VII. „ ++± 2. VIII. K.H. ++	13. VII. „ ++ 6. VIII. K.H. ++±
„ 78	1. VII. St.H. +± 28. VII. K.H. ++	5. VII. St.H. ++ 2. VIII. K.H. ++	13. VII. St.H. ++± 6. VIII. K.H. ++±
„ 278	2. VII. St.H. +± 16. VII. „ +++	6. VII. St.H. ++	10. VII. St.H. ++±
„ 300	2. VII. „ + 16. VII. „ ++±	6. VII. „ ++± 28. VII. K.H. +	10. VII. „ ++± 2. VIII. K.H. ++
„ 424	2. VII. „ +± 16. VII. „ +++	6. VII. St.H. +±	10. VII. St.H. ++
„ 486	2. VII. „ ± 16. VII. „ ++±	6. VII. „ ++	10. VII. „ +±

Ergebnis: Unter 30 Männchen reagieren 4 stark (24, 421, 13, 460), die einzigen, die wir überhaupt auch bei späteren Versuchen antrafen.

Von 14 nicht belegten Weibchen reagiert keines stark. Von 2 Weibchen, die 2 Wochen vorher geboren hatten, reagiert 1 stark.

Die Verstärkung der Reaktion nach wiederholten Injektionen ist, soweit sie vorhanden ist, schon im Text beschrieben.

IV. 8 einheitlich mit Stierhoden behandelte Männchen.

	16. IV.	21. IV.	22. IV.	29. IV.	30. IV.	4. V.
489	St.H. +	St.H. +±	St.H. ++	St.H. +++ Alk.-Extr. 0	eigener Hoden 0	St.H. +++
190	St.H. +	St.H. ++±	St.H. ++	St.H. +++ Alk.-Extr. 0	eigener Hoden 0	
115	St.H. +	St.H. +	St.H. ++	St.H. +++	K.H. ++±	
411	St.H. +	St.H. +	St.H. ++	St.H. +++ Alk.-Extr. 0	K.H. ++	St.H. +++ Lec. 0
202	St.H. +	St.H. +±	St.H. +	St.H. +++	K.H. ±	
122	St.H. 0	St.H. ++	St.H. ++	St.H. ++++	K.H. +±	St.H. +++
467	St.H. 0	St.H. +±	St.H. +	St.H. +++±	K.H. ++	St.H. +++
127	St.H. 0	St.H. +±	St.H. ++	St.H. +++	K.H. ++	

Ergebnis: Bei der ersten Injektion tritt keine oder geringe Reaktion auf. Die zweite Reaktion ist schon deutlich verstärkt. Am folgenden Tag ist noch die gleiche Reaktionsfähigkeit vorhanden. Die weitere Injektion 7 Tage später zeigt eine sehr ausgeprägte Allergie für Stierhodengewebe, welche sich in geringerem Grade auch auf Kaninchenhoden erstreckt; körpereigenes Hodengewebe wirkte in diesem Falle nicht.

V. 9 einheitlich mit Kaninchenhoden behandelte Männchen.

	16. IV.	21. IV.	22. IV.	29. IV.	30. IV.
97	±	+±	+±	0	+
304	0	+±	+±	0	+
383	0	++	+	0	+
431	0	+±	+±	0	+
150	+	+	+	0	±
138	+	+			
298	0	±	0	0	
131	0	+	+±	+	
281	0	0	+±		

Ergebnis: Bei der ersten Injektion tritt keine oder geringe Reaktion auf. Durch Wiederholung der Injektionen läßt sich nur eine geringe Verstärkung der Reaktionen erzielen.

VI. Behandlung mit körpergleichem Hodengewebe.

K. 236	3. IV. oper. K.H.	0	14. IV. frd. K.H.	+ ±	
" 182	5. IV. " "	0	14. IV. oper. "	±	
" 185	5. IV. " "	0	14. IV. " "	±	22. IV. eig. H. +++ frd. K.H. ++±
	28. IV. eig. H.	+			
" 32	20. IV. oper. K.H.	0			
" 36	20. IV. " "	0	28. IV. " "	+	
" 26	20. IV. " "	0	3. V. " "	+	4. V. eig. H. 0
" 112	21. IV. " "	0	3. V. eig. H.	+	4. V. " " +

Ergebnis: Steigerung der Reaktion nur bei Kan. 185.

VII. Sukzessive Behandlung mit körpergleichem und körperfremdem artgleichem Hodengewebe, zuerst ohne, dann mit Zusatz von fremdartigem Serum.

K. M. 26	1) 20. IV. op., eig. K.H.	0	2) 3. V. oper., eig. H.	+
	3) 10. V. eig. H.	+	4) 26. V. eig. K.H. + Pf.S.	++++
			Pf.S.	+
	5) 29. V. K.H.	++	6) K.H. + Pf.S.	++++
			Pf.S.	++
	7) K.H. + Pf.S.	++++		
	K.H.	++		
K. 13	1) 21. IV. op., eig. H.	0	2) 3. V. oper., eig. H.	+
	3) 4. V. eig. H.	+	4) 10. V. eig. K.H.	++
	5) 26. V. eig. K.H. + Pf.S.	+++	6) 27. V. K.H.	++
	Pf.S.	+		
	7) 5. VI. K.H. + Pf.S.	+++	8) 12. VI. K.H. + Pf.S.	++++
	Pf.S.	++	K.H.	+++
" 174	1) 6. IV. op., eig. H.	+	2) 14. IV. oper., eig. H.	±
	3) 22. IV. eig. H.	++±	4) 10. IV. eig. H.	±±
	freemd. H.	++±		
	5) 26. V. eig. K.H. + Pf.S.	++	6) 29. V. K.H.	++
	Pf.S.	+		
	7) K.H. + Pf.S.	++++		
	Pf.S.	++±		
" 348	1) 22. IV. oper., eig. H.	±	2) 17. V. oper., eig. H.	±
	3) 20. V. K.H. + Pf.S.	++	4) 26. V. K.H. + Pf.S.	++++
	Pf.S.	+	K.H.	++
	5) 29. V. K.H.	++	6) 5. VI. K.H. + Pf.S.	++
			Pf.S.	+
	7) 12. VI. " + Pf.S.	+++	8) 19. IV. K.H.	±±
		+		
	9) 20. VI. " + K.S.	++±	10) 10. VII. K.H. + Z.S.	++++
		+	Z.S.	++
		+ Pf.S.	++++	
	11) 14. VII. " + R.S.	++++	12) K.H. + Pf.S.	++++
R.S.	++±	Pf.S.	+	

K. 10	1) 27. V. op., eig. H.	+	2) 4. VI. eig. K.H.	+	
	3) 8. VI. eig. H. + Pf.S.	++++	4) 14. VI. eig. H. + Pf.S.	+++	
		Pf.S.	+±		
	5) 19. VI. K.H.	+	6) 24. VI. K.H. + K.S.	0	
				K.H. + Pf.S.	+±
	7) 26. VI. „ + Pf.S.	++	8) K.H. + Z.S.	+++	
			Z.S.	++	
9) K.H. + R.S.	++++	10) 21. VII. K.H.	++		
	R.S.	++	Pf.S. + K.H.	++	
, 20	1) 27. V. eig. H.	0	2) 4. VI. eig. H.	+	
	3) 9. VI. eig. H. + Pf.S.	++	4) 14. VI. eig. H. + Pf.S.	++++	
		Pf.S.	+	eig. H. + ; 4 ^b später	
				Pf.S.	+±
	5) 10. VII. K.H. + Z.S.	+++	6) K.H. + R.S.	+++	
		Z.S.	+	R.S.	++
	7) 21. VII. K.H. + Pf.S.	++++			
	K.H.	+±			
„ 52	1) 27. V. oper., eig. H.	0	2) 4. VI. eig. H.	+±	
	3) 8. VI. eig. H. + Pf.S.	++++	4) 14. VI. eig. H. + Pf.S.	++++	
		Pf.S.	+		
	5) 19. VI. K.H.	+	6) 24. VI. K.H. + K.S.	++	
				K.H. + Pf.S.	+++
7) 27. VI. K.H. + Pf.S.	+				
„ 139	20. V. K.H. + Pf.S.	+±			
„ 173	20. V. „ + „	+±			
„ 474	20. V. „ + R.S.	0			
„ 498	20. V. „ + „	++			

Ergebnis: Wie vor allem an den Protokollen K. 26, K. 10, K. 20 und K. 52 zu ersehen ist, reagieren die mit körper- oder artgleichem Hoden vorbehandelten Tiere auf die Mischung: Kaninchen-Hoden und fremdes Serum — außerordentlich stark, während die einzelnen Komponenten schwach wirken.

VIII. Vorbehandelt mit körpergleichem Hodengewebe, zunächst ohne, dann mit Zusatz von fremdartigem Serum.

	18. VI. Eig. Hod.	22. VI. Eig. Hod.	28. VI. Eig. Hod.	3. VII. Eig. Hod. + Pf.S.	8. VII. Eig. H. + Z.S.	12. VII. Eig. H. + R.S.	16. VII. K.H. + Pf.S.	21. VII.
45	0	+	±	+++	eig. H. + Z.S. +++ Z.S. +	eig. H. + R.S. +++ R.S. +±		
68	0	±	0	+±		eig. H. + R.S. +++ R.S. +	K.H. + Pf.S. +± K.H. 0	eig. H. + Pf.S. +++ Pf.S. 0
44	±	+	+±	+±	eig. H. + Z.S. +++ Z.S. +	eig. H. + R.S. ++++ R.S. lokal +++	tot nach 2 Min.	

	18. VI. Eig. Hod.	22. VI. Eig. Hod.	28. VI. Eig. Hod.	3. VII. Eig. Hod. + Pf.S.	8. VII. Eig.H. + Z.S.	12. VII. Eig.H. + R.S.	16. VII. K.H. + Pf.S.	21. VII.
67	0	±	++	++ ±	eig. H. + Z.S. ++++ Z.S. + ±	eig. H. + R.S. ++ R.S. +	tot nach 1 Std.	
70	0	0		++	eig. H. + Z.S. + Z.S. 0			
63	±	+ ±	±				K.H. + Pf.S. ++ K.H. +	

Ergebnis: Die Vorbehandlung mit dem eigenen Hoden erzeugt nur geringe Verstärkung der Reaktion gegenüber dem eigenen Hodengewebe, dagegen sehr ausgesprochene gegenüber der Mischung von Hoden und fremdem Serum. Die toxische Wirkung nach der subkutanen Injektion der Mischung bei Kan. 44 und 67 wird in der nächsten Publikation besprochen werden.

Zusammenfassung.

1) Die erstmalige Injektion von artfremdem, artgleichem und individuumgleichem Hodengewebe ins Unterhautbindegewebe des Ohres bedingt bei Kaninchen eine verschieden starke Reaktion. Trächtige Tiere reagieren in einer viel größeren Anzahl stark als Männchen und nicht schwangere Weibchen. Die Reaktion ist nicht artspezifisch, dagegen deutlich gewebsspezifisch. Alkoholische Extrakte sind wirkungslos.

2) Bei Wiederholung der Injektionen von Stierhodengewebe tritt fast regelmäßig eine erhebliche Verstärkung der Reaktion ein. Diese erstreckt sich in geringerem Grade auch auf Kaninchenhoden.

3) Vorbehandlung mit artgleichem Hodengewebe bedingt in einzelnen Fällen allergetische Reaktion, ohne daß ein wesentlicher Unterschied zwischen körperfremdem und körpereigenem Hodengewebe zu verzeichnen ist. Bei der Mehrzahl der Tiere entsteht keine wesentliche Veränderung.

4) Bei Zusatz von fremdem Serum zum artgleichen Hodengewebe reagieren die mit artgleichem Hoden vorbehandelten Tiere sehr häufig auch dann stark, wenn Hodengewebe allein eine bloß geringe Reaktion verursacht (latente Allergie), während die Mischung bei nicht vorbehandelten Tieren nur eine geringe Reaktion auslöst.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene
und experimentelle Therapie zu Marburg.]

Ueber die Haltbarkeit heterologen Antitoxins im Organismus.

Von Professor Dr. **Paul H. Römer** und Dr. **Th. Sames**.

Mit 8 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. November 1909.)

Die Frage, wie lange sich durch Seruminjektion einverleibte Antitoxine im Organismus halten, ist von einer gewissen theoretischen und vor allem von einer großen praktischen Bedeutung, zumal im Hinblick auf die Versuche, antitoxisches Serum zu prophylaktischen Zwecken anzuwenden. Es ist verständlich, daß man diese Frage sowohl von klinischer Seite [Passini (10), Loos (6), Müller (8), Löhr (5)] als auch in tierexperimentellen Versuchen [Tizzoni und Cattani (17), Passini (10), Bomstein (1), Kraus und Joachim (3), Vagedes (18), Nocard (9)] zu beantworten suchte. In allen derartigen Untersuchungen wurde zunächst übereinstimmend das rasche Verschwinden des Antitoxins beobachtet, speziell beim Menschen war sicherlich nach 3—4 Wochen jedes nachweisbare Antitoxin nach Diphtherieseruminjektion verschwunden. Bemerkenswert aber ist die Angabe Tizzonis und Cattanis, daß im Organismus von Kaninchen, die mit antitoxischem Kaninchenserum, also homologem Serum behandelt waren, sich das Antitoxin viel länger hielt, als wenn sie mit heterologem (Pferde-, Hunde-)Serum injiziert worden waren. Die große Differenz in der Haltbarkeit heterologen und homologen Antitoxins haben dann vor allem Untersuchungen Ransoms (12) nachgewiesen. Ransom zeigte, daß beim Rinde antitoxisches Rinderserum nur sehr allmählich ausgeschieden wird, rasch dagegen antitoxisches Pferdeserum, während das gleiche antitoxische Pferdeserum sich im Pferdeorganismus monatelang erhält. Die gleiche Differenz im Verhalten heterologen und homologen Serums konnten dann Schütze (15) sowie Pfeiffer und Fried-

berger (11) auch für antibakterielles Serum (Choleraserum) nachweisen. Nach allen diesen Feststellungen scheint es also Gesetz zu sein, daß homologe, d. h. an artgleiches Serumeiweiß geknüpfte Antikörper sich länger im Organismus halten als heterologe, d. h. in Form artfremden Serums eingespritzte Antikörper.

Eine prinzipielle Erweiterung erfuhren unsere Kenntnisse von der Haltbarkeit der Antikörper im Organismus nach passiver Immunisierung durch Untersuchungen von Jørgensen und Madsen (2). Sie arbeiteten mit Agglutininen und stellten fest, daß bei Katzen und Kaninchen die Agglutinine nach Einverleibung eines agglutininhaltigen Ziegenserums sehr rasch verschwinden, während umgekehrt im Organismus der Ziege die aus einem agglutininhaltigen Kaninchenserum stammenden Agglutinine sich sehr lange halten, ebenso lange wie homologes (Ziegen-)Agglutinin. Madsen (7) weist ferner darauf hin, daß bei der Ziege auch das Pferdeserum sich bis zu mehreren Monaten gelegentlich halten kann. Es trafe nach diesen Feststellungen die Ansicht v. Behrings, daß homologe Antikörper sich länger im Organismus halten als heterologe Antikörper, zwar im allgemeinen zu, ohne aber deshalb für jeden Fall stimmen zu müssen.

Wir selbst hatten nun Gelegenheit, Versuche über die Haltbarkeit des Antitoxins bei Schafen anzustellen, denen tetanusantitoxinhaltiges Pferdeserum auf verschiedenen Wegen einverleibt war. Es handelt sich um die Fortsetzung der Versuche, über die wir bereits in dieser Zeitschrift (14) berichtet haben. Die weitere Beobachtung und Untersuchung der in dieser Arbeit aufgeführten Schafe hat zu Ergebnissen geführt, die zeigen werden, daß auch für die Antitoxine ähnliche Verhältnisse vorliegen können, wie Jørgensen und Madsen (2) das in ihren sorgfältigen Untersuchungen über Agglutinine gezeigt haben.

Wir teilen unsere Versuche sinngemäß in 3 Gruppen ein, nämlich:

- I. Untersuchung des Serums von Schafen, welche „indirekt“ mit Tetanusantitoxin gefüttert waren (d. h. die Milch eines Muttertieres aufnahmen, das subkutan mit tetanusantitoxinhaltigem Pferdeserum behandelt war).

- II. Untersuchung des Serums von Schafen, die „direkt“ mit Antitoxin gefüttert waren (d. h. denen das gleiche Tetanusantitoxin direkt mit der Milchflasche gereicht wurde).
- III. Untersuchung des Serums von Schafen, denen subkutan Tetanusantitoxin injiziert worden war.

Wir benutzten zu unseren Versuchen das gleiche Tetanusgift, welches in der zitierten Arbeit verwandt und (wir verweisen auf diese Arbeit) durch folgende Werte charakterisiert war:

1 ccm = 200 000 + Ms (tödliche Minimaldosis für eine Maus von 15 g, also ungefähr 0,00007 ccm; während der über mehrere Monate sich erstreckenden Versuchsdauer erfuhr das Gift eine Abschwächung seines direkten Giftwertes auf 1 ccm = ca. 150 000 + Ms, bzw. 0,0001 ccm = tödliche Minimaldosis für eine Maus von mittlerem Gewicht).

0,008 ccm + $\frac{1}{1000}$ AE. = L†.

Ferner wurden für kleinere Antitoxinmengen als $\frac{1}{1000}$ AE. die entsprechenden L†-Dosen des Tetanusgiftes ermittelt mit folgendem Ergebnis; es wird neutralisiert zu L† von

$\frac{1}{1000}$ AE.	0,008 ccm Gift	$\frac{1}{4000}$ AE.	0,001 ccm Gift
$\frac{1}{2000}$ „	0,004 „ „	$\frac{1}{6500}$ „	0,0007 „ „
$\frac{1}{2500}$ „	0,003 „ „	$\frac{1}{10000}$ „	0,0003 „ „
$\frac{1}{3000}$ „	0,002 „ „		

Entsprechend diesen Neutralisierungsformeln sind in den nachfolgenden Versuchen die Antitoxinwertberechnungen vorgenommen worden.

Unsere einzelnen Versuche finden sich in nachfolgenden Tabellen verzeichnet.

I. Prüfung des Blutserums von Schafen, welche indirekt mit Tetanusantitoxin gefüttert waren.

1. Schaf 105, geboren am 5. III. 09, in der Zeit vom 5.—12. März 1909 gefüttert mit der tetanusantitoxinhaltigen Milch seiner 2 Tage vor der Geburt subkutan mit Tetanusantitoxin injizierten Mutter. Menge des verfütterten Antitoxins = ca. 8,5 AE. Am 12. März enthielt 1 ccm Serum 105 = ca. $\frac{1}{700}$ AE. Die Prüfung weiterer Serumproben ergab das in Tabelle I enthaltene Resultat ¹⁾.

1) Die in den Tabellen verwandten Abkürzungen bedeuten:

- 0 = glatt
 — = geringer lokaler Tetanus, erholt sich
 — — = mäßiger „ „ „ „
 — — — = „ „ allgemeiner Tetanus, erholt sich
 — — — — = sehr schwerer allgemeiner Tetanus, erholt sich
 † = Tod an Tetanus.

Tabelle I.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
20. III. 09	6520	12	0,003	0,3	† nach 36 Std.	$\frac{1}{280}$ AE.
	6508	13,5	0,002	0,3		
27. III. 09	6537	12	0,002	0,3	† nach 52 Std.	$\frac{1}{1000}$ „
	6539	10	0,0015	0,3	† nach 4 Tagen	
7. IV. 09	6366	13,5	0,0015	0,3	† nach 60 Std.	$\frac{1}{1200}$ „
	6375	16,5	0,001	0,3		
4. V. 09	6457	12	0,0008	0,3	† nach 40 Std.	$\frac{1}{2000}$ „
	6596	12	0,0004	0,3		
	6597	12	0,0002	0,3		
3. VI. 09	6686	11	0,0002	0,3	glatt † nach 4 Tagen	$\frac{1}{3000}$ „
	6687	11	0,0001	0,3		
	6689	12	0,0001	0,3		

Kochsalzlösung

Schaf 105 wurde am 16. VI. 1909 zu anderen Zwecken getötet. Es fanden sich bei demselben also 3 Monate nach der Antitoxinfütterung noch nachweisbare Antitoxinmengen im Blutserum.

2. Schaf 104, geboren am 5. III. 09 wurde genau in der gleichen Weise wie Schaf 105 mit Tetanusantitoxin gefüttert. 1 ccm seines Serums enthielt am 12. III. 09 = ca. $\frac{1}{900}$ AE. Die Prüfung des Serums späterer Blutabnahmen ergab folgendes:

Tabelle II.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
20. III. 09	6521	12	0,002	0,3	† nach 36 Std.	$\frac{1}{1000}$ AE.
	6509	12	0,001	0,3		
27. III. 09	6536	10	0,001	0,3	† nach 60 Std.	$\frac{1}{1500}$ „
	6538	12	0,00075	0,3		
7. IV. 09	6354	15	0,0007	0,3	† nach 60 Std.	$\frac{1}{1800}$ „
	6362	14,5	0,0006	0,3		
4. V. 09	6513	12	0,0004	0,3	† nach 65 Std.	$\frac{1}{2000}$ „
	6598	11	0,0002	0,3		
	6599	11	0,0001	0,3		
3. VI. 09	6683	11	0,0002	0,3	† nach $3\frac{3}{4}$ Tag.	$\frac{1}{4500}$ „
	6684	11	0,0001	0,3		
	6689	12	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung		
3. VII. 09	6763	14	0,0001	0,3 Serum	† nach $3\frac{3}{4}$ Tag.	Spuren von AE.
	6767	12,5	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung		
5. VIII. 09	6845	15	0,0001	0,3 Serum	† nach $3\frac{3}{4}$ Tag.	frei von Antitoxin
	6847	15	0,0001	0,3 phys. Kochsalzlösung		

In dem Serum von Schaf 104, in dem von vornherein sich nur geringe Mengen von Tetanusantitoxin fanden, konnten also noch 4 Monate nach der Antitoxinverfütterung Spuren von Tetanusantitoxin nachgewiesen werden.

3. Schaf 107, geboren am 8. III. 09. Dasselbe verdankte den Tetanusantitoxingehalt seines Blutes einmal einer intrauterinen Uebertragung von der 6 Tage vor seiner Geburt mit Tetanusantitoxin subkutan injizierten Mutter, sowie der Säugung durch das Muttertier. 1 ccm des Serums von Schaf 107 enthielt am 16. III. 09 ca. $\frac{1}{700}$ AE. Die Prüfung weiterer Blutproben ergab das in Tabelle III verzeichnete Resultat.

Tabelle III.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
24. III. 09	6525	12	0,003	0,3	† nach 36 Std.	$\frac{1}{900}$ AE.
	6529	13	0,002	0,3	† nach 5 Tagen	
31. III. 09	6554	20	0,002	0,3	† nach $3\frac{1}{2}$ Tag.	$\frac{1}{1000}$ „
	6556	15	0,001	0,3	0	
11. IV. 09	6326	12	0,0015	0,3	† nach 47 Std.	$\frac{1}{1180}$ „
	6388	12	0,001	0,3	0	
	6383	12	0,0008	0,3		
8. V. 09	6610	10	0,0004	0,3	† nach $4\frac{1}{2}$ Tag.	$\frac{1}{2500}$ „
	6611	11	0,0002	0,3	0	
7. VI. 09	6725	15	0,0003	0,3	† nach $3\frac{3}{4}$ Tag.	$\frac{1}{3500}$ „
	6702	14	0,0002	0,3	0	
	6700	14	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach $4\frac{1}{2}$ Tag.	
15. VII. 09	6787	16	0,0002	0,3 Serum	† nach $3\frac{3}{4}$ Tag.	$\frac{1}{5000}$ „
	6786	16	0,0002	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 63 Std.	
5. VIII. 09	6848	15	0,0001	0,3 Serum	=====	Spur von Antitoxin
	6845	15	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 5 Tagen	

Das Serum von Schaf 107 enthielt also noch 4 Monate nach der Antitoxinfütterung nachweisbare Antitoxinmengen.

Man könnte gegen vorstehende Versuche, in denen wir eine sich mindestens über 4 Monate erstreckende Haltbarkeit des heterologen Tetanusantitoxins im Blute der mit Tetanusantitoxin gefütterten Schafe nachgewiesen zu haben glauben, einwenden, daß die aufgeführten Schafe 105, 104 und 107 vielleicht noch längere Zeit als bis zu den bezeichneten ersten

Prüfungsdaten Antitoxin mit der Muttermilch aufgenommen haben, zumal sie in der Tat dauernd von ihren Müttern gesäugt wurden, denen Antitoxin injiziert worden war. Dem gegenüber aber steht die in unserer vorigen Arbeit (14) mitgeteilte Beobachtung, daß neugeborene Schafe vom 3. Lebens-tage ab nachweisbare Mengen Antitoxin mit der Muttermilch nicht mehr resorbieren. Wir tun also wohl recht, wenn wir den 3 bzw. 4 Monate nach Beginn des Versuches nachgewiesenen Antitoxingehalt des Blutserums auf das Antitoxin beziehen, das bis zum 3. Tage nach der Geburt auf die jungen Schafe übergegangen war und seitdem dauernd in ihrem Blut kreiste. Die Richtigkeit dieser Schlußfolgerung beweisen eindeutig die nachfolgenden Versuche.

II. Prüfung des Blutserums von Schafen, welche direkt mit Antitoxin gefüttert waren.

1. Schaf 96, geboren am 12. II. 09, war in der Zeit vom 12. II. 09 bis 18. II. 09 täglich mit 7,5 ccm Tetanusballonserum, insgesamt mit 288,75 AE. gefüttert worden. Am 20. II. 09 enthielt 1 ccm des Serums 96 = $\frac{1}{800}$ AE. Die Prüfung weiterer Serumproben ergab folgendes:

Tabelle IV.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm Schaf serum enthielt also
17. III. 09	6507	11,5	0,0008	0,3	† nach 69 Std. 0	$\frac{1}{2000}$ AE.
	6510	12,5	0,0005	0,3		
13. IV. 09	6350	15	0,0004	0,3	† nach 66 Std. 0	$\frac{1}{8000}$ „
	6314	14,5	0,0002	0,3		
13. V. 09	6614	10,5	0,0002	0,3	† nach 50 Std.	Frei von Antitoxin
	6615	10	0,0001	0,3		
	6616	11	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung		

Im Serum des Schafes 96 konnte das Antitoxin noch nach 8 Wochen nachgewiesen werden, nach 3 Monaten war es verschwunden.

2. Schaf 101, geboren am 23. II. 09, war in der Zeit vom 23. II. bis 1. III. 09 in der gleichen Weise wie Schaf 96 mit Antitoxin gefüttert worden. 1 ccm des Serums Schaf 101 enthielt am 2. III. 09 $\frac{1}{800}$ AE. Die Prüfung weiterer Serumproben hatte das in Tabelle V verzeichnete Ergebnis.

Tabelle V.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
17. III. 09	6498	12	0,003	0,3	—	$\frac{1}{600}$ AE.
	6490	11	0,001	0,3	0	
28. III. 09	6553	20	0,0025	0,3	† nach 48 Std.	$\frac{1}{900}$ „
	6555	20	0,002	0,3	† nach 4 $\frac{1}{2}$ Tag.	
24. IV. 09	6474	17	0,001	0,3	† nach 49 Std.	$\frac{1}{1500}$ „
	6472	18	0,0008	0,3	0	
24. V. 09	6646	18	0,0002	0,3	† nach 9 $\frac{1}{2}$ Tag.	$\frac{1}{10000}$ „
	6648	18	0,0001	0,3	—	
	6651	18	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 4 Tagen	
23. VI. 09	6755	11	0,0001	0,3 Serum	—	Spur von Antitoxin
	6752	11	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 4 Tagen	
24. VII. 09	6804	16	0,0001	0,3 Serum	† nach 4 Tagen	Frei von Antitoxin
	6805	16	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 4 $\frac{1}{2}$ Tag.	

Das Blutserum des Schafes 101 erwies sich also noch ungefähr 4 Monate nach der Antitoxinfütterung antitoxinhaltig.

3. Schaf 103, geboren am 2. III. 09, wird in der Zeit vom 2. III. bis 9. III. 09 genau wie Schaf 101 mit Antitoxin direkt gefüttert. Am 9. III. 09 enthielt 1 ccm Serum desselben etwa $\frac{1}{250}$ AE. Die Untersuchung weiterer Serumproben hatte das in Tabelle VI verzeichnete Ergebnis.

Tabelle VI.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
17. III. 09	6516	12,5	0,0065	0,3	† nach 5 $\frac{1}{2}$ Tag.	$\frac{1}{800}$ A.E.
	6497	12	0,005	0,3	0	
24. III. 09	6523	12,5	0,005	0,3	† nach 4 Tag.	$\frac{1}{600}$ „
	6522	13	0,004	0,3	0	
4. IV. 09	6360	14	0,004	0,3	† nach 3 $\frac{1}{2}$ Tag.	$\frac{1}{700}$ „
	6374	16	0,003	0,3	† nach 7 Tag.	
1. V. 09	6358	13,5	0,001	0,3	† nach 68 Std.	$\frac{1}{1800}$ „
	6595	13	0,0007	0,3	—	
30. V. 09	6667	11	0,0005	0,3	† nach 4 Tag.	$\frac{1}{2400}$ „
15. VII. 09	6789	18	0,0002	0,3	† nach 4 $\frac{1}{2}$ Tag.	Spuren von Antitoxin
	6786	16,2	0,0002	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 63 Std.	
5. VIII. 09	6846	15	0,0001	0,3 Serum	† nach 4 $\frac{3}{4}$ Tag.	frei von Antitoxin
	6845	15	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 5 $\frac{3}{4}$ Tag.	

Das Serum des Schafes 103 erwies sich also noch 4 Monate nach der Antitoxinfütterung antitoxinhaltig.

Diese Versuche mit direkter Antitoxinfütterung, bei denen also vom bezeichneten Tage ab den Schafen kein Antitoxin mehr verabfolgt war, ergaben einwandfrei, daß es sich sowohl in diesen als in den unter I zitierten Versuchen um eine lange Haltbarkeit des Antitoxins im Organismus der Schafe handeln muß. Es ist durchaus nicht unmöglich, daß man mit einem höherwertigen Gifte, mit dem man noch kleinere Antitoxinmengen nachweisen kann, auch noch eine längere Haltbarkeit des Antitoxins bei den Schafen hätte feststellen können. Ferner wird vermutlich der Nachweis injizierter Antitoxinmengen um so länger glücken, je größer die einmal verabfolgte Antitoxinmenge war. In dem Sinne sind die Versuche der Gruppe III lehrreich, die wir nunmehr folgen lassen wollen.

III. Prüfung des Serums von Schafen, denen subkutan Tetanusantitoxin injiziert worden war.

1. Schaf 100, geboren 21. II. 1909, erhielt am 1. III. 1909 0,9 ccm Tetanusserum (= 4,5 A.E.) subkutan. Am 3. III. 1909 enthielt 1 ccm seines Blutserums $\frac{1}{16}$ A.E. Die Prüfung weiterer Serumproben hatten nachfolgendes Ergebnis:

Tabelle VII.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
29. IV. 09	6496	15,5	0,003	0,3	† nach 45 Std.	$\frac{1}{1000}$ A.E.
	6501	13,5	0,0015	0,3	0	
28. V. 09	6652	15	0,001	0,3	† nach 65 Std.	$\frac{1}{1500}$ „
	6663	15	0,0005	0,3	0	
27. VI. 09	6766	15	0,0004	0,3	† nach 4 $\frac{3}{4}$ Tag.	$\frac{1}{1500}$ „
24. VII. 09	6791	16	0,0002	0,3	† nach 5 $\frac{3}{4}$ Tag.	Spuren von Antitoxin
	6799	16	0,0002	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 63 Std.	
24. VIII. 09	7041	10	0,0001	0,3 Serum	† nach 67 Std.	frei von Antitoxin
	7040	10	0,0001	0,3 physiol. Kochsalzlösung	† nach 67 Std.	

Im Serum des Schafes 100 fanden sich also noch nach ca. 5 Monaten nachweisbare Antitoxinmengen.

2. Schaf 99, geboren am 21. II. 1909, war am 25. II. 1909 mit 26,5 ccm Tetanusserum (= 133 AE.) subkutan injiziert worden. Am 27. II. 1909 enthielt 1 ccm seines Serums ca. 0,5 AE. Die Prüfung weiterer Serumproben hatte folgendes Ergebnis:

Tabelle VIII.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Gift-dosis	Serumdosis ccm	Ergebnis	1 ccm des Schafserums enthielt also
26. IV. 09	6502	12	0,008	0,08	† nach 27 Std.	$\frac{1}{90}$ A.E.
	6427	14	0,008	0,1	0	
	6491	16	0,008	0,3	0	
25. V. 09	6669	17,5	0,008	0,2	† nach 40 Std.	$\frac{1}{250}$ „
	6644	17	0,008	0,3	0	
24. VI. 09	6765	14	0,005	0,3	† nach 52 Std.	$\frac{1}{600}$ „
	6762	10	0,004	0,3	0	
24. VII. 09	6800	13	0,002	0,3	† nach 42 Std.	$\frac{1}{1800}$ „
	6802	13	0,0008	0,3	0	
24. VIII. 09	7042	10	0,001	0,3	—	$\frac{1}{1500}$ „
	7043	10	0,0008	0,3	0	
	7044	10	0,0004	0,3	0	

Das Serum des Schafes 99 enthielt also noch 6 Monate nach der Injektion beträchtliche Mengen von Antitoxin. Leider starb das Tier an einer Tuberkuloseinfektion am 25. Aug. 1909, so daß nicht bestimmt werden konnte, wie lange überhaupt das Antitoxin in seinem Serum sich gehalten haben würde. Daß aber durchaus nicht in jedem Falle das subkutan injizierte Pferdeantitoxin sich so lange im Organismus des Schafes zu halten braucht, bewies uns ein Versuch an Schaf 51, welches am 3. März 1909 52 ccm Tetanusserum (= 288 AE.) subkutan erhalten hatte, am 9. März $\frac{1}{100}$ AE. pro Kubikcentimeter Blutserum aufwies, am 1. Mai 1909 aber schon völlig frei von Antitoxin sich erwies.

Das Bemerkenswerte in unseren Versuchsergebnissen ist einmal die außerordentlich lange Haltbarkeit des heterologen Antitoxins im Organismus des Schafes und ist weiter die ganz allmählich und gleichmäßig erfolgende Abnahme desselben im Blutserum. Die Untersuchungen anderer Autoren,

z. B. die Ransoms (12) und Levins (4), ergaben den bekannten Typus der Ausscheidungskurve der Antikörper nach Immunisierungen mit heterologem Antitoxin, indem kurz nach der Injektion ein ziemlich rapider Abfall, dann ein mehr allmählicher Rückgang des Antikörpergehaltes des Blutserums auftritt. Bei uns hat die Ausscheidungskurve — abgesehen von wenigen Ausnahmen — einen ganz anderen Verlauf. Wir haben in Tabelle IX die Antitoxinprüfungsergebnisse bei sämtlichen Schafen zusammengestellt und aus dem Ergebnis der Einzelversuche den Antitoxingehalt im Gesamtblut berechnet, indem wir — allerdings wohl etwa schematisch — die Gesamtserummenge des betreffenden Tieres auf $\frac{1}{20}$ des Körpergewichts berechneten. Schon aus dieser Tabelle geht das überraschende Ergebnis hervor, daß bei dreien der untersuchten Schafe (105, 104, 107) im ersten Monat überhaupt keine Abnahme der Antitoxinmenge des Blutserums stattfand, bei den Schafen 101 und 103 auch nur eine geringe, nur bei den Schafen 99 und 100 verläuft die Antitoxinausscheidung ungefähr nach dem gewohnten Typus. Gerade bei diesen letztgenannten Tieren wurde allerdings erst 8 bzw. $8\frac{1}{2}$ Wochen nach der Antitoxininjektion die erste Serumprüfung vorgenommen, so daß wir nicht wissen können, wie in der Zwischenzeit die Abnahme des Blutantitoxins stattfand.

Tabelle IX.

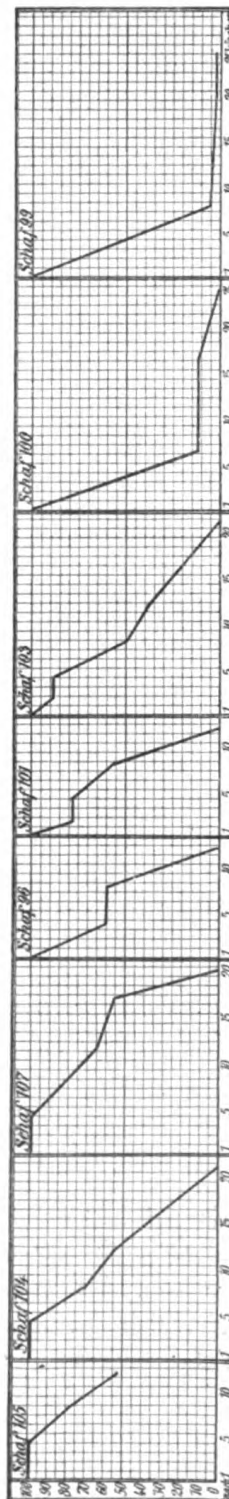
Datum	Gewicht g	Antitoxingehalt		
		in 1 ccm	im Gesamtblut	in Proz.
Schaf 105.				
12. III. 09	3700	$\frac{1}{700}$ AE.	$\frac{1}{4}$ AE.	100
20. III. 09	4500	$\frac{1}{830}$ "	$\frac{1}{4}$ "	100
27. III. 09	5000	$\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{4}$ "	100
7. IV. 09	6000	$\frac{1}{1300}$ "	$\frac{1}{4}$ "	100
4. V. 09	8000	$\frac{1}{2000}$ "	$\frac{1}{5}$ "	80
3. VI. 09	9000	$\frac{1}{3000}$ "	$\frac{1}{7}$ "	57
Schaf 104.				
12. III. 09	3 000	$\frac{1}{900}$ AE.	$\frac{1}{5}$ AE.	100
20. III. 09	4 000	$\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{5}$ "	100
27. III. 09	5 000	$\frac{1}{1500}$ "	$\frac{1}{5}$ "	100
7. IV. 09	7 000	$\frac{1}{1800}$ "	$\frac{1}{5}$ "	100
4. V. 09	9 000	$\frac{1}{3000}$ "	$\frac{1}{7}$ "	71
3. VI. 09	10 000	$\frac{1}{4500}$ "	$\frac{1}{9}$ "	55
3. VIII. 09	11 000	0	0	0

Datum	Gewicht g	Antitoxingehalt		
		in 1 ccm	im Gesamtblut	in Proz.
Schaf 107.				
16. III. 09	4 000	$\frac{1}{700}$ AE.	$\frac{1}{375}$ AE.	100
24. III. 09	5 000	$\frac{1}{900}$ "	$\frac{1}{375}$ "	100
31. III. 09	6 000	$\frac{1}{1000}$ "	$\frac{1}{375}$ "	100
11. VI. 09	9 000	$\frac{1}{1150}$ "	$\frac{1}{375}$ "	100
8. V. 09	12 000	$\frac{1}{2500}$ "	$\frac{1}{472}$ "	83
7. VI. 09	13 000	$\frac{1}{3500}$ "	$\frac{1}{574}$ "	65
15. VII. 09	16 000	$\frac{1}{5000}$ "	$\frac{1}{675}$ "	56
5. VIII. 09	15 000	0	0	0
Schaf 96.				
20. II. 09	4 000	$\frac{1}{660}$ AE.	$\frac{1}{375}$ AE.	100
17. III. 09	7 000	$\frac{1}{2000}$ "	$\frac{1}{575}$ "	60
13. IV. 09	11 000	$\frac{1}{3000}$ "	$\frac{1}{575}$ "	60
13. V. 09	16 000	0	0	0
Schaf 101.				
2. III. 09	6 000	$\frac{1}{350}$ AE.	$\frac{6}{7}$ AE.	100
17. III. 09	8 000	$\frac{1}{660}$ "	$\frac{2}{3}$ "	78
28. III. 09	12 000	$\frac{1}{900}$ "	$\frac{2}{3}$ "	78
24. IV. 09	15 000	$\frac{1}{1500}$ "	$\frac{1}{2}$ "	58
24. V. 09	21 000	$\frac{1}{10000}$ "	$\frac{1}{100}$ "	1
24. VII. 09	20 000	0	0	0
Schaf 103.				
9. III. 09	4 000	$\frac{1}{250}$ AE.	$\frac{4}{5}$ AE.	100
17. III. 09	5 000	$\frac{1}{360}$ "	$\frac{5}{7}$ "	89
24. III. 09	7 000	$\frac{1}{600}$ "	$\frac{5}{7}$ "	89
4. IV. 09	10 000	$\frac{1}{700}$ "	$\frac{5}{7}$ "	89
1. V. 09	13 000	$\frac{1}{1600}$ "	$\frac{18}{82}$ "	50
30. V. 09	15 000	$\frac{1}{2400}$ "	$\frac{1}{372}$ "	39
5. VIII. 09	18 000	0	0	0
Schaf 100.				
3. III. 09	3 000	$\frac{1}{75}$ AE.	2 AE.	100
29. IV. 09	7 000	$\frac{1}{1000}$ "	$\frac{13}{30}$ "	21
28. V. 09	10 000	$\frac{1}{1500}$ "	$\frac{18}{30}$ "	21
27. VI. 09	13 000	$\frac{1}{1500}$ "	$\frac{18}{30}$ "	21
24. VIII. 09	16 000	0	0	0
Schaf 99.				
27. II. 09	4 000	$\frac{1}{3}$ AE.	100 AE.	100
26. IV. 09	9 000	$\frac{1}{90}$ "	5 "	5
25. V. 09	14 000	$\frac{1}{250}$ "	2,8 "	2,8
24. VI. 09	20 000	$\frac{1}{600}$ "	1,67 "	1,67
24. VII. 09	18 000	$\frac{1}{1300}$ "	$\frac{8}{18}$ "	0,7
24. VIII. 09	16 000	$\frac{1}{1300}$ "	$\frac{8}{18}$ "	0,6

Noch übersichtlicher gibt eine Kurvendarstellung den Verlauf der Antitoxinausscheidung unter Zugrundelegung der in Tabelle IX angegebenen Werte wieder. Auf den Kurven ist längs der Abscissenachse die Zeit (in Wochen) angegeben und auf der Ordinate die Antitoxinmenge, wobei die bei der ersten Prüfung ermittelte Antitoxinmenge zu 100 Proz. angenommen wurde. Wir finden hier nur bei Schaf 99 und 100 die gewohnte Form der Kurve, während sie bei den übrigen Tieren sich im wesentlichen einer Geraden nähert.

Wir finden also — abgesehen von der langen Haltbarkeit des heterologen Antitoxins — auch in der Mehrzahl der Fälle eine ungewöhnliche Art des zeitlichen Ablaufes der Antitoxinausscheidung.

Noch ein Einwand wäre gegen unsere Schlußfolgerung möglich, daß die nachgewiesenen Antitoxinmengen auf die künstliche Einverleibung des Tetanusantitoxins zu beziehen seien und somit eine lange Haltbarkeit desselben im Organismus der Schafe beweisen, nämlich, daß Schafe normalerweise Tetanusantitoxin im Blute haben könnten, so wie es der eine von uns (13) für ältere Rinder als ein sehr häufiges Vorkommnis festgestellt hat. Dieser Annahme widerspricht aber schon die Beobachtung, die sich aus der genauen Betrachtung der obigen Tabellen ohne weiteres ergibt, daß der Antitoxingehalt der untersuchten Sera eine gleitende Ab-



Kurve 1. Kurve 2. Kurve 3. Kurve 4. Kurve 5. Kurve 6. Kurve 7. Kurve 8.

nahme erfährt. Ferner können wir ihm noch dadurch begegnen, daß wir das Blut von nicht weniger als 29 normalen, noch nicht künstlich mit Tetanusserum behandelten Schafen auf Tetanusantitoxin mit Hilfe des gleichen Giftes geprüft haben mit dem in Tabelle IX mitgeteilten Ergebnis.

Tabelle IX.

Datum der Serumprüfung	Maus No.	Gewicht g	Giftosis	0,3 ccm Serum von Schaf	Ergebnis
12. II. 09	6328	13	0,00007	No. 49	† nach 7 Tagen
19. II. 09	6358	17	0,00007	„ 34	=====
23. II. 09	6382	15	0,00007	„ 33	„
26. II. 09	8385	14	0,00007	„ 70	„
3. III. 09	6421	13	0,00008	„ 60	† nach 4 ¹ / ₂ Tagen
7. III. 09	6454	12,5	0,0001	„ 102	† „ 4 ¹ / ₂ „
8. III. 09	6464	13,5	0,00008	„ 59	† „ 6 ¹ / ₂ „
9. III. 09	6459	11	0,00008	„ 58	† „ 7 ¹ / ₂ „
15. III. 09	6480	14	0,00009	„ 47	=====
18. III. 09	6496	13	0,00009	„ 108	† nach 4 ¹ / ₂ Tagen
22. IV. 09	6442	15,5	0,00009	„ 97	=====
	6382	15,5	0,00009	„ 98	† nach 5 Tagen
	6488	15	0,00009	„ 94	=====
	6406	15	0,00009	„ 95	„
	6476	15	0,00009	„ 85	„
	6424	14,5	0,00009	„ 79	„
	6333	14	0,00009	„ 90	† nach 4 Tagen
	6490	14	0,00009	„ 89	† „ 8 ¹ / ₂ „
	6441	13	0,00009	„ 80	† „ 4 „
	6493	16	0,00009	phys. Kochsalzl.	† „ 8 „
	6359	16	0,00009	„	=====
22. V. 09	6628	19	0,0001	„ No. 83	† nach 8 ¹ / ₂ Tagen
	6629	19	0,0001	„ 35	† „ 10 „
	6632	18	0,0001	„ 81	=====
	6625	18	0,0001	„ 82	„
	6627	17	0,0001	„ 86	† nach 6 ¹ / ₂ Tagen
	6619	17	0,0001	„ 92	=====
	6618	16	0,0001	„ 93	† nach 11 ¹ / ₂ Tag.
	6631	15	0,0001	„ 71	=====
	6630	15	0,0001	„ 91	† nach 8 Tagen
	6624	20	0,0001	phys. Kochsalzl.	† „ 8 ¹ / ₂ „

Es enthielt also kein einziges der untersuchten normalen Schafsera auch nur eine Spur Tetanusantitoxin. Die geringen Differenzen, die zwischen den einzelnen Prüfungen bestehen, erklären sich daraus, daß nur knapp die tödliche Minimaldosis des Tetanusgiftes zur Verwendung kam.

Es geht somit insgesamt aus unseren Versuchen das überraschende Ergebnis hervor, daß sich das in Form antitoxischen Pferdeserums Schafen einverleibte (injizierte oder verfütterte) Antitoxin sehr lange im Blutserum derselben halten kann. Es kann also auch ein heterologes Antitoxin gelegentlich viel länger im Blute eines Organismus kreisen, als man bisher annahm, so daß wir die auf Grund ihrer Untersuchungen an Agglutininen gewonnene Schlußfolgerung von Jörgensen und Madsen auch für die Antitoxine nur unterstreichen können: „Thus it is not possible to set up a general law for the fate of the agglutinin of one species within the fluids of another, but each single case requires a special examination.“

Jörgensens und Madsens, sowie unsere Beobachtungen sind praktisch wichtig. Es ist nach ihnen prinzipiell nicht mehr die Schlußfolgerung erlaubt, daß die Antikörper nach passiver Immunisierung rasch aus einem Organismus verschwinden müßten, wenn sie einem heterologen antikörperhaltigen Serum entstammen. Somit ist es auch, wenn es sich um Immunisierungsversuche mit schutz- und heilkräftigen Antikörpern handelt, künftighin nicht mehr ohne weiteres berechtigt, eine kurze Dauer des durch die passive Immunisierung mit dem heterologen Serum erzeugten Schutzes anzunehmen. Hier kann nur eine sorgfältige, für jeden Spezialfall ad hoc angestellte Untersuchung entscheiden. Wir gewinnen also aus unseren Beobachtungen, welche die von Jörgensen und Madsen bestätigen, Schlußfolgerungen, die gelegentlich für die praktische Bekämpfung infektiöser Krankheiten von Bedeutung werden können. Es wäre z. B. durchaus denkbar, daß zur Bekämpfung irgendeiner Schafseuche die prophylaktische Injektion mit einem hochwertigen, Schutzkörper enthaltenden, vom Pferde stammenden Immunserum einen für praktische Verhältnisse genügend langen Schutz gewähren könnte, vorausgesetzt natürlich, daß die supponierten Antikörper sich ebenso verhalten wie das Tetanusantitoxin.

Wir haben uns naturgemäß noch die Frage vorgelegt, ob wir in den Schafseris, in denen wir das passiv einverleibte

Antitoxin so lange erhalten fanden, auch noch das Pferdeserumeiweiß, an das das Antitoxin ursprünglich geknüpft war, mit Hilfe biologischer Reaktionen nachweisen können. Die gleiche Fragestellung drängte sich uns noch von einem anderen Gesichtspunkte aus auf; wir werden sie daher in einer folgenden Arbeit beantworten.

Zusammenfassung.

1) Im Blutserum von Schafen, denen man subkutan tetanusantitoxinhaltiges Pferdeserum injiziert oder direkt oder indirekt (durch Muttermilch) verfüttert hat, läßt sich das Antitoxin unter geeigneten Bedingungen noch bis zu mindestens 6 Monaten nachweisen.

2) Wie lange überhaupt unter den genannten Bedingungen einverleibtes Pferdeantitoxin im Schaforganismus sich hält, läßt sich nicht absehen.

3) Prinzipiell bestätigen unsere Versuche für Tetanusantitoxin den schon von Jörgensen und Madsen für Agglutinine geführten Nachweis, daß gelegentlich auch durch passive Immunisierung mit heterologem Serum einem Organismus einverlebte Antikörper sich lange in ihm halten können.

4) Die Frage der Haltbarkeit der passiv einverlebten Antikörper und damit die Frage des durch passive Immunisierung erzeugten Schutzes kann nicht allgemein, sondern nur durch Untersuchung von Fall zu Fall entschieden werden; jedenfalls ist die allgemeine Annahme, heterologe Antikörper würden stets rasch ausgeschieden, nicht berechtigt.

5) Für praktische Immunisierungsversuche, speziell Schutzversuche, müssen die in dieser Arbeit niedergelegten Beobachtungen besonders berücksichtigt werden.

Literatur.

- 1) Bomstein, Zur Frage der passiven Immunität bei Diphtherie. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 22, 1897.
- 2) Jörgensen und Madsen, Festskrift ved indvielsen af Statens Serum-Institut, Kopenhagen 1902.

- 3) Kraus und Joachim, Zur Frage der passiven Immunisierung. Wien. klin. Wochenschr., Bd. 50, 1903.
- 4) Lewin, Ueber passive Immunität. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, Heft 1.
- 5) Löhr, Ueber Immunisierungsversuche gegen Diphtherie. Jahrb. f. Kinderheilk., N. F., Bd. 43, 1897.
- 6) Loos, Jahrb. f. Kinderheilk., N. F., Bd. 42, 1896, zitiert nach No. 11.
- 7) Madsen, Methode der Immunisierung bei kleinen Versuchstieren. Handbuch der Immunitätsf., Bd. 2.
- 8) Müller, Jahrb. f. Kinderheilk., N. F., Bd. 44, 1897, zitiert nach No. 11.
- 9) Nocard, Sur la sérothérapie du tetanus. Journ. de Connaissances méd., 1895, No. 44/45, zitiert nach No. 11.
- 10) Passini, Versuche über die Dauer der antidiphtherischen Schutzimpfung. Wien. klin. Wochenschr., 1896,;
- 11) Pfeiffer und Friedberger, Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, 1904.
- 12) Ransom, The conditions which influence the duration of passive immunity. Journ. of Pathology and Bacteriology, Edinburgh and London, Aug. 1899.
- 13) Römer, Ueber das Vorkommen von Tetanusantitoxin im Blute normaler Rinder. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1.
- 14) Römer und Sames, Beiträge zur antitoxischen Immunisierung auf intestinalem Wege. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.
- 15) Schütze, Ueber das Verschwinden verschiedenartiger Immunsera aus dem tierischen Organismus. Festschr. für Robert Koch, 1903.
- 16) Shibayama, Ueber die Wirkung der bakteriolytischen Heilsera bei wiederholten Injektionen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 1906.
- 17) Tizzoni und Cattani, Wien. klin. Wochenschr., 1896, zitiert nach No. 11.
- 18) Vagedes, Ueber Antitoxinausscheidung bei einem mit Tetanusserum behandelten Menschen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 20, 1895.

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Abteilung II des Bürgerspitals zu Straßburg i. E.; Direktor: Prof. Dr. A. Cahn.]

Ueber die Wirkung und therapeutische Verwertung der durch Galaktose abgetöteten Tuberkelbacillen (Tebean).

Von

Prof. Dr. **E. Levy**, und Dr. **E. Krencker**,
Adjunkt am Hygienischen Institut. Oberarzt an der Mediz. Abteilung II.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. November 1909.)

Die spezifische Therapie der Tuberkulose, wie sie durch R. Koch inauguriert wurde, geht darauf aus, den erkrankten Organismus nachträglich zu immunisieren. Die Schutzimpfung nach erfolgter Infektion ist sicherlich eines der wichtigsten Probleme der Immunitätsforschung. Es hat sich als überaus schwierig herausgestellt, durch Isolierungs- und Desinfektionsmaßregeln die Infektionskrankheiten völlig vermeidbar zu machen. Weiß man doch jetzt, daß es gesunde Individuen gibt, die bisweilen nach überstandener, sei es leichter, sei es schwerer Erkrankung, die spezifischen Erreger in ihrem Organismus zurückbehalten und in die Außenwelt ausscheiden können. Solche sogen. Parasitenträger sind eben in der Lage, unter Umständen, die wir bisher nicht überblicken, Neuinfektionen zu veranlassen. Auf ihnen beruht sicherlich das endemische Vorkommen der meisten Infektionskrankheiten. Es ist nun nicht unmöglich, vielleicht sogar wahrscheinlich, daß auch einzelne unter den chronisch Tuberkulösen, bei denen der Prozeß keine Fortschritte mehr macht, und die trotzdem tierpathogene Tuberkelbacillen entleeren, als Träger aufzufassen sind.

An eine prophylaktische Schutzimpfung gegen die Tuberkulose in Analogie der Kuhpockenimpfung ist für das Menschengeschlecht vorläufig wohl auch nicht mehr zu denken, da es sich durch die Untersuchungen der letzten Jahre herausgestellt hat, daß im Tierexperiment die aktive Immunisierung gegen diese Krankheit leider nur ungefähr 1 Jahr andauert. Alles drängt also beim Menschen auf die therapeutische, nach-

trägliche und, wie wir gleich betonen wollen, öfters zu wiederholende Schutzimpfung hin. In vollem Maße gelungen ist ja die postinfektiöse Schutzimpfung zuerst Pasteur bei seinen Hundswutimpfungen. Seither ist diese Therapie in den verschiedensten Modifikationen bei zahlreichen Infektionskrankheiten versucht worden, und auch die sogen. Oponinbehandlung von Wright muß ihr zugezählt werden.

Bei seinen ersten therapeutischen Versuchen gegen die Tuberkulose ging R. Koch mit den hitzebeständigen (90 bis 100°) Stoffwechsel- und Leibesprodukten seines Bacillus, mit seinem sog. Alt-Tuberkulin vor. Wenn man vorurteilslos die damit erzielten Resultate überblickt, so muß man sagen, daß die vorsichtige Verwendung des Mittels in einzelnen Fällen der Erkrankung Nutzen bringt. Koch ist aber weiter gegangen, er wollte ein Präparat haben, das alle, nicht nur die hitzebeständigen und extraktionsfähigen Stoffe seiner Bacillen enthält und er stellte deswegen sein Neutuberkulin dar, das aus feinst, durch Kugelmühlen gemahlene Tuberkelbacillen besteht. Ihnen wird zwecks Konservierung 50 Proz. Glycerin beigelegt. Auch über das Neutuberkulin lauten viele Berichte günstig. Koch selbst gibt ihm vor dem älteren Präparat den Vorzug. Das Glycerin, welches zur Aufbewahrung der Bacillentrümmer dient, kann nicht ausschließlich als Konservierungsmittel betrachtet werden, sondern es schwächt, wie E. Levy zeigen konnte, die immunisierende Kraft der Leiberbestandteile allmählich ab. Man braucht, worauf wir später nochmals zurückkommen werden, bei der Verwendung von Glycerin die Bacillen nicht zu zertrümmern. Es genügt, die Tuberkelbacillen in nicht zu großen Mengen (z. B. 0,001 g in 1 ccm 80-proz. Glycerin) 48 Stunden bei 37° zu behandeln, um sie abzutöten¹⁾. Solche glyzerinierte Bacillen müßten aber sofort therapeutisch verwendet werden, da die Abschwächung durch das Verweilen in Glycerin selbst bei Zimmertemperatur weiter vor sich geht. Leider läßt sich das Glycerin aus der Emulsion, in der die Tuberkelbacillen abge-

1) Vergl. auch E. Levy, Blumenthal und Marxer, Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 46, p. 278. und E. Levy und E. Krencker, Ueber die bakterizide Wirkung des Glycerins. Hyg. Rundschau; 1908, p. 323.

tötet wurden, nicht völlig entfernen, so daß man auf diese Weise keine Dauerpräparate sich verschaffen kann. Es hat sich aber nach den Untersuchungen von E. Levy, Blumenthal und Marxer¹⁾ herausgestellt, daß es noch andere chemisch indifferente Körper als das Glyzerin gibt, z. B. die verschiedensten Zuckerarten, die, ohne Antiseptica zu sein, auf physikalischem Wege in hochmolekularen Konzentrationen durch hohen osmotischem Druck die Fähigkeit besitzen, Mikroorganismen abzuschwächen und allmählich zum Absterben zu bringen. Eine vorsichtige langsame Abtötung hat, wie E. Levy seit Jahren betonte, den großen Vorteil, die Bakterienleibersubstanzen möglichst wenig anzugreifen und die Antigene, welche in ihnen enthalten sind, möglichst wenig zu schädigen. Jedenfalls eignen sich, wie E. Levy, Blumenthal und Marxer¹⁾ an verschiedenen Bakterien zeigen konnten, so durch konzentrierte Zuckerlösungen abgetötete Bakterien in ausgezeichneter Weise zu Immunisierungs- und therapeutischen Zwecken. Die Zuckerlösungen bieten vor dem Glyzerin den großen Vorteil, daß man ihre Wirkung in jedem bestimmten Moment unterbrechen und, was das Wichtigste ist, daß man sie dann im Vakuum zur Trockenheit eindampfen und die so gewonnenen Pulver in wirksamem Zustande aufbewahren kann. Auch in den Zuckerlösungen erfolgt das Absterben um so rascher, je geringer die Zahl der verwandten Bakterien, je höher die Konzentration des gewählten Präparates und je höher die Temperatur, bei welcher die Mikroben behandelt werden. Ueber 37° darf man jedoch nicht hinausgehen, da sonst die bakterizide Kraft der Erhitzung selbst in Tätigkeit tritt. Für die Tuberkelbacillen erschien es E. Levy, Blumenthal und Marxer nach zahlreichen Versuchen am geeignetsten, sie in 25-proz. Galaktoselösungen gerade eben abzutöten.

Menschliche virulente Tuberkelbacillen werden in 25-proz. Galaktose 4½ Tage bei 37° geschüttelt und dann im Vakuum

1) E. Levy, Blumenthal und Marxer, loc. cit., und Abtötung und Abschwächung von Mikroorganismen durch chemisch indifferente Körper. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 42. p. 265. — E. Levy und Franz Blumenthal, Ueber die bakterizide Wirkung des Zuckers. Med. Klinik, 1906, p. 411.

eingedampft. Für die therapeutische Verwendung muß die Menge sorgfältig so abgewogen werden, daß das resultierende Pulver in 1 g 5 mg Tuberkelbacillen (auf feuchte berechnet) enthält. Die Herstellung des Pulvers in großen Mengen ist eine recht. mühsame. In überaus dankenswerter Weise hat sich die chemische Fabrik auf Aktien (vorm. E. Schering) bereit erklärt, das Pulver darzustellen. Es wird von der Fabrik unter dem Namen Tebean geliefert. Die Prüfung auf Unschädlichkeit geht folgendermaßen vor sich: Von jedem neuen Pulver wird eine Menge, die 2 mg Bacillen entspricht, je 2 Meerschweinchen intramuskulär und intraperitoneal injiziert. Nach 6 Wochen werden die Tiere autopsiert, sie dürfen bei Brauchbarkeit des Pulvers keine Spur von Tuberkulose zeigen. Außerdem darf das Pulver höchstens einige wenige Luftkeime enthalten.

Wir waren völlig berechtigt, das Tebean beim tuberkulösen Menschen anzuwenden, da dasselbe ja an tuberkulös gemachten Meerschweinchen von E. Levy, Blumenthal und Marxer¹⁾ versucht worden war. Die kranken Tierchen ertrugen anstandslos noch 7 Wochen nach erfolgter schwerer Infektion große Dosen des Tebeans, bis 4 mg. Sie lebten nach der Behandlung teilweise erheblich länger (bis zu 4 Monaten) als die Kontrollen. Ein schädigender Einfluß der Einspritzungen kam bei keinem der Tiere zur Beobachtung. Bei den großen Dosen bildeten sich lokal Abszesse, die jedoch stets wieder zur Ausheilung kamen. Häufiger fanden sich bei der Autopsie der behandelten Meerschweinchen Kavernenbildungen in den Lungen. Diese Erscheinung ist sicherlich auf den langsamen Verlauf der Tuberkulose in diesen Fällen zurückzuführen. Letzterer kann abhängig sein von der gesteigerten Resistenz der behandelten Tiere; bei nicht behandelten Tieren nur von der Einführung schwach virulenter resp. künstlich abgeschwächter Tuberkelbacillen oder minimaler Mengen virulenter Tuberkelbacillen, die an der Grenze der einfach tödlichen Dose stehen. Das Zustandekommen von tuberkulösen Lungenerkrankungen mit Einschmelzungserscheinungen, die der

1) E. Levy, Blumenthal und Marxer, Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose. 2. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 47, p. 289.

menschlichen Phthise völlig gleichen, darf, das ist die Ansicht zahlreicher Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben ¹⁾, bei behandelten Tieren als eine Steigerung der Widerstandskraft gegenüber dem tuberkulösen Infekt gelten.

Die therapeutische Verwendung des Tebeans beim Menschen wurde größtenteils auf der medizinischen Abteilung des Herrn Prof. Dr. A. Cahn ausgeführt. Derselbe unterstützte uns im weitgehendsten Maße mit seiner reichen klinischen Erfahrung. Wir sprechen ihm hierfür auch an dieser Stelle unseren allerherzlichsten Dank aus. Im Ganzen wurden 80 Fälle mit Tebean behandelt. Um uns ein Urteil über das zweckmäßigste Verfahren zu verschaffen, verfuhrten wir nach verschiedenen Methoden. Wir begannen mit kleinen Dosen von $\frac{1}{400}$ — $\frac{1}{80}$ mg Bacillenleiber und injizierten wöchentlich 2mal. Wenn auf die Injektionen keine größeren Reaktionen folgten, ließen wir jedesmal eine höhere, häufig die doppelte Dose folgen und kamen so zu $\frac{1}{2}$, 1, 2 und 4 mg. Bei den größeren Dosen von $\frac{1}{8}$ mg z. B. ab spritzten wir wöchentlich nur noch 1 mal. Oder wir fingen mit Dosen von $\frac{1}{80}$ — $\frac{1}{20}$ mg an und suchten womöglich täglich — wenn keine erheblichen Reaktionen auftraten — langsam steigend zu injizieren. Von $\frac{1}{20}$ mg an wiederholten wir jedesmal die Dose, ehe wir zu einer höheren übergingen. Bei den großen Mengen ließen wir aber längere Pausen bis zu 8 Tagen zwischen den Einspritzungen verstreichen. Auch hier stiegen wir in einzelnen Fällen bis zu 2 mg. Nachdem wir allmählich die Unschädlichkeit auch größerer Mengen herausgefunden hatten, inji-

1) v. Behring, Beiträge zur experimentellen Therapie, Heft 8, Tuberkuloseentstehung, Tuberkulosebekämpfung und Säuglingsernährung. Heft 11, Moderne phthisiogenetische und phthisiotherapeutische Probleme in historischer Beleuchtung. — J. Orth und Lydia Rabinowitsch, Zur Frage der Immunisierung gegen Tuberkulose. Virchows Arch., Beiheft zum 190. Bd., Tuberkulosestudien. — Bartel u. Neumann, Ueber Immunisierung gegen Tuberkulose. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 48. — P. H. Römer, Ueber experimentelle kavernöse Lungentuberkulose. Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 19. — Kretz, Ueber Phthisiogenese. Wissenschaftl. Gesellschaft deutscher Aerzte in Böhmen, Ref. Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 20. — E. Levy, Ueber die Erzeugung von tuberkulösen Lungenkavernen im Tierexperiment und deren Bedeutung. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 51.

zierten wir in einzelnen Fällen gleich als Anfangsdose $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{8}$ mg, Mengen, die trotz der ungeheuren Zahl von Bacillen fast reaktionslos ertragen wurden. Nach 3 Monaten wiederholten wir die Injektionen, indem wir dann weiter stets etwas größere Dosen gaben. In neuerer Zeit sind wir dann besonders bei fieberhaften Kranken zu mittleren Anfangsdosen von $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{20}$ mg übergegangen und steigen in $\frac{1}{2}$ —1-wöchentlichen Zwischenpausen langsam zu großen Dosen auf. Hier empfehlen wir mehrere solcher Serienreihen in Abständen von 3—4 Monaten (von der letzten Einspritzung an gerechnet).

Zu den Injektionen wogen wir jedesmal das Tebean auf sterilem Papier resp. Schale ab und lösten es in physiologischer Kochsalzlösung (bei Dosen von $\frac{1}{40}$ — $\frac{1}{8}$ mg in 4—5 ccm, bei größeren Dosen in 20, bei kleineren in 1 ccm). Die Tebeanlösung durfte nie länger als 24 Stunden stehen. Wir injizierten meist unter die sorgfältig desinfizierte Haut des Rückens oder der Brust und verrieben tüchtig mit einem sterilen Tupfer, bis die Flüssigkeit ganz verschwunden war. Mehr als 5 ccm der Aufschwemmung wurde nie an einen Ort injiziert, so daß wir z. B. 2 mg in 20 ccm an 4 verschiedenen Stellen einspritzten. Bei den großen Bacillenmengen erscheint die Flüssigkeit leicht trübe. Die Injektionsstelle wurde nach ca. 10 Stunden druckempfindlich, mitunter auch schmerzhaft, so daß wir in seltenen Fällen bei großen Dosen feuchte Umschläge verordneten. Hervorzuheben ist noch, daß einzelne Kranke überhaupt nichts von Druckempfindlichkeit resp. Schmerzhaftigkeit empfanden. In den meisten Fällen hörte nach 2—3 Tagen die Druckempfindlichkeit auf, sie hielt jedoch in einzelnen Fällen bis 14 Tage an. Meist war hiermit die Sache beendet. Wie gering der Eingriff ist, zeigt ein Fall von mittelschwerer Tuberkulose, den wir ambulant mit Dosen von $\frac{1}{4}$ mg usf. alle 3—5 Monate behandeln, ohne daß Patient gezwungen war, sich zu Bette zu legen. In einzelnen Fällen bildete sich jedoch nach 3—12 Wochen an der Injektionsstelle ein Abszeß, der ganz das Bild eines kalten Abszesses bot und entweder spontan aufbrach oder punktiert oder inzidiert wurde. Nachdem wir uns jedoch von der völligen Gefährlosigkeit dieser Abszesse überzeugt hatten, verhielten wir uns ihnen gegenüber möglichst expektativ und behandelten den

aufgebrochenen Abszeß trocken. Der entleerte Eiter ließ weder bei der mikroskopischen noch bei der kulturellen Untersuchung irgendwelche Mikroorganismen auffinden. Auf Meerschweinchen überimpft erwies er sich als nicht infektiös. Die Tiere waren nach 6 Monaten noch gesund, gebaren in der Zwischenzeit gesunde Jungen und zeigten bei der Autopsie keine Spur von irgendwelchen tuberkulösen Prozessen. Sehr interessant sind die pathologisch-anatomischen Veränderungen, die das Tebean nach subkutaner Injektion bisweilen beim Menschen nach sich ziehen kann. Bei einem verlorenen Patienten, der 14 Tage vor seinem Tode eine mittelgroße Tebeaneinspritzung erhalten hatte, untersuchte auf unsere Bitte Herr Prof. Chiari die betreffende Hautstelle. Er stellte daselbst charakteristische Tuberkelbildung und Verkäsung fest. Herr Dr. Schrupf exzidierte während unserer Ferienreise bei einem Patienten, der eine Verdickung einer Injektionsstelle zeigte, letztere zur Hälfte. Er teilte sie in zwei gleich große Stücke. Das eine diente zur mikroskopischen Untersuchung, das andere zur Infektion von 2 Meerschweinchen. Auch er fand richtige Tuberkelbildung. Die Meerschweinchen waren bei der Autopsie völlig gesund. Die beim Patienten zurückgelassene Hälfte des Injektionsinfiltrates bildete sich vollkommen zurück. Diese und die oben erwähnten Befunde beweisen uns, daß wir es eben mit den Folgen der Einverleibung toter Tuberkelbacillenleiber zu tun haben. Für das Kaninchen ist ja durch die Untersuchungen von Prudden und Hodenpyl¹⁾ bekannt, daß tote Tuberkelbacillen Knötchen, die aus epitheloiden und Riesenzellen bestehen, hervorrufen können. Allerdings wurde von ihnen bei der intraperitonealen, intrapleuralem und intravenösen Einverleibung eine echte Verkäsung in diesen Knötchen vermißt. Auch bei der intratrachealen Injektion fand Prudden²⁾ nie nennenswerte käsige Massen. Nach seiner Ansicht werden die Käseherde durch die Stoffwechselprodukte der lebenden Bacillen hervorgerufen. Prudden und Hodenpyl töteten ihre Tuberkelbacillen vermittelst strömenden Dampfes, resp. Kochen ab. Vielleicht

1) Prudden und Hodenpyl, Baumgartens Jahresbericht VII, 1891, p. 778.

2) Prudden, Baumgartens Jahresbericht VII, 1891, p. 780.

ist hierauf zurückzuführen, daß sie keine Verkäsung erzielten. Bei dem Tebean werden ja die Tuberkelbacillen viel schonender durch die konzentrierten Galaktoselösungen zum allmählichen Absterben gebracht. Es ist sehr wohl möglich, daß deswegen das Tebean beim Menschen Verkäsung in den Knötchen bisweilen verursachte. Im übrigen müssen wir aber an die Tatsache denken, daß bei den zahlreichen Ueberimpfungen von Tebean auf Meerschweinchen niemals spezifische tuberkulöse Veränderungen wie beim Menschen auftraten. Bei großen Dosen gab es manchmal Abszesse, die stets ausheilten. Es geht also auch hieraus wieder hervor, daß man die Resultate tierexperimenteller Forschung nicht von einer Species auf die andere so ohne weiteres übertragen darf.

Die Abszeßbildung bei unseren Patienten ging, wenn sie auftrat, in der Regel ohne Fieber einher. Nur in einem Falle, den wir in Dosen von $\frac{1}{80}$ mg bis 1 mg ansteigend behandelten, stellten sich im Anschluß an die letzte Injektion an sämtlichen Injektionsstellen sterile Abszesse ein, die zum Teil nach Punktion, zum Teil spontan heilten. Hier fieberte der Patient leicht. Das Fieber schwand jedoch mit dem Abklingen der Abszesse. In diesem Falle heilte übrigens der tuberkulöse Lungenprozeß vollkommen aus. Patient ist jetzt nach 3 Jahren noch gesund (siehe Krankengeschichte G. X.).

Wir beobachteten Abszeßbildung in 12 Fällen. Doch mögen uns vielleicht nicht alle Fälle von auswärts gemeldet worden sein. Nach Ausheilen der Abszesse trat bis auf die kleine Hautnarbe *restitutio ad integrum* ein. Reaktionen wurden von den kleineren Dosen Tebean fast niemals ausgelöst. Auch die größeren Dosen riefen gewöhnlich nur geringe Reaktionen hervor von $\frac{1}{2}$ — 1° , mitunter von 2° . Bei fiebernden Patienten verschwand die Reaktion fast ganz in der Fieberkurve. In einem ganz leichten Falle, der fieberfrei war, kam es nach der Anfangsdose von $\frac{1}{3}$ mg zu einer Fiebersteigerung von 3° , die jedoch nach 2 Tagen wieder verschwunden war. In einem anderen, ebenfalls ganz leichten Falle, stellte sich auf $\frac{1}{4}$ mg eine Temperatursteigerung von 1° ein, die 8 Tage lang anhielt.

Wenn wir nunmehr zu der Besprechung der therapeutischen Resultate unserer Tebeaneinspritzungen übergehen, so tritt

uns bei der Beurteilung vor allem die Schwierigkeit einer richtigen Prognosenstellung bei der Tuberkulose entgegen. Fälle, die anscheinend leicht sind, treten plötzlich in ein akut tödlich verlaufendes Stadium und andererseits kommen Fälle vor, die als sehr schwer imponieren und trotzdem zum Teil wohl sicherlich infolge der besseren hygienischen Bedingungen, die das Krankenhaus bietet, in ein weniger schweres oder nur leicht progredientes Stadium übertreten können. Die Beobachtungszeit von 3 Jahren, der wir allerdings nur unsere ersten Fälle unterziehen konnten, ist bei einer so chronischen Krankheit wie die Tuberkulose auch noch zu kurz. Wenn wir trotzdem das Mittel jetzt schon zu empfehlen uns unternehmen, so tun wir dies in der Ueberzeugung, daß das Mittel in einigen Fällen, sine ira et studio geprüft, tatsächlich einen begünstigenden Einfluß ausgeübt hat. Welcher Art ist dieser Einfluß? Wir wollen bei einem Organismus, der allerdings hierzu noch reaktionsfähig sein muß, durch die Injektion sämtlicher in schonender Weise gewonnenen Leibesbestandteile der Tuberkelbacillen eine Antikörperbildung anregen. Diese soll den Organismus befähigen, der stets weiter greifenden Infektion Einhalt zu gebieten. Der Organismus bringt dies sich selbst überlassen, manchmal durch Narbenbildung zustande, jedoch bei ganz schweren Fällen nur äußerst selten derart, daß eine nennenswerte Besserung zu konstatieren ist.

Zur besseren Beurteilung teilen wir unsere Fälle in schwere mit schlechter Prognose, in mittelschwere und leichte ein. Der weitaus größte Teil der von uns zu Anfang behandelten Lungentuberkulosen betraf natürlich ganz schwere Lungentuberkulosen. Handelte es sich doch vor allem zunächst darum, die Menge des zu injizierenden Tebeans festzustellen, sowie zu prüfen, ob durch die Injektionen kein Schaden angerichtet werde. Weiter war die Ueberlegung noch maßgebend, daß eine Beeinflussung dieser vorgeschrittenen Erkrankungen, wenigstens in denjenigen Fällen, die noch reaktionsfähig waren, sicherlich ein Urteil erlauben würde. Bei ganz frischen Fällen läuft man ja Gefahr, die spontanen Besserungen auf Rechnung des Mittels zu setzen. Außerdem wollten wir auch Autopsien zu unserer Verfügung haben, da

es uns wichtig erschien, eventuelle durch das Tebean in den kranken Organen gesetzte Veränderungen, seien es günstige, sei es ungünstige, zu Gesichte zu bekommen. Von den 35 behandelten sehr schweren Fällen kamen 23 seit dem Beginn der Beobachtungszeit zum Exitus. Davon wurden im Spital 15 autopsiert. Bei keinem dieser Fälle, die $\frac{1}{2}$ —26 Monate nach den Einspritzungen seziert wurden, ließen sich Veränderungen nachweisen, wie sie zur Zeit der allerersten Tuberkulininjektionen auf die großen Dosen hin festgestellt wurden. Ebensowenig wurde jemals ein Akutwerden des Prozesses, eine miliare Dissemination, beobachtet. Bei den ganz vorgeschrittenen Fällen war natürlich an eine Heilung resp. wesentliche Besserung nicht zu denken. Ein Teil dieser Fälle blieb auch völlig unbeeinflusst von den Injektionen. Bei der Autopsie zeigte sich dann der gewöhnliche Befund der Tuberkulose.

Dagegen fanden wir in einigen Fällen starke bindegewebige Veränderungen in den tuberkulösen Lungenpartien. Wir wollen, um ja nicht mißverstanden zu werden, hier ausdrücklich betonen, daß man solche Prozesse, die, wenn sie eine große Ausdehnung annehmen, schließlich zur sog. Phthisis fibrosa führen, auch bei sich selbst überlassenen Patienten beobachten kann. Wir dürfen aber bei diesen Vorkommnissen die Frage aufwerfen, ob in der fibrösen Umwandlung der tuberkulös ergriffenen Gewebe nicht ein für den erkrankten Organismus günstiges Vorkommnis zu erblicken ist. Bard¹⁾, einer der besten Kenner der Phthisis fibrosa, spricht sich sehr zugunsten dieser Annahme aus. „L'évolution fibreuse est le fait d'une atténuation de la diathèse ou d'une résistance plus efficace de l'économie à l'invasion du mal.“ Und weiter: „L'évolution fibreuse est comme l'expression d'un organisme qui se défend. On la voit se produire toutes les fois que l'individu est dans les conditions constitutionnelles favorables à la résistance.“ Auch Herr Prof. Cahn teilt auf Grund seiner klinischen Erfahrungen diese Ansicht durchaus. Die fibröse Phthise, resp. die mehr oder minder ausgebreitete Verbindung der Lungentuberkulose mit Cirrhose, könnte unter

1) L. Bard, De la phthisie fibreuse chronique. Thèse, Lyon 1879.

diesen Umständen bei zwei Kategorien von Kranken auftreten, bei solchen, die eine spontane Tendenz zur Heilung aufweisen, und weiter bei solchen, deren Widerstandskraft durch die Behandlung angeregt und erhöht worden ist. Bei letzteren müßte dann der Nachweis erbracht werden, daß ihre ausgedehnten und bisher progredienten tuberkulösen Veränderungen allmählich einem cirrhotischem Prozesse verfallen. Solche Cirrhose kam bei unseren Patienten in ganz ausgesprochener Weise in 3 Fällen zur Beobachtung. In geringerem Grade trafen wir sie auch bei einigen anderen von unseren Autopsien. Wir wollen jedoch nur auf die ersten 3 Fälle eingehen.

C. L.¹⁾ Beide Eltern an Lungentuberkulose gestorben. Pat. blieb bis zu seinem 35. Lebensjahre gesund. Es entwickelte sich damals (1898) ohne äußere Veranlassung eine rechtsseitige seröse Pleuritis mit Dämpfung bis zum Angul. scapul., geringer Verdrängung der Leber und Fieber zwischen 38—39°. Nach 6 Wochen war anscheinend völlige Heilung eingetreten. Auf den Lungen waren perkutorisch und auskultatorisch keine Zeichen von Tuberkulose, im rein katarrhalischen Sputum bei wiederholten Untersuchungen keine Tuberkelbacillen nachweisbar. Nichtsdestoweniger wurde angesichts der hereditären Belastung der Fall von uns als sehr suspekt angesehen und Pat. angeraten, sehr vorsichtig zu leben und wiederholten Aufenthalt im Hochgebirge zu nehmen. Er ließ sich jedoch nicht zurückhalten, in früherer gewohnter leichtsinniger Weise weiter zu leben. 1901 fühlte sich C. L. wieder krank, er hustete, magerte ab und fieberte leicht. Wir konstatierten r. vorn-oben oberhalb Clavicula verkürzten Schall, Knarren und bereits kleinblasige Rasselgeräusche in geringer Zahl. Im spärlichen aber eitrigen Sputum fanden wir wenige Tuberkelbacillen. Pat. suchte nun die nächste Zeit die verschiedensten Kurorte auf, Leysin, Riviera, Badenweiler, Gardasee, Algier usw. 1903 war der ganze r. Oberlappen, außerdem die l. Spitze ergriffen. Der Prozeß schritt unaufhaltsam vorwärts und Oktober 1905 veranlaßte unser Freund, Herr Dr. A. Fraenkel-Badenweiler, da ihm der Fall als desperat erschien, die Aufnahme des Pat. in das israelitische Krankenhaus in Straßburg. Er wurde unter ärztlicher Begleitung hierher gebracht. Pat. hatte seit Winter 1904 beinahe kontinuierlich gefiebert (bis 38,5). Wir fanden Dämpfung, klingendes Rasseln, Kavernensymptome in beiden Oberlappen, r. hinten-unten und r. vorn-unten klein und mittelgroßblasiges Rasseln hinten r. unten Lungenrand nicht verschieblich. L. hinten-unten spärliche schleimige Rasselgeräusche, hier Lungenrand verschieblich. Herz normal, kein Eiweiß, kein Zucker. Reichlicher Auswurf mit zahlreichen Tuberkelbacillen.

1) Dieser Fall wurde in Gemeinschaft mit Dr. Franz Blumenthal behandelt.

Am 13. XI. wurde mit der Tebeanbehandlung begonnen und bis zum 18. XII. die I. Injektionsreihe durchgeführt. Da C. L. als der erste mit den galaktosierten Tuberkelbacillen behandelt wurde, wählten wir die Anfangsdosis ganz vorsichtig $\frac{1}{1000}$ mg und stiegen stetig in 3—4-tägigen Intervallen bis auf 1 mg. Eigentliche Reaktionen kamen nicht zur Beobachtung.

II. Injektionsreihe vom 13. II. bis 20. III. Injiziert wurden in 3- bis 11-tägigen Pausen $\frac{1}{8}$ —4 mg. Höchste während dieser Zeit beobachtete Temperatur 37,6°.

III. Injektionsreihe vom 18. V. bis 21. VI. $\frac{1}{60}$ bis 2 mg. Von Dose $\frac{1}{3}$ ab 6 Tage nach ihrer Einverleibung bildete sich ein leicht fieberhafter Zustand aus, abendliche Temperaturen zwischen 37 und 38°, nur einmal 38,7°. Wir spritzten trotzdem weiter. 3 Wochen nach der letzten Injektion waren die Temperaturen wieder ganz normal.

IV. Injektionsreihe vom 17. XI. bis 12. XII. $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{4}$ mg. Keine Reaktionen.

Pat. erhielt dann alle 2—3 Monate kleine Dosen bis $\frac{1}{20}$ mg. Als erstes günstiges Zeichen der Behandlung stellte sich nach 5 Wochen das Verschwinden der subfebrilen Temperatur ein. Dasselbe ist mit wenigen Ausnahmen (für eine vgl. III. Injektionsreihe) bis zum Tode nicht wieder-gekehrt. Meist waren auch dann Ursachen der Temperatursteigerungen, wie Anginen, Pharyngitiden usw., aufzufinden. Der Husten wurde viel geringer und schließlich wurden nur noch 1—3 Sputa ausgehustet, die spärliche Tuberkelbacillen enthielten.

Von 1907 ab entwickelte sich allmählich eine Abflachung der oberen Thoraxpartien besonders r. Es folgte dann eine solche der r. unteren Partien, so daß r. das Bild des Laennecschen Retrécissement resultiert. L. dehnten sich dagegen die unteren Thoraxpartien erheblich aus. Die Dämpfungen r. über der ganzen Lunge, l. über dem Oberlappen, bestanden weiter, der Stimmfremitus über ihnen blieb erhalten und wurde zum Teil verstärkt. Die Auskultation ergab hier der Hauptsache nach rauhes bronchiales Atmen. Nur hinten l. unten im ganzen Bereich des Unterlappens waren lauter sonorer Lungenschall und später schleimige Rasselgeräusche zu konstatieren. Das Herz wurde nach r. verzogen, was an der Verschiebung der Stellen, an denen die Herztöne in größter Intensität gehört wurden, festgestellt werden konnte. Mit allen diesen Zeichen der rechts- und linksseitigen Lungenschrumpfung, die nur den l. Unterlappen verschonte, stellte sich eine erhebliche Atemnot ein. Pat. konnte nur wenige Schritte gehen, fühlte sich nur in horizontaler Lage wohl. Es entwickelte sich eine ganz ausgesprochene Cyanose.

Von Ende des Jahres 1907 ab war im Urin Eiweiß nachweisbar, 1—2 p. M. bei normaler Diurese. Mikroskopisch hyaline und epitheliale Cylinder und Leukocyten. Keine Tuberkelbacillen (auch im Tierexperiment nicht). Pat. klagte häufig über Schmerzen in der l. Nierengegend. Januar 1909 stellt sich Harnverhaltung mit schmerzhaftem Urindrang und sehr quälenden Erektionen ein, so daß mehrere Tage lang ein Verweilkatheter

eingelgt werden mußte. Nach Abgang von 2 erbsengroßen Steinen ließen die heftigen Beschwerden nach, Pat. wurde jedoch noch häufig von kolikartigen Schmerzen heimgesucht. Plötzlicher Exitus 6. III. 1909.

Wir sind Herrn Prof. Dr. Chiari, der die Liebenswürdigkeit hatte, diese Autopsie außerhalb des pathologisch-anatomischen Institutes auszuführen, zu großem Danke verpflichtet.

Der Körper mittelgroß, gracil gebaut, sehr mager, sehr blaß. Von außen auffällig die starke Abflachung des Thorax, besonders in dessen r. Hälfte. Das Zwerchfell r. an der 3., l. an der 4. Rippe. Die r. Lunge hochgradig schwielig geschrumpft, auf einen etwa $1\frac{1}{2}$, mannsfaustgroßen Körper reduziert und so fest an die Thoraxwand angewachsen, daß die Herausnahme dieser Lunge nur mittelst Präparation mit dem Messer gelingt. Die pleuritische Schwiele stellenweise über 1 cm dick. Auf Durchschnitten durch die r. Lunge in der meist stark anthrakotischen Schwiele die Bronchien und Blutgefäße, aber kein lufthaltiges Lungengewebe zu finden. Die Bronchien häufig zu bis 2 ccm großen unregelmäßig gestalteten Kavernen umgewandelt. Die l. Lunge im Oberlappen ebenso beschaffen wie die r. Im Unterlappen nur von zerstreuten, bis 2 ccm großen Gruppen käsiger bis hanfkorngroßer Granula durchsetzt, sonst lufthaltig, ziemlich blaß, wenig ödematös. Das Herz etwas nach r. verlagert. Im Herzbeutel ein Eßlöffel klaren Serums. Herz normal. Oesophagus blaß. Die peribronchialen Lymphdrüsen schwielig und anthrakotisch. Leber, Milz und Nieren blaß. In den Calices und dem Becken der l. Niere reichlicher, gelblicher Sand und im Becken ein 1 ccm und ein $\frac{1}{4}$ ccm großer gelblich-weißer, ziemlich leicht zu zerschlagender Stein. Die Mucosa der Calices und des Beckens dieser Seite gerötet. Die Schleimhaut der Harnblase gerötet. Magen und Darm bei der genauen Besichtigung von außen normal beschaffen.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Tbc. obsoleta pulmon. d. et lobi sup. pulmon. sin. Tbc. chr. disseminata lobi infer. pulmon. sin. Nephrolithias sin.

K. A., 26 Jahre, Bäcker. Mutter an Hämoptoe gestorben. April 1902 bekam Pat. seine erste Hämoptoe. August 1902 und Januar, Februar 1903 Aufenthalt im Spital mit Lungenphthise. Genauere Daten über den Befund konnten wir nicht erhalten. Pat. ging darauf nach Amerika, wo er $2\frac{1}{2}$ Jahre verblieb. Er war dort immer kränklich, hustete, konnte jedoch meist arbeiten. Im Verlauf der Jahre 1904 und 1905 war er zweimal in einem amerikanischen Sanatorium. Nach der letzten Entlassung stellte sich bei ihm Fieber ein. Mitte Dezember 1905 kehrte er nach Europa zurück, lag dann bis zu seiner Aufnahme in die medizinische Abteilung II (24. IV. 1906) krank zu Hause. Er litt viel an Hustenreiz, Fieber und Kältegefühl. Anfangs nur ab und zu Nachtschweiße, in letzter Zeit täglich. Status: Mäßiger Ernährungszustand, schwächliche Muskulatur, geringes Fettpolster. Thorax flach. Schlüsselbeingruben beiderseits eingesunken. R. vorn bis zur 3. Rippe, l. vorn bis zur 4. Rippe Dämpfung. Desgleichen hinten-oben beiderseits bis zur Mitte der Scapula. Ueber den

Dämpfungen Bronchialatmen mit reichlichen klingenden mittelgroßblasigen Rasselgeräuschen. L. vorn tympanitischer Beiklang mit Wintrichschem Schallwechsel. Hinten-unten beiderseits ebenfalls Rasseln, nicht klingend. Sputum ca. 30 ccm p. d., eitrig-schleimig, enthält viele Tuberkelbacillen. Milz etwas groß, Temperatur 39, Puls 116. Blutdruck in Hg. 105, Hämoglobin 80 Proz. Weiter fieberhafter Verlauf, Temperaturen bis 39,3.

Tebeanbehandlung: 18. V. 1906 $\frac{1}{400}$ mg, 22. V. $\frac{1}{200}$ mg, 24. V. leichte Hämoptoe. einen Tag andauernd, 25. V. $\frac{1}{100}$ mg, 28. V. $\frac{1}{50}$ mg, 31. V. $\frac{1}{25}$ mg, 7. VI. $\frac{1}{12}$ mg, 11. VI. $\frac{1}{6}$ mg, 14. VI. $\frac{1}{4}$ mg, 16. und 17. VI. Schüttelfrost, 21. VI. $\frac{1}{2}$ mg, 25. VI. 1 mg, 29. VI. 2 mg an 2 Stellen, 9. VII. 4 mg an 4 Stellen. Auf die letzte Einspritzung nachts Kopfschmerzen, Temperatur 40 (Abendtemperatur den Tag vorher betrug 39). In der folgenden Zeit stellten sich beim Pat. wiederholt Schüttelfröste ein. Fieber hält an. Zunehmender Verfall. Exitus am 24. IX. 1906.

Autopsie (Prof. Dr. v. Recklinghausen).

Thorax schlank, in den oberen Partien abgefacht, Brustmuskulatur blaß. Zwerchfell l. an der 5. Rippe, r. im 4. Intercostalraum. Intercostalräume sehr breit. L. Lunge tritt fast gar nicht zutage, völlige Verwachsung mit Herz und Brustwand. R. wenig retrahiert. An der Oberfläche des Unterlappens einige weiße Stellen, ebenso an der vorderen Spitze des Oberlappens. R. Thoraxraum wenig trübes Serum mit Fibrinflocken gemischt. Herzbeutel tritt in mäßiger Ausdehnung zutage, sehr groß, enthält 80 ccm klares Serum. L. Herz ist weit, r. nimmt an der Spitze teil. Blut im Herzen stark geronnen, auch in Ven. cav. große Gerinnsel mit viel gallertartiger Speckhaut. Klappen normal, Fleisch etwas rot. In der Trachea schaumiger Schleim. Auch nach unten zu sind sehr starke Verwachsungen der Pleura und der Brustwand. Adhäsionen der l. Lunge mit Zwerchfell bindegewebig, strangförmig. Keine Knötchen vorhanden. Spitze der l. Lunge sinkt ein. — Im r. Oberlappen eine Kaverne mit vielfältigen Buchten bis zum unteren Ende reichend. Andererseits sind nach vorne zu noch Höhlen. Alle Höhlen enthalten rötlich-trübe Flüssigkeit, sind ausgekleidet mit glatter Wand (mit chronischer Entzündung), stehen in Kommunikation mit Bronchien des Oberlappens. In der oberen Spitze des Unterlappens nur kleine bis erbsengroße Höhlen, glattwandig, fast leer. Bronchien etwas weit. Zahlreiche kleine Herde aus Gruppen von schwarzen und weißen Knötchen bestehend, daneben noch einige mit käsigem Aussehen. L. sind mehrere kleine über nußgroße Höhlen, die miteinander kommunizieren, sie enthalten roten, flüssigen Inhalt mit weißlichen Flocken. Ihre Wand ist nicht so stark gerötet wie r. Die Höhlen der obersten Spitze haben weiße membranöse Auflagerungen. Durch Verzweigung der Hohlräume bekommt die Spitze eine stark kavernöse Beschaffenheit. Neben diesen Kavernen weiße Streifen ohne deutliche Knötchen. Fettige Infiltration der Alveolen. Die Bronchien lassen sich in der vorderen Spitze des Oberlappens bis in die Höhlen hinein verfolgen. Ihre Schleimhaut ist stark gerötet, frei von Ulcerationen, Defekten und Knötchen. Im ganzen lufthaltigen Unterlappen zahlreiche Herde entsprechend denjenigen der äußeren Seite, bestehend aus

knötigen Strängen, die ramifizierend netzförmig miteinander verbunden sind. Ein Knötchen von 3 mm Durchmesser in solchen Netzendigungen. Lymphdrüsen steif, schiefrig, frei von käsigen Massen. Im Fundus laryngis eine weißliche Platte, darunter ein Krater, Randpartien weiß, deutlich Epithelbestand.

Nach dem Hilus der r. Lunge zu eine größere derbe Masse, bestehend aus verschiedenen kleinen Knoten der beschriebenen Art, bei denen Centren zu treffen sind, bronchiektatische Kavernen stark gefüllt mit grünlichem Eiter. Im Becken 15 ccm leicht trüber Flüssigkeit. Vorderer Teil der Milz ist teils mit dem l. Leberlappen, teils mit dem Zwerchfell verwachsen. Ein kleines Knötchen in der Milz stellt ein Netzpartikel dar. Milz 18:10:3, schlaff, weich, hellrot, nicht brüchig. Follikel nicht zu sehen. L. Niere sehr groß 13:5:4 $\frac{1}{2}$, weiße anämische Flecken, nichts von Knötchen. Nebenniere derb, platt, in der Rinde ziemlich fett, Kapsel etwas fest. An einer Stelle eine leichte Einziehung, die nicht in die Tiefe geht. — Im Magen sehr viel Flüssigkeit. Leber blutreich. Ileocökalstrang groß, derb. An der Oberfläche der immerhin nur mäßig großen Drüsen weißliche Stellen. In der Mitte des Dünndarms einige rote Stellen an der Serosa, den Peyerschen Plaques entsprechend, doch keine Knötchen wahrzunehmen. Im Dünndarm recht feste Massen nicht geballt. Im Jejunum hellgelbe Massen. Sehr starke epitheliale Abschilfrung. Im oberen Teil des Jejunum ist ein kleines in der Submucosa gelegenes Chylangiom. Im oberen Teil des Ileum flache Defekte, den Peyerschen Plaques entsprechend, teils gerötet, teils gelb gefärbt. Daneben einzelne Knötchen, nicht über erbsengroß, die auf Druck einen weißen Pfropf austreten lassen. Die meisten befinden sich in einem Geschwür über der Klappe, das bis in die Submucosa dringt. Ränder der Mucosa fetzig, siebartig, aber nirgends ein deutlicher Tuberkel im Grunde. Im Proc. vermif. reguläres Geschwür ohne Tuberkel. Ebenso zackige Ulcerationen im Colon mit zackigem Grunde ohne Spur von Knötchen.

Zwischen den beiden Schulterblättern, wo die Tebeaninjektionen vorgenommen worden waren, keine Narben. Am unteren Rand des Rhomboideus l. 7 cm von den Dornfortsätzen eine stark gerötete Stelle (wie Kapillarinjektion). Keine Knötchen. R. analog, aber auf den äußeren Rand des Rhomboideus übergehend eine diffuse Vaskularisation.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Phthisis pulmon. Bronchiektatische Kavernen. Peribronchitis. Cirrhosis pulmon. Heilungsgeschwüre in Darm und Fundus laryngis.

F. A., Dienstmagd, 41 Jahre. Pat. war früher angeblich nie krank. Seit November 1906 Husten mit Auswurf besonders morgens. Hie und da abends Fieber und Schweiß. Aufnahme 10. IX. 07.

Mäßiger Kräftezustand. Beiderseits eingesunkene Supra- und Infraclaviculargruben. R. Seite bleibt beim Atmen stark zurück. Ueber der r. Lunge vorn bis zum 4. Intercostalraum, hinten bis Mitte Scapula Bronchialatmen und klingende mittelgroßblasige Rasselgeräusche. R. hinten-unten nicht klingendes Rasseln. Das reichliche Sputum enthält zahlreiche

Tuberkelbacillen. Temperaturen unregelmäßig. Zacken bis 37,9. Ab und zu leichte Hämoptoen. 8. X. 07 $\frac{1}{20}$ mg Tebean, 16. X. $\frac{1}{10}$ mg, 26. X. $\frac{1}{8}$ mg. Keine Reaktionen. Pat. war fieberfrei bis zu ihrer Verlegung in die chirurgische Abteilung zwecks Operation einer eingeklemmten Cruralhernie Februar 1908. Nach ihrer Wiederaufnahme auf die Abteilung 22. II. 08 bewegten sich die Temperaturen zwischen 38,2 und 38,8. — Lungenbefund 20. III. 08: Dämpfung über beiden Oberlappen. Ueber der Dämpfung Bronchialatmen mit zahlreichen klingenden mittelgroßblasigen Rasselgeräuschen. R. hinten-unten sowie r. vorn-unten bronchovesiculäres Atmen mit nichtklingenden Rasselgeräuschen. Am 30. III. 08 erhielt Pat. $\frac{1}{4}$ mg Tebean. Die Temperaturen werden etwas niedriger, doch bleiben immer noch Zacken bis 38,4. Am 14. V. 08 verläßt Pat. die Abteilung, um in ihre Heimat zu gehen. Gewicht bei der Aufnahme 46 k, bei der Entlassung 52. Ende August ließ sich Pat. wieder aufnehmen. Ihr Körpergewicht betrug 49,5 k. Die Temperaturen waren subfebril mit gelegentlichen Steigerungen bis 38,8. Sie klagte weiter über Diarrhöen.

Am 4. IX. 08 erhielt sie eine weitere Tebeaninjektion von $\frac{1}{4}$ mg, die sie ohne Reaktion und Beschwerden ertrug. Am Thorax hatte sich allmählich eine starke Retraktion der r. Seite ausgebildet. Diese ganze Seite war gedämpft. Die Rasselgeräusche waren fast ganz geschwunden. Das Atemgeräusch war bronchial. Nur an einer Stelle r. hinten-unten war viel mittelgroßblasiges Rasseln zu hören. L. vorn sehr scharfes Atmen, l. hinten Bronchialatmen zu konstatieren. Das Herz war allmählich nach r. herübergezogen worden. — Das Fieber hielt in der Folgezeit an. Die Diarrhöen nahmen immer mehr an Intensität zu. Es traten Oedeme an den Beinen auf. Am 28. I. 09 erfolgte der Exitus.

Autopsie (Sekant Prof. Dr. Chiari).

Zwerchfell r. an der 3., l. an der 4. Rippe. Schilddrüse klein, blaß. In der Luftröhre sehr wenig Schleim. Ihre Schleimhaut blaß, ebenso die des Larynx. In der hinteren Wand des Larynx r. und l. von der Mittellinie je eine 3 mm große seichte Ulceration. Pharynx blaß. Tonsillen ohne Befund. R. Lunge an der Thoraxwand sehr fest angewachsen, so daß die Lösung nur ungemein schwer gelingt. Auch mit dem Herzbeutel ist die r. Lunge fest verwachsen. Das Herz deutlich nach r. verzogen. Die l. Lunge auffallend groß. In der l. Pleurahöhle 150 ccm rötlichen Serums. Die l. Lunge in ihrer Spitze angewachsen. Im Herzbeutel 200 ccm klaren Serums. Beim Einschneiden in die r. Lunge zeigte sich ihr Oberlappen in seiner Gänze von stark anthrakotischer Schwiele durchsetzt, in welcher mehrere bis 10 ccm große Kavernen zum Teil mit käsiger Wandung eingeschlossen sind. In der Nachbarschaft der Kavernen, in der Schwiele einzelne bis 1 ccm große käsige Infiltrate. Im Mittel- und Unterlappen auch einzelne bis 6 ccm große Kavernen mit zum Teil schwieligen Wandungen, von denen Narbengewebe in die Nachbarschaft ausstrahlt. Hier im Lungengewebe reichlich gallertige und käsige Infiltrate.

In der l. Lunge der Unterlappen fast ganz frei von Tuberkulose. Im Oberlappen reichlich meist in Gruppen aggregierte käsige Knötchen und

lobuläre käsige Infiltrate. In der obersten Partie des Unterlappens nur einzelne solcher Infiltrate. Sonst das Parenchym im allgemeinen von mittlerem Blutgehalt, wenig ödematös. Herz gewöhnlich groß. Klappen und Intima aortae zart. Oesophagusschleimhaut gerötet. Peribronchiale Lymphdrüsen zum Teil schwierig. In der Bauchhöhle 300 ccm einer leicht getrübbten serösen Flüssigkeit. Leber steatotisch. In der Gallenblase hellgrüne Galle. Milz und Nieren ziemlich blaß. Nebenniere auffallend derb elastisch. Schleimhaut der Harnblase ödematös. Genitale sehr blaß. Im r. Ovarium eine 1 ccm große seröse Cyste mit partiell verkalkter fibröser Wand. Entsprechend den Annul. crur. d. zarte, netzartige Narbenbildung im Peritoneum. Magen wenig ausgedehnt, seine Mucosa blaß. Im Dünndarm gallig gefärbte wässrig schleimige Massen, im Dickdarm dünnbreiige Fäces. Im Ileum zahlreiche zum Teil große gürtelförmige tuberkulöse Ulcera mit reichlichen Knötchen im Rande und Grunde. An einzelnen dieser Geschwüre leichte narbige Strikturierung des Darmes mit geringer Dilatation und Hypertrophie. Im Dickdarm und zum Teil auch im Proc. vermif. ausgebreitete, bis in das Rectum reichende Ulcera. In der unteren Hälfte des Dickdarms die Mucosa diffus geschwollen, leicht gerötet und stark gelockert. Das Epithel hier weißlich nekrotisch. Pankreas blaß. Die mesenterialen Drüsen des unteren Neums partiell verkäst. In der Mitte des unteren Randes des Omentum maj., das nirgends abnorm adhärent ist, eine leichte Verdickung. Mikroskopisch nirgends Amyloid.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Tbc. chron. pulm. c. phthis., Tbc. obsol. gl. l. peribr. Ulcera tbc. laryngis. Ulcera tbc. intestin. et gl. l. mes.

Von mittelschweren Fällen wurden im ganzen 17 behandelt. Hier erzielten wir selbstverständlich wesentlich bessere Resultate. Die Patienten stehen aber meistens noch nicht lange genug in Behandlung, um ein definitives Urteil abzugeben, ob in solchem Stadium noch eine völlige Heilung zu erzwingen ist. Doch seien hier einige der Beobachtungen mitgeteilt:

W. L., 20 Jahre alt, Schreiber. Eltern an Lungenschwindsucht gestorben. Seit längerer Zeit Nachtschweiße und Husten. Ab und zu kleinere Temperatursteigerungen. Infiltration des r. Oberlappens mit Bronchialatmen und Rasseln. Bronchovesikuläres Atmen über der l. Spitze. War in Heilstätte vom 22. VIII. 1907 bis 22. I. 1908, war von dort entlassen worden mit der Diagnose: „Katarrh der r. Lunge, nicht geheilt.“ Im Sputum Tuberkelbacillen. Pat. wird von uns ambulant mit Tebean behandelt. Er erhält am 11. IV. 1908, 14 VIII 1908, 31. X. 1908, 13. III. 1909, 21. VII. 1909 eine Injektion von je $\frac{1}{4}$ mg. Nach den Einspritzungen stellten sich meist leichte Temperatursteigerungen ein. Pat. konnte jedoch stets auf dem Bureau als Schreiber weiter arbeiten. Das Körpergewicht ist seit dem Beginn der Behandlung gleich geblieben. Bei der letzten Untersuchung, 19. IX. 1909, konstatieren wir, daß der Prozeß auf den r. Oberlappen mit Beteiligung der l. Spitze (cf. oben) beschränkt blieb.

D. M., 19 Jahre. Vater an Tuberkulose gestorben, Mutter tuberkulös. Vor 3 Jahren Bleichsucht. Pat. hustet seit 7 Monaten viel und nahm an Körpergewicht ab. 1. Aufnahme in die Abteilung 29. I. 1908 bis 23. III. 1908. Infiltration des l. Oberlappens mit Bronchialatmen und mittelgroßblasigem klingenden Rasseln. Beginnende Infiltration des r. Oberlappens, in der Hilusgegend klingende Rasselgeräusche. Reichliches Sputum mit zahlreichen Tuberkelbacillen. Abendliche Temperaturen bis 37,9. Leichte Kyphoskoliose. Injektion von $\frac{1}{4}$ mg Tebean. Keine Reaktion. 38. Pat. wird nach 7-wöchentlichem Aufenthalt in der Abteilung in eine Tuberkuloseheilstätte übergeführt, jedoch nach 14 Tagen von dort als ungeeignet zurückgeschickt. Der Lungenbefund war bei der Entlassung derselbe wie oben. Zu Hause war sie dann nicht mehr bettlägerig, aber auch nicht arbeitsfähig.

2. Aufnahme 4. I. 1909. Auch jetzt hatte der Prozeß keine weiteren Fortschritte gemacht. Auf Bettruhe minderten sich die Rasselgeräusche und der Auswurf. 20. III. 1909 $\frac{1}{4}$ mg Tebean. Im März hatte Pat. einen Fieberschub zu überstehen. In den letzten Monaten waren nur noch selten Abendtemperaturen zu konstatieren. Die Sputummenge ist jetzt gering, die Rasselgeräusche sind weniger geworden. Sonst ist der Lungenbefund genau wie früher.

2 Fälle, die an der Grenze zwischen mittel- und ganz schweren standen, sind uns zur Autopsie gekommen.

F. L., 31 Jahre, Brauereiarbeiter. Gesunde Eltern. Vor 8 Jahren Nierenentzündung. Seit Ende 1905 Stechen auf der Brust, Husten, Nachtschweiß. Januar 1906 3 Wochen bettlägerig. Vor einigen Jahren Gonorrhoe. Sehr starker Potus. Am Tag der Aufnahme, 19. II. 1906, sehr starke Hämoptoe. Dieselbe dauert 12 Tage an. Im spärlichen Sputum wenige Tuberkelbacillen. Anfangs Fieber bis 38,8. Später nur noch vereinzelt leichte Erhöhungen bis 37,9.

Thorax gut gebaut. L. vorn im 1. Intercostalraum, hinten bis zum 2. Proc. spin. dors. Schallverkürzung, darüber vesiculobronchiales Atmen mit feuchten, nicht klingenden Rasselgeräuschen, die hinten bis Mitte der Scapula herabreichen. L. hinten-unten geringe Dämpfung und schlechte Verschieblichkeit der Lunge. In der Folgezeit treten bis Ende Mai 1909 noch öfters kleine Hämoptysen auf. Bei Beginn der Tebeaninjektionen. 7. VI. 1906, war Pat. fieberfrei. Der Lungenbefund war im wesentlichen wie bei der Aufnahme, nur hörte man außerdem noch über dem ganzen l. Oberlappen vorn spärliches Rasseln, oben mittelblasig, mit etwas metallischem Beiklang, unten feuchtblasig. Im 4. r. Intercostalraum in der Axillarlinie etwas Reiben. Bronchovesikuläres Atmen über der r. Spitze mit etwas Schallverkürzung.

1.—14. VI. 3 Injektionen $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{100}$ mg. 16. VI. Spuren Blut im Sputum. Vom 18. VI. bis 2. VII. 5 Injektionen $\frac{1}{80}$, $\frac{1}{75}$, $\frac{1}{12}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{4}$ mg. 3. VII. abends Kopfschmerzen, Puls 120, Temperatur 38. 5. VII. $\frac{1}{2}$ mg, 6. VII. abends 38. 17. VII. $\frac{1}{2}$ mg. 18. VII. abends 39. 19. VII. 38.

Das Sputum nahm allmählich an Menge ab, keine Tuberkelbacillen mehr nachweisbar. 30. VIII. Spuren von Blut im Sputum, die am folgenden Tage wieder verschwunden waren. 11. IX. Entlassung in die Heilstätte Tannenberg. Dämpfung, L. oben mit spärlichen, klingenden Rasselgeräuschen und Bronchialatmen. R. oben bronchovesikuläres Atmen. Kein Fieber, kein Auswurf. Das Gewicht ist vom 19. III. 1906 bis 11. IX. 1906 von 65 auf 69 Kilo gestiegen.

Aufenthalt im Sanatorium 11. IX. bis 19. XI. 1906: 1. Befund (Dr. Scheib, Tannenberg): Erkrankung eines Teiles des l. Oberlappens und der r. Spitze. L. oben leichte Verkürzung des Schalls. Beiderseits besonders L. Atemveränderungen (bereits Narbenatmen). L. vereinzelt Knacken. Keine Bacillen im Auswurf. Bei der Entlassung wurde konstatiert: Symptome fortschreitender Vernarbung über beiden Oberlappen. Für 2—3 Jahre arbeitsfähig.

Nach Entlassung aus dem Sanatorium mußte Pat. während der 14-tägigen Schonungszeit auf Antrag des Kassenarztes wieder auf einige Tage im Hospitale aufgenommen werden, da er sich draußen des öfteren betrank (November 1906). Mit leichter Hämoptoe und gleichem Lungenbefund wie zuletzt, wurde F., der sehr gut genährt war, vom 9. VI. bis 14. VII. 1907 wieder aufgenommen. Er arbeitete dann wieder in der Brauerei und ergab sich, trotz aller Ermahnungen, in intensiver Weise dem Trunk.

8. X. 1907 Wiederaufnahme. Sehr schlechter Ernährungszustand. Pat. sieht sehr heruntergekommen aus, klagt über heftigen Husten und Atemnot. Ueber beiden Lungen, besonders in den oberen Partien, Dämpfung. Bronchialatmen und Rasseln, Leib aufgetrieben. Leber und Milz vergrößert. Bei der Aufnahme war keine Temperaturerhöhung zu konstatieren, doch notierte man bereits am folgenden Tage 40 mit hohem Puls etc. Schneller Verfall mit Delirien. Exitus am 24. X. 1907.

Autopsie: Sekant Dr. Tilp.

L. Lunge im Bereich des Oberlappens an ihrem hinteren Rande stark fixiert. Dieselbe stark infiltriert. In der Spitze eine unregelmäßig ausgebuchtete, nahezu hühnereigroße Kaverne von Käsemassen umgeben. Die restierende Substanz der Lunge diffus infiltriert, zum Teil käsig, zum Teil graurötlich, nach Art einer Laennec'schen Pneumonie. Die r. Lunge nur an der Spitze angewachsen. Letztere okkupiert von einer Gruppe kleinerer Zerfallshöhlen, ebenfalls von käsiger Infiltration umgeben. Das Parenchym von mittlerem Blutgehalt, durchsetzt von frischeren, käsigen Infiltraten, die in Form von größeren Knoten eingestreut liegen. Die peribronchialen Lymphdrüsen nur leicht vergrößert, wenig verkäst. Leber 31:21:5. An der Oberfläche und Schnittfläche etwas granuliert, derb. Granula im allgemeinen hanfkorn- bis linsengroß. In der Gallenblase dunkelbraune Galle. Milz vergrößert 20:11½:4½, von festweicher Konsistenz, blutreich. Auf der Schnittfläche läßt sich ziemlich reichlich Pulpa abstreifen.

Im Coecum sowie im Colon asc. einzelne, zirkulär angeordnete *Ulcera tuberculosa*. Im untersten Ileum, nahe der Bauhinschen Klappe, mehrere tuberkulöse *Ulcera*, deren größtes etwa 1 ccm mißt. Die regionären Lymphdrüsen des Darmes leicht vergrößert, partiell verkäst.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Tuberculos. chron. pulmon. cum phthisi. Tuberculos. chron. gland. lymph. peribronch. *Ulcera tubercul. intestini*. Tuberculos. chron. gland. lymph. mesaraic. Cirrhosis hepat., Tumor lienis chron.

N. A., Techniker, 48 Jahre. Vor 5 Jahren gastrisches Fieber. Seit 3 Wochen Husten. Am Morgen der Aufnahme so starke Hämoptoe, daß er ohnmächtig wurde. Stark abgemagerter Patient. Ueber dem l. Oberlappen Dämpfung mit Bronchialatmen und spärlichen, fast klingenden Rasselgeräuschen. Rechts Bronchovesikuläratmen. Sputum 25 ccm, enthält Tuberkelbacillen. Aufnahmetemperatur 38,9 am 26. X. 1906. Späterhin unregelmäßige Temperaturen bis 37,8.

5. XI.	$\frac{1}{40}$	mg Tebean,	Abendtemperatur	38,
6. XI.	$\frac{1}{20}$	„	„	38
7. XI.	$\frac{1}{20}$	„	„	38
8. XI.	$\frac{1}{10}$	„	„	38
9. XI.	$\frac{1}{10}$	„	„	38
10. XI.	$\frac{1}{8}$	„	„	38
12. XI.	$\frac{1}{8}$	„	„	38
13. XI.	$\frac{1}{4}$	„	abends	38,
19. XI.	$\frac{1}{4}$	„	„	38,2,
22. XI.	$\frac{1}{2}$	„	folgenden Abend	37,5,
26. XI.	$\frac{1}{2}$	„	„	37,7,
28. XI.	1	„	abends	39,2,
3. XII.	1	„	„	39,5.

Bis zum 9. XII. noch Temperaturen bis 38,8. Vom 10. ab fieberfrei.

12. XII. 2 mg, abends 38,8,

21. XII. „ „ 38,8,

22. XII. 2 „ „ 39, nächsten Mittag 38,2. Dann kein

Fieber mehr, nur ab und zu Zacken bis 37,8—38, die allmählich seltener werden. 15. II. 1907 nochmals Temperatursteigerung bis 39 mit Schmerzen in der l. Seite. Bis zur Entlassung 15. IV. 07 fieberfrei. Entlassungsbefund Einziehung über der l. Spitze, Dämpfung, die hinten bis zur Mitte der Scapula reicht. L. vorn und hinten-oben Bronchialatmen mit spärlichen Rasselgeräuschen, die im ganzen Interscapularraum zu hören sind. — Nach der Entlassung arbeitete N. wieder. Er lebte jedoch in der Folgezeit in sehr starkem Elend, so daß er sich nicht ordentlich ernähren konnte.

2. III. 09 Wiederaufnahme in sehr verwehrlosem Zustande. Ueber beiden Lungen Dämpfung mit Bronchialatmen und ausgebreitetem Rasseln. Fieber bis 38,5. Puls bis 120. Zeitweise Albumen im Urin. Zunehmender Verfall. Exitus 14. VI. 09.

Autopsie (Sekant Dr. Maschke).

Zwerchfell stand r. 5., l. 6. Rippe. Nach Eröffnung des Brustkorbes zeigen sich beide Lungen mit ihren Spitzen fest adhärent an der Pleura cost., l. stärker wie r. In der l. Pleurahöhle etwa 200 ccm, in der r. etwa $\frac{1}{2}$ L. einer gelblichen serösen Flüssigkeit. Lungen von derber Beschaffenheit. Auf der Schnittfläche zahlreiche, hantkorngroße gelbliche Knötchen, teilweise konfluierend. In beiden Oberlappen Kavernen, im l. eine größere. Geringe Bindegewebsentwicklung in der Umgebung der Kavernen. In den beiden Unterlappen noch spärliches lufthaltiges Gewebe, hier die Knötchen erheblich weniger zahlreich als in dem Oberlappen und im Mittellappen. Die peribronchialen Lymphdrüsen bis walnußgroß, schiefrig induriert, auf ihrer Schnittfläche miliare gelbliche Knötchen. — Im Herzbeutel 1 Eßlöffel klaren Serums. Herz an seiner Vorderfläche mit dem Herzbeutel in 5-Pfennigstückgroßer Ausdehnung verwachsen. Herz gewöhnlich groß, in der Spitze des r. Ventrikels Thromben. Leber: normale Größe, derbere Konsistenz. Oberfläche fein höckerig, Farbe gelbbraun. Auf dem Durchschnitt deutlich Läppchenzeichnung. Milz von normaler Konsistenz und Größe. Nieren zeigen granuliert Oberfläche, rotbraune Farbe. Rindensubstanz erscheint etwas schmaler. — Im ganzen Darm zahlreiche unregelmäßige Geschwüre. Die mesenterialen Lymphdrüsen, z. T. fast haselnußgroß, weisen auf dem Durchschnitt stellenweise starke Verkäsung auf.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Tubercul. chron. pulm. c. phtisi. Tbc. chron. glad. lymph. peribr. et mesaraic. Ulcera tuberc. intestini. Concretio part. cord. c. pericard. Vegetation globulos. cord. ventr. d.

Bei diesen beiden Fällen waren wir durch den Verlauf, den die Erkrankung nach der Behandlung zunächst nahm, zu den schönsten Hoffnungen berechtigt gewesen. Das geht deutlich aus den Lungenbefunden hervor. Nichtsdestoweniger ist der eine nach 13 Monaten, der andere nach 26 Monaten zugrunde gegangen. Die erzielte wesentliche Besserung hat also nicht stand gehalten. In beiden Fällen, das dürfen wir aber nicht vergessen, hatten wir schwere, weit vorgeschrittene Erkrankungen vor uns. Bei dem Patient F. war die Tuberkulose außerdem noch mit einer unheilvollen Komplikation vergesellschaftet, mit chronischem Alkoholismus. Er war ein unverbesserlicher Trinker und bei der Autopsie fand man denn auch neben der Tuberkulose noch eine Lebercirrhose. Wir brauchen ja nicht zu betonen, wie ungünstig gerade letztere Affektion den tuberkulösen Prozeß beeinflusst. Der andere Patient N. kam nach der Behandlung in traurige häusliche Verhältnisse zurück, er hatte direkt Nahrungssorgen. Wir hatten ihn in der langen Zeit von 2 Jahren aus den Augen verloren. Sonst

hätten wir uns entschlossen, ihn einer wiederholten Tebeankur zu unterziehen. Wie wir gesehen, dauert der Impfschutz bei der Tuberkulose bei sämtlichen bisher verwandten aktiven Immunisierungsverfahren höchstens 1 Jahr. Wir müssen daher für die menschliche Therapie daraus die Lehre ziehen, daß bei Patienten, die noch Zeichen bestehender Tuberkulose darbieten, die Injektion der Präparate alle 3—6—12 Monate zu wiederholen ist. Ganz besonders aber muß dies der Fall sein bei Individuen, die unter ungünstigen äußeren Verhältnissen leben und arbeiten müssen. Bei ihnen fehlt ja gerade das Moment der nicht spezifischen Resistenzerhöhung, das Patienten in günstigen Verhältnissen ja durch kräftige Ernährung, Pflege, Schonungsmöglichkeit usw. in so ausgiebiger Weise zu teil wird. Diesem Mangel müssen wir abzuhelpen suchen, indem wir durch die wiederholte Einverleibung der Tuberkelbacillenpräparate eine spezifische Resistenzerhöhung erstreben.

Von den nicht pulmonalen tuberkulösen Erkrankungen, die von uns behandelt wurden, seien folgende zwei erwähnt. Der erste war von vornherein als ein absolut aussichtsloser zu betrachten.

F. J., 31 Jahre, war am 31. V. 1905 in die chirurgische Spitalabteilung von Herrn Dr. Stolz wegen hochgradig ausgedehnter Knochen- und Drüsentuberkulose aufgenommen worden. Von Anbeginn Fieber bis 39. Die Abscesse wurden öfters punktiert, mit Jodoformglyzerin behandelt, die größeren auch inzidiert und ausgekratzt. Der Eiter aus den Abscessen blieb durchweg trotz mehrfacher Injektion von Jodoformglyzerin grüngelb rahmig und stinkend. Im Urin Eiweiß hyaline und epitheliale Zylinder.

Vom 18. V. bis 2. VII. 06 wurden ansteigend in 3—5-tägigen Intervallen von $\frac{1}{400}$ —2 mg Tebean injiziert. 16. VII. 06 Exitus.

Jedes Mal am Tage nach der Injektion erscheinen beim Verbandwechsel die sonst grau schmierig belegten Granulationsflächen und Fistelkrater frisch rot und blutend. Dieses Aussehen behalten sie 1—2 Tage, um dann wieder in ihren ursprünglichen Zustand zurückzukehren. Herabsetzung der Sekretion.

Autopsie (Sekant Dr. Schrumpf).

Gehirn recht groß, Venen wenige gefüllt. Substanz sehr blaß. In der Gegend des l. Corpus striatum und des Thalam. optic. walnußgroßer Erweichungsherd, welcher in seinem Zentrum direkt unter dem Corpus striat. bis zur Rinde und dem Chiasma einen harten glasig durchscheinenden Tumor enthält, offenbar einen Solitärtuberkel. Keine Tuberkel an der

Basis, keine Verdickung an der Pia. — Mächtige Drüsen am l. Unterkiefer, l. Achselhöhle. Darüber zahlreiche Fistelgänge. Ferner Fisteln über den Handrücken und über dem l. Knie. Starkes Oedem des r. Beines. — Totale Synechie des Herzbeutels. An den Rändern der Mitral- und Aortenklappen frischere, verrucöse Exkreszenzen. Myocard blaß, weich, von zahlreichen weißen Streifen durchzogen. — Die submaxillaren Drüsen sind bis taubenei-groß, verkäst, nicht erweicht. Im Rachen keine Geschwüre. Auf der Pleura nirgends Tuberkel, doch frische Ecchymosen. In beiden Unterlappen frische bronchopneumonische hämorrhagische Herde. Hauptstamm und Neben-stämme der Pulmon. mit wandständigen Thromben verstopft. R. schieferige Bronchialdrüsen ohne Verkäsung. Leichte Struma ohne Herde. — Milz groß, weich, einzelne erbsengroße harte Herde, nirgends miliare Knötchen. — Mesenterialdrüsen fast taubenei-groß, verkäst, nicht weich. — Leber stark atrophisch. Auf der Oberfläche einzelne kleine Fibrome der Glisson'schen Kapsel. Daneben graue Knötchen, nirgends aber miliare Lymphome. — L. Niere recht groß, weich. Rinde stellenweise undurchsichtig, fettreich. R. Niere ebenso wie die l. ohne käsige frische tuberkulöse Veränderungen. — Thrombose der Iliaca und Femoralis rechts. — Gelenkpfanne des l. Humerus und Scapula ist mit schwarzer Schmiere gefüllt als Zeichen älterer Blutung, kein Eiter, Gelenkflächen rau.

Pathologisch - anatomische Diagnose: Solitärtuberkel im Thalamus. Multiple käsige Lymphadenitis und Ostitis. Frische Myo- und Endocarditis. Bronchopneumonie. Thrombose der Ven. Femor. subsequeute Lungenembolie.

B. M., 20 Jahre, Arbeiterin. Aufnahme 7. VI. 06. 2 Monate vorher Stechen im Leib mit täglichem Erbrechen, das in letzter Zeit eher seltener geworden. Der Leib hat an Umfang zugenommen. Tuberkulöse Peritonitis mit freiem Erguß, Spina ventos. des r. Zeigefingers. Temperatur unregelmäßig bis 37,8. Puls 120. Umfang des Leibes 85 cm. Derselbe nimmt anfangs auf Schmierseife und Salzäder sowie salzarme Diät bis auf 78 cm ab, dann aber wieder auf 84 zu. Nach 1 Monat ebenfalls noch 84. Urinmenge 800—1200, spez. Gewicht 1018—1020. 7. VIII. 06 $\frac{1}{100}$ mg Tebean. 10. VIII. $\frac{1}{50}$, 13. VIII. $\frac{1}{25}$, 17. VIII. $\frac{1}{12}$. Leibesumfang 84, 21. VIII. $\frac{1}{8}$ kleine Reaktion, 28. VIII. $\frac{1}{9}$. Leibesumfang 82, Urinmenge nimmt zu. Kleine Reaktion 38,3. Der Leib nimmt allmählich ab, so daß am 21. IX. 06, an welchem Tage sie auf die chirurgische Abteilung II zwecks Operation der Spin. verlegt wurde, kein deutlicher Erguß mehr nachzuweisen war.

Von der chirurgischen Abteilung wurde Patient nach Hause entlassen und war bis Weihnachten 06 wieder arbeitsfähig. Von da ab begann der Leib wieder anzuschwellen. Wiederaufnahme 17. I. 07. Da wir in der Zwischenzeit bei Patient G. X., dessen Krankengeschichte wir als die nächste mitteilen, viele Abszesse auf die Tebeaninjektionen erhalten und daher bis Ablauf der mit dem Eiter angestellten Meerschweinchenversuche 6 Monate lang die Tebeantherapie sistiert hatten, wurde die Kranke zwecks Operation auf die chirurgische Abteilung verlegt. Es wurde dort Laparotomie ausgeführt und Pat. ist seither gesund.

Von leichten Fällen verfügen wir nur über sehr wenige. Wir wollten eben erst die Methodik an schweren Fällen ausprobieren. Bei den leichten Kranken hat die Beurteilung eine sehr vorsichtige zu sein. Man muß einmal die Patienten über lange Jahre hin beobachten und dann berücksichtigen, daß Tuberkuloseerkrankungen in den allerersten Stadien auch spontan zur Ausheilung kommen. Von unserem ersten allerdings schwereren Falle wollen wir diese Krankengeschichte mitteilen. Derselbe ist bis jetzt als geheilt zu betrachten. Er ist, wie oben bereits kurz erwähnt, durch das Auftreten von multiplen Abszessen besonders interessant geworden.

G. X., 19 Jahre, Schreiner. Familie gesund. Selbst nie krank. Aufnahme 6. IX. 1906. Hämoptoe vor 1 und 2 Tagen, 2 Trinkgläser voll Blut. Ueber der l. Spitze Rasseln, im Sputum keine Tuberkelbacillen. Glatter Verlauf. Entlassung 12. X. 1906 in das Erholungsheim. 4 und 6 Tage später erneute Hämoptoe. Deswegen neue Aufnahme 19. X. 1906. Knistern über beiden Lungenspitzen vorn, desgleichen L. hinten-oben. Im sehr spärlichen Sputum lassen sich diesmal Tuberkelbacillen nachweisen. Nach 11 Tagen kein Blut im Sputum mehr. Tägliche Sputummenge jetzt 20—40 ccm. Geringes Fieber. Temperaturen schwanken zwischen 36,8 und 37,5.

- | | | | |
|--------------|--------------------|---------|---|
| 31. X. 1906 | $\frac{1}{100}$ mg | Tebean. | |
| 1. XI. 1906 | $\frac{1}{40}$ | " " | |
| 2. XI. 1906 | $\frac{1}{20}$ | " " | |
| 3. XI. 1906 | $\frac{1}{10}$ | " " | Kopfschmerzen. |
| 6. XI. 1906 | $\frac{1}{10}$ | " " | Kleine Reaktion. |
| 9. XI. 1906 | $\frac{1}{10}$ | " " | Am 2. Tag abends 38,7. |
| 12. XI. 1906 | $\frac{1}{8}$ | " " | |
| 13. XI. 1906 | $\frac{1}{8}$ | " " | abends 38,8, nach 2 Tagen fieberfrei. |
| 19. XI. 1906 | $\frac{1}{4}$ | " " | " 37,5. |
| 22. XI. 1906 | $\frac{1}{4}$ | " " | " 37,5. |
| 26. XI. 1906 | $\frac{1}{2}$ | " " | " 38,4, folgenden Tag 38,6, 3. Tag 38,2, dann fieberfrei. |
| 5. XII. 1906 | 1 | " " | abends 38,5, folgenden Tag 38,7, 3. Tag 37,8. |

Von da ab bewegte sich die Abendtemperatur zwischen 37,4 und 37,6, erreichte einmal 39, dann später 38,5. 20. XII. An der letzten Injektionsstelle kleiner Abszeß zu konstatieren. 22. XII. An mehreren Injektionsstellen (6) Abszesse. Dieselben entleeren sich zum Teil spontan, zum Teil auf 1- bis mehrmalige Punktionen. Die letzten Abszesse füllen sich vom 20. II. 1907 ab nicht mehr neu. Von da ab glatte Heilung und später ist nur noch Einstich- resp. Perforationsstelle nachweisbar. Die Temperaturen werden wieder normal. Das Gewicht des Pat., das anfangs 63,5 kg betragen

hatte, dann zu Beginn der Injektionen auf 60,5 gefallen war, erreichte bei der Entlassung am 4. III. 1907 70 kg. Ueber der Lunge ist nur noch geringe Schallverkürzung L. vorn bis zur 2. Rippe und bronchovesikuläres Atmen nachweisbar. Auswurf verschwunden. Pat. kommt auf mehrere Wochen in die Heilstätte Saales, verläßt dieselbe mit 78,5 kg Körpergewicht. Der Befund besteht in geringer Schallverkürzung und Narbenatmen L. Pat. ist seither völlig gesund und arbeitsfähig geblieben, hat eine schwere Stelle als Schreinereselle in Paris (Montmartre) übernommen. Er stellte sich zuletzt in blühendem Zustande am 23. IX. 1909 vor. Wir fanden nur verschärftes Atmen über beiden Supraklavikulargruben. Kein Husten, kein Auswurf.

Wir hatten in diesem und übrigens auch in anderen Fällen direkt den Eindruck, als ob das Auftreten von Abszessen den Verlauf der tuberkulösen Erkrankung in günstigem Sinne beeinflußt. Anfangs allerdings verursachten uns die Abszesse Sorge und wir machten in der Tebeantherapie eine Pause von über 6 Monaten, um uns während dieser Zeit mit völliger Sicherheit zu überzeugen, daß der Eiter der Abszesse, auf Meerschweinchen überimpft, sich als völlig steril erweist.

Die übrigen Anfangsfälle nahmen vorläufig ihren günstigen Verlauf, wie man ihn aber auch sonst bei zweckmäßiger Behandlung sieht. Sie wurden nach der Entlassung Heilstätten zugewiesen und sind unseres Wissens bis jetzt nicht wieder erkrankt.

Die uns befreundeten Herren Kollegen A. Fränkel und L. Steffen in Badenweiler haben das Tebean bisher in 9 Fällen angewandt. Sie werden später, wenn sie über ein größeres Material verfügen, ihre Erfahrungen veröffentlichen. Vorläufig haben sie uns in überaus freundlicher und dankenswerter Weise gestattet, folgende kurze Daten mitzuteilen. „Es sind im ganzen 9, alles schwere, teils chronische, teils akute Fälle. 2 mußten vorzeitig abgebrochen werden. Bei einem zeigte sich kein sichtbarer Erfolg, er starb während der Behandlung. Die übrigen reagierten alle in ausgezeichnete Weise. 2 akute, wohl die schwersten Prozesse, die ich je gebabt habe, sind ausgeheilt, ein dritter ist stationär geworden, auch ein sehr schwerer Fall. Die 3 anderen, ganz chronische, schwerste Prozesse zeigten während der Behandlung so deutliche Merkmale einer Besserung, teils subjektiv, teils objektiv,

daß man den günstigen Einfluß wohl nicht gut leugnen kann; sie sind, wie nicht anders zu erwarten, kürzere oder längere Zeit darauf gestorben.“

Für die therapeutische Verwendung des Tebeans empfehlen wir jetzt folgendes Vorgehen. Bei fieberhaften Patienten und in Fällen, bei denen eine längere Krankenhausbehandlung möglich ist, beginnt man mit $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{20}$ mg und steigt wenn möglich unter Verdoppelung der Dose bis auf 4 mg und unter Umständen darüber. Wöchentlich werden 1—2, bei den großen Dosen von $\frac{1}{4}$ mg ab 1 Injektion ausgeführt. Stellen sich stärkere Reaktionen ein, so muß man so lange mit der nächsten Einspritzung warten, bis der Organismus sich wieder erholt hat. Man nimmt dann eine Dose, die ein ganz klein wenig stärker ist wie die vorhergehende, nach der eben die Reaktion aufgetreten ist. Kommt es dann wiederum zu einer Reaktion, so geht man mit der Dose etwas zurück.

Bei prophylaktischen Impfungen sowie bei leichteren Fällen, die man nicht ständig unter Augen behalten kann, injiziert man gleich $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{4}$ mg. Die weiteren Einspritzungen erfolgen 3—6 Monate später. Zu ihnen nimmt man jedesmal Dosen, die etwas stärker sind als die letztvorhergehende.

Wir verfügen zur Zeit über keine Methode zur Kontrolle, wann eine neue Einspritzung nötig und wie hoch die Dosierung zu bemessen ist. Weder die Bestimmung der Opsonine nach Wright, noch diejenige der Agglutinine haben absolut sichere Anhaltspunkte ergeben. Wir müssen genau wie bei der Kochschen Tuberkulintherapie uns auf die klinischen Symptome, auf die allgemeinen und die lokalen Reaktionen verlassen.

Bei der spezifischen Therapie der Tuberkulose muß man noch mit der Möglichkeit rechnen, daß einzelne Fälle von menschlicher Tuberkulose nicht vom Typus humanus, sondern vom Typus bovinus, event. vielleicht sogar von einer anderen Varietät hervorgerufen werden. Auch hiergegen kann man vorgehen, indem man, um keine Zeit zu verlieren, die Behandlung zunächst mit Tebean, das ja aus menschlichen Tuberkelbacillen dargestellt ist, beginnt und sich unterdessen

den eigenen Stamm des betreffenden Patienten züchtet. Die zweite Injektionsserie etc. vollführt man dann mit einem Präparat, das mit diesem Eigenstamm verfertigt wurde. Wenn man nicht die Möglichkeit hat, diese eigenen Tuberkelbacillen durch Galaktose abtöten zu lassen, so kann man sie auch mit 80 Proz. Glycerin bei 37° zum Absterben bringen. In einer Konzentration von 1 mg Bacillen auf 1 ccm 80-proz. Glycerin ist die Abtötung nach 48 Stunden sicher vollendet¹⁾. Nur darf man nicht vergessen, daß die glycerinierten Bacillen sofort gebraucht werden müssen, da das Glycerin sich nicht entfernen läßt und infolgedessen weiter auf die Bakterienleiber einwirkt und so deren immunisierende Kraft allmählich schädigt. Im übrigen besitzen aber gerade im Moment der Abtötung die glycerinierten Bacillen im Tierexperiment ausgezeichnete antigene Eigenschaften.

Die mit Glycerin resp. Galaktose vorsichtig abgetöteten Tuberkelbacillen können außerdem noch mit Immunsorum bequem sensibilisiert und so zur kombiniert aktiv-passiven Behandlung verwandt werden²⁾.

Die Behandlung der tuberkulös Erkrankten mit vorsichtig gewonnenen Tuberkelbacillenleiberprodukten wird besonders mit Tebean auf der medizinischen Abteilung des Herrn Prof. A. Cahn auch weiterhin in energischer Weise durchgeführt werden.

Zusammenfassung.

Die Arbeit berichtet über die Behandlung von Tuberkulösen verschiedener Stadien mit „Tebean“, das sind in 25-proz. Galaktose 4½ Tage bei 37° geschüttelte und dann im Vakuum eingedampfte menschliche Tuberkelbacillen.

1) E. Levy, F. Blumenthal und A. Marxer, Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 46.

2) Vergl. die einschlägigen Verhältnisse für Streptokokken bei E. Levy und A. Hamm, Münchener med. Wochenschr., 1909, No. 34.

Nachdruck verboten.

[Aus den Runcorn Research Laboratories der Liverpool School of Tropical Medicine.]

Ueber den Mechanismus der Entstehung der Hämoglobinurie bei Infektionen mit *Piroplasma canis*.

Von **J. O. Wakelin Barratt** und **Warrington Yorke**.

Mit 5 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. November 1909.)

Es ist eine wohl bekannte Tatsache, daß Hämoglobinurie sehr oft im Gefolge von Piroplasmainfektion bei Hunden und Rindern auftritt, insbesondere bei Fällen von schwerer Erkrankung; leichte Infektionen indessen gehen häufig ohne dieses Symptom vorüber. Mit Rücksicht auf die Ursache der Entstehung der Hämoglobinurie wurde schon von Nocard und Motas¹⁾ beobachtet, daß das Blutserum eine rötliche Färbung zeigte; doch eine quantitative vergleichende Bestimmung der Hämoglobinmenge im Blutplasma und im Harn in Fällen, wo Hämoglobinurie deutlich ausgesprochen war, ist, soweit uns die Literatur zugänglich, noch nicht vorgenommen worden, so daß es, unserer Meinung nach, noch eine offene Frage ist, ob in der Tat die Hämoglobinurie in Piroplasmainfektion eine Folge der Hämoglobinämie ist oder nicht. Koch²⁾ hatte schon früher in Fällen von Texasfieber darauf hingewiesen, daß ein Zusammenhang zwischen dem Grade der Hämoglobinurie und der Parasitenzahl bestehe, in der Weise, daß jene am deutlichsten ausgesprochen ist zu einer Zeit, wo das Blut mit Parasiten überschwemmt ist, obwohl die Parasiten nicht verschwinden, sondern nur während des Anfalles in Zahl vermindert sind.

1) Piroplasmose canine, Annales de l'Institut Pasteur, 1902, T. 16, p. 261. Ein ziemlich vollständiges Literaturverzeichnis mit Rücksicht auf Piroplasmose enthält Christophers und Bentleys Monograph über *Piroplasma canis* and its life cycle in the tick, Scientific Memoirs by Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India, No. 29, Calcutta 1907; auch Nuttall, Journ. of Parasitology, 1909, Vol. 2, p. 156.

2) Ueber Schwarzwasserfieber, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten, 1898, Bd. 30, p. 295.

Zum Studium des Mechanismus der Entstehung der Hämoglobinurie wurde, wegen der leichten Beschaffung des Materials, Hundepiroplasma verwendet, da wir so in die Lage gesetzt waren, die Krankheit in den verschiedenen Stadien, insbesondere nach dem Auftreten von Hämoglobinurie vergleichend zu untersuchen, mit Rücksicht auf die roten Blutkörperchen, das Blutplasma und den Harn. Im Verlauf der Arbeit schien es dann notwendig, das Totalvolumen des Blutes des Versuchstieres zu bestimmen, ferner die Veränderungen des Totalvolumens der roten Blutkörperchen und des Plasmas.

Technik.

Für die folgenden Beobachtungen wurden zwei Methoden in Anwendung gebracht, die eine für die Bestimmung des gelösten Hämoglobins im Blutplasma und Harn, die andere für die Bestimmung des Totalvolumens des zirkulierenden Blutes im lebenden Tiere. Die Prozentzahlen des gefundenen Hämoglobins in den folgenden Experimenten beziehen sich auf eine äquivalente Menge von Hämoglobin, herkommend von normalen roten Blutkörperchen. So z. B., wenn angegeben wird, daß der Harn 1 Proz. Hämoglobin enthält, so soll damit ausgedrückt werden, daß der Harn so viel Hämoglobin enthält, als durch Auflösung von 1 Volumprozent von normalen roten Blutkörperchen im Harn erhalten würde. Diese Ausdrucksweise wurde jener vorgezogen, bei der die Prozentzahlen mit Rücksicht auf das tatsächliche Gewicht des Hämoglobins angegeben werden, da dabei die Schwierigkeit auftritt, was man eigentlich als reines Hämoglobin anzusehen habe.

Die Bestimmung des Hämoglobingehalts wurde so vorgenommen, daß mit Hilfe des v. Fleischl'schen Hämoglobinometers oder eines Vergleichsspektroskopes die zu untersuchenden Flüssigkeiten mit einer Lösung von einer bekannten Menge von normalen roten Blutkörperchen in einer abgemessenen Menge destillierten Wassers verglichen wurde. Die weiteren Details dieser Methode sind bereits in einer früheren Arbeit veröffentlicht¹⁾.

1) J. O. W. Barratt und W. Yorke, The mechanism of production of blackwater. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1909, Vol. 3, p. 1.

Die Bestimmung des Totalvolumens der roten Blutkörperchen und des Plasmas wurde in der Weise vorgenommen, daß zunächst mittels des Hämokrits die Volumenzusammensetzung des Blutes bestimmt wurde. Hierauf wurde intravenös eine bestimmte Menge von Hämoglobin injiziert und von dem Grade der resultierenden Hämoglobinämie der Gesamtplasmagehalt des Blutes berechnet. Für die Details der Methode vergl. unsere früheren Publikationen¹⁾.

Hämoglobinurie.

In der vorliegenden Arbeit werden nur jene Experimente berücksichtigt (im ganzen 9), bei denen die Infektion mit *Piroplasma canis* von Hämoglobinurie begleitet war. In allen

Tabelle I.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobach- tungs- zeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der in- fizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumen- verhältnis	Verhältnis des Blut- gewichts zum Körper- gewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobin %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
0 Tg. 0 ^b	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>	2200	.	34,3	.	1 : 20,5	38	69	107	0,08	
0 „ 11 ^b	.	.	.	35,0	0,70	0,06	
0 „ 15 ^b	0,06	
1 „ 0 ^b	.	.	keine Parasit. beobachtet	0,18	kein koagu- lierbares Ei- weiß
1 „ 12 ^b	.	.	0,1	40,6	0,63	0,12	dgl.
1 „ 15 ^b	.	.	0,1	40,8	0,78	0,30	dgl.
1 „ 23 ^b	.	.	0,1	40,8	0,78	0,36	dgl.
2 „ 3 ^b	0,52	dgl.
2 „ 22 ^b	.	.	4,0	24,3	0,70	3,53	schwarzrot, enthaltend 12,6 Proz. Hämoglobin

1) J. O. W. Barratt und W. Yorke, A method of estimating the total volume of blood contained in the living body. Proceedings of the Royal Society of London, 1909, Series B, Vol. 81, p. 381.

angeführten Experimenten, mit einer einzigen Ausnahme, blieb die Hämoglobinurie bis zum Tode des Tieres bestehen; in dem einen Falle hingegen (Tabelle IX) verschwand die Hämoglobinurie vor Beendigung des Experiments. In den Tabellen I—X und Figuren 1—5 sind die Resultate unserer Beobachtungen niedergelegt. Hämoglobinurie wurde in der Regel 36—60 Stunden nach der Blutinokulation beobachtet.

Anfänglich ist im Harn nur eine ganz geringe Menge von Hämoglobin vorhanden. Im Verlaufe der Infektion nimmt diese zu und zur Zeit des Todes konnten wir zwischen 6,1 Proz. (Tabelle III, Fig. 3) und 19,5 Proz. (Tabelle I, Fig. 1) gelösten Hämoglobins nachweisen. Im Harn dieser Fälle fanden

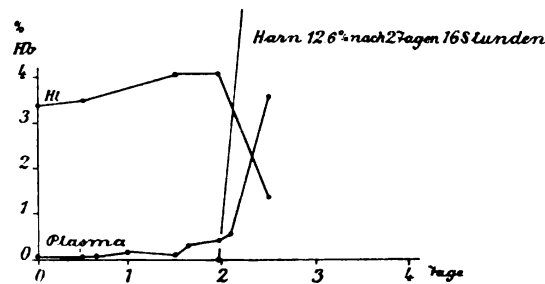


Fig. 1. Graphische Darstellung des Hämoglobingehaltes des Blutplasmas und des Harns des in Tabelle I angeführten Experiments und gleichzeitig die mittels Hämokrit erhaltenen Werte (*Ht*) der roten Blutkörperchen (im Verhältnis 1 : 10).

sich immer braune granulierte Zylinder, wie ebensolche bei Schwarzwasserfieberfällen beobachtet wurden. Längeres Verweilen des Harnes, sei es in der Blase, sei es außerhalb des Körpers bei Zimmertemperatur, bringt eine Farbenveränderung von tief dunkelrot zu bräunlich-schwarz hervor, wie wir ebenfalls ähnliches bei Schwarzwasserfieber beobachten konnten. Niemals enthielt das Sediment rote Blutkörperchen.

Hämoglobinämie.

Normalerweise war im Blutplasma gesunder Hunde nur eine ganz geringe Menge von gelöstem Hämoglobin nachzuweisen. Diese betrug gewöhnlich 0,04—0,25 Proz., nur in einem einzigen Falle stieg die Prozentzahl auf 0,34 Proz. Nach der intraperitonealen oder subkutanen Injektion von parasitenhaltigem Blute erfuhr während der ersten zwei Tage die

Menge des gelösten Hämoglobins keine deutliche Zunahme. Späterhin aber wurde die Hämoglobinämie immer ausgesprochener, und zur Zeit des Todes wurden in der Regel 2—5 Proz. freien Hämoglobins im Plasma beobachtet. Nur in einem einzigen Experimente (Tabelle IX) fand eine Abweichung von dem oben beschriebenen Verhalten statt; es

Tabelle II.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
3 Tage vor der Infektion	Intravenöse Injektion von 4 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 1,06 ccm normaler rot. Blutkörperchen	2220	.	32,1	0,82	1 : 13,2	53	113	166	0,34 [1,25] ¹⁾	
0 Tg. 0 ^h	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>										
0 „ 22 ^h	.	2200	.	38,9	0,87	0,25	
1 „ 4 ^h	0,14	
1 „ 19 ^h	.	.	weniger als 0,1 dgl.	29,0	0,86	0,11	
1 „ 23 ^h	Temperatur 40,1° C	.	dgl.	0,15	
2 „ 5 ^h	„ 40,4° C	2100	dgl.	26,0	0,84	0,14	kein koagulierbares Eiweiß
2 „ 18 ^h	„ 39,9° C	.	1,5	22,5	1,00	1,14	bräunlich, enthaltend 0,3 Proz. Hämoglobin
2 „ 21 ^h	.	.	13,0	18,0	0,92	1,90	rot, enthaltend 4,2 Proz. Hämoglobin
3 „ 2 ^h	Temperatur 39,2° C	.	4,5	8,5	2,50	schwarzrot, enthaltend 19,5 Proz. Hämoglobin

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

wurde 0,67 Proz. freien Hämoglobins im Plasma beobachtet, dabei zeigte letzteres eine deutlich rötliche Färbung. Die Hämoglobinämie schritt jedoch nicht weiter fort, sondern nach ca. 16 Stunden war das Plasma beinahe normal gefärbt. Auch die Hämoglobinurie, die früher deutlich ausgesprochen war, klang vollständig ab.

Es sei hier hingewiesen, daß bei diesen Versuchen, wenn der Hämoglobingehalt des Plasmas 0,5 Proz. betrug, dasselbe in einer Dicke von 3—4 mm, zwar nur in geringem Grade, aber deutlich rötlich gefärbt war. Bei einem größeren Prozentgehalt war das Plasma bis rubinrot gefärbt.

Beziehung zwischen Hämoglobinämie und Hämoglobinurie.

Die Beobachtungen in Tabellen I—V und in Figuren 1—5 weisen darauf hin, daß Hämoglobinurie von einer Hämoglobinämie begleitet und von derselben abhängig ist. Wenn letztere

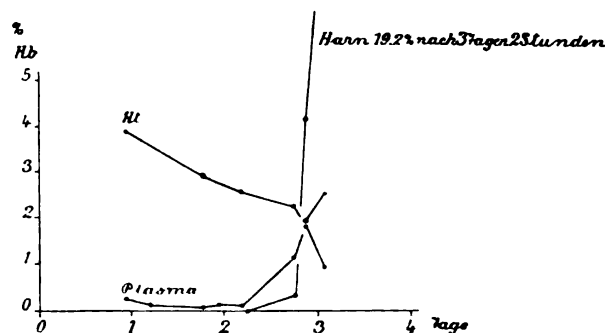


Fig. 2. Graphische Darstellung des Hämoglobingehaltes des Blutplasmas und des Harnes des in Tabelle II angeführten Experiments und gleichzeitig die mittels Hämokrit erhaltenen Werte (*Ht*) der roten Blutkörperchen (im Verhältnis 1 : 10).

deutlich ausgesprochen ist, so ist erstere auch deutlich ausgesprochen. Wir haben bereits früher gezeigt¹⁾, daß im Falle der experimentellen Hämoglobinurie beim Kaninchen der Prozentsatz des im Harn auftretenden Hämoglobins das des Blutplasmas bei weitem übertreffen kann. Dieselben Verhältnisse können auch bei Hunden, die mit *Piroplasma* infiziert sind, beobachtet werden, wie Figuren 1—5, die die Resultate

1) *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1909, Vol. 3, p. 78.

von Tabellen I—V schematisch darstellen, beweisen. In Fig. 1 z. B. konnte im Harn 12,6 Proz. Hämoglobin nachgewiesen werden, während im Blutplasma nur 3,5 Proz. vorhanden war. Die Schemata 1—5 zeigen ferner, daß Hämoglobin im Harne erst dann auftrat, wenn die im Blutplasma vorhandene Hämoglobinmenge 0,5 Proz. erreichte. Im Falle einer geringgradigen Hämoglobinämie konnte im Harne Hämoglobin weder spektroskopisch nachgewiesen werden, noch konnte koagulierbares Eiweiß bei Ansäuern und Kochen ausgefällt werden.

Tabelle III.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen cem	Plasma cem	Gesamtvolumen cem		
0 Tg. 0 ^b	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>	2550	.	36,0	0,81	1 : 2,7	34	60,5	94,5	0,06	.
0 „ 9 ^b	0,03	.
0 „ 15 ^b	.	.	.	30,6	0,05	.
0 „ 21 ^b	0,04	.
1 „ 6 ^b	.	.	.	32,0	0,04	.
1 „ 9 ^b	.	.	weniger als 0,1	36,0	0,75	0,07	kein koagulierbares Eiweiß
1 „ 15 ^b	0,05	.
1 „ 22 ^b	.	.	dgl.	0,06	dgl.
2 „ 3 ^b	0,08	.
2 „ 10 ^b	.	.	0,1	32,2	0,82	0,50	leichte Trübung beim Kochen
2 „ 15 ^b	.	.	0,1	0,47	wenig Niederschlag beim Kochen
2 „ 21 ^b	.	.	1,2	26,5	0,80	1,91	schwarzrot, enthaltend 8,2% Hämoglobin
3 „ 4 ^b	.	.	.	19,0	0,76	5,12	schwarzrot enthaltend 6,1% Hämoglobin

Prozentzahl der roten Blutkörperchen im Blute mit Rücksicht auf die Hämoglobinämie.

In unseren Experimenten betrug das Volumprozent der roten Blutkörperchen nach Hämokritbestimmungen zur Zeit

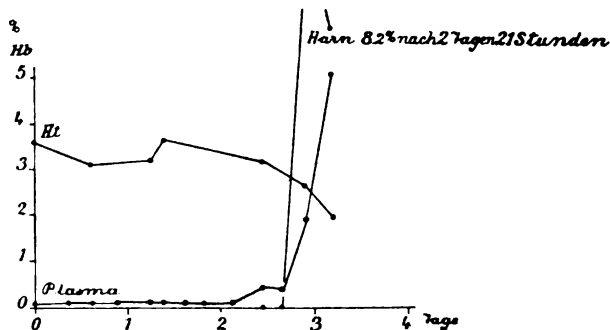


Fig. 3. Graphische Darstellung des Hämoglobingehaltes, des Blutplasmas und des Harnes des in Tabelle III angeführten Experiments und gleichzeitig die mittels Hämokrit erhaltenen Werte (*Ht*) der roten Blutkörperchen (im Verhältnis 1:10).

der Inokulation zwischen 32 und 46 Proz. Während der der Inokulation folgenden zwei Tage wurden nur ganz unbedeutende Abweichungen im Sinne einer Vermehrung oder Verminderung festgestellt (Tabellen I—X und Figuren 1—5). Am 3. und 4. Tage hingegen konnte dann ein deutlicher und langsam fortschreitender Abfall der Volumprozentzahlen der roten Blutkörperchen festgestellt werden. In den Experimenten auf Tabellen II und IV betragen die Ablesungen 8,5 resp. 6,5 Proz.; die geringsten Werte wurden zur Zeit

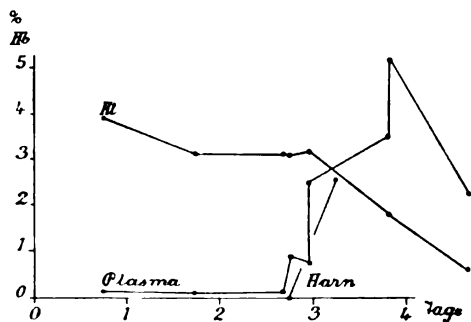


Fig. 4. Graphische Darstellung des Hämoglobingehaltes des Blutplasmas und des Harnes des in Tabelle IV angeführten Experiments, und gleichzeitig die mittels Hämokrit erhaltenen Werte (*Ht*) der roten Blutkörperchen (im Verhältnis 1:10).

des Todes gefunden. Es war bemerkenswert, daß selbst bei so ausgesprochenem Niedergang der roten Blutkörperchen nur ein einziges Mal Dyspnoe beobachtet wurde und da nur wenig ausgesprochen. Der Abfall der Anzahl der roten Blutkörperchen

Tabelle IV.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobach- tungs- zeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der in- fizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumen- verhältnis	Verhältnis des Blut- gewichts zum Körper- gewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämog- lobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
3 Tage vorder Infek- tion	Intravenöse Injek- tion von 7 ccm Flüssigkeit, ent- haltend die Hämog- lobinmenge aus 1,85 ccm normaler rot. Blutkörperchen	2850	.	36,9	0,91	1 : 12,5	84,5	144,5	229	0,20 [1,22] ¹⁾	.
0 Tg. 0 ^a	Infiziert mit Proto- plasma canis	2940
0 „ 18 ^b	.	.	.	39,0	0,80	0,20	.
1 „ 18 ^b	.	.	weniger als 0,1	32,2	0,82	0,13	.
1 „ 22 ^b	Temperatur 40,4° C	.	agl.	0,16	.
2 „ 16 ^b	„ 40,8° C	2850	agl.	31,5	0,78	0,16	.
2 „ 18 ^b	„ 40,5° C	.	0,4	31,0	0,85	0,87	strohgelb, kein Hämog- lobin
2 „ 23 ^b	Intravenöse Injek- tion von 6 ccm Flüssigkeit, ent- haltend die Hämog- lobinmenge aus 2,11 ccm normaler rot. Blutkörperchen	.	4,0	32,0	0,87	0,74 [2,46] ¹⁾	.
3 „ 6 ^b	Temperatur 40,4° C	2750	2,5	schwarzrot, enthaltend 2,6% Hämog- lobin
3 „ 19 ^b	Intravenöse Injek- tion von 10,9 ccm Flüssigkeit, ent- haltend die Hämog- lobinmenge aus 3,17 ccm normaler rot. Blutkörperchen	2550	4,8	17,5	0,81	1 : 11,8	.	.	.	3,48 [5,16] ¹⁾	.
4 „ 16 ^b	Temperatur 37,2° C zur Zeit des Todes. Haut und Sklera tief gelb	.	12,0	6,5	1,00	2,20	.

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

im Blute vollzog sich gewöhnlich im Beginne sehr langsam, nahm aber späterhin sehr rasch zu, wie Figuren 1—5 deutlich zeigen.

Tabelle V.

Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
2 ^h vor der Infektion	Intravenöse Injektion von 5 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 1,73 ccm normaler rot. Blutkörperchen	710	.	35,0	0,82	1:10,5	24	44	68	0,20 [3,53] ¹⁾	
0 Tg. 0 ^h	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>										
1 „ 18 ^h	Temperatur 38,4° C	.	weniger als 0,1	32,0	0,89	0,47 [5,59] ¹⁾	kein koagulierbares Eiweiß
2 „ 16 ^h	Intravenöse Injektion von 5,9 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 1,96 ccm normaler rot. Blutkörperchen	690	30,0	9,1	0,80	.	5	51	56	.	bräunlich, enthaltend 2,1 Proz. Hämoglobin
2 „ 18 ^h	.	.	.	8,0	4,74	schwarzrot.

Mit der Abnahme der Anzahl der roten Blutkörperchen ging Hand in Hand das Auftreten einer mehr und mehr ausgesprochenen Hämoglobinämie, die ihrerseits, wie schon früher darauf hingewiesen, von einer Hämoglobinurie gefolgt war. Letztere erreichte ihr Maximum gewöhnlich dann, wenn das Volumprozent der roten Blutkörperchen im Blute ein Minimum erreicht hatte, d. i. zur Zeit des Todes. Eine einzige Ausnahme wurde bei dem auf Tabelle IX dargestellten Experimente beobachtet, bei welchem die Hämoglobinämie nach der

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

Zunahme wieder verschwand und auch die Hämoglobinurie sistierte zu einer Zeit, als die roten Blutkörperchen 16,7 Proz. des Volumens des Blutes ausmachten. (Das Tier ging aber am nächsten Tage ein.)

Fig. 5. Graphische Darstellung des Hämoglobingehaltes des Blutplasmas und des Harnes des in Tabelle V angeführten Experiments, und gleichzeitig die mittels Hämokrit erhaltenen Werte (Ht) der roten Blutkörperchen (im Verhältnis 1 : 10).

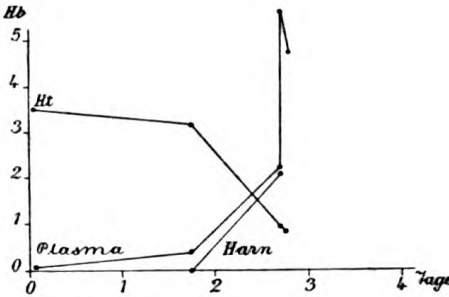


Tabelle VI.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
0 Tg. 0 ^b	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>	630	.	38,0	0,82	1 : 12,6	19	31	50	0,12 [3,05] ¹⁾	
0 „ 2 ^b	Intravenöse Injektion von 3 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge von 1,02 ccm normaler rot. Blutkörperchen										
1 „ 5 ^b	.	.	weniger als 0,1 dgl.								
1 „ 13 ^b	.	.	.								
2 „ 2 ^b	Temperatur 39° C	.	2,0								
2 „ 5 ^b	.	.	.	28,0							
2 „ 7 ^b	.	.	.	28,0							
2 „ 13 ^b	.	.	5,0	20,0							
2 „ 15 ^b	Intravenöse Injektion von 13,5 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge von 3,62 ccm normaler rot. Blutkörperchen	590	.	17,5	0,77	1,93 [9,93] ¹⁾	

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

Die Einwanderung der Piroplasmoparasiten in die roten Blutkörperchen mit Rücksicht auf die Hämoglobinämie.

In den frühen Stadien der Piroplasmainfektion der Hunde werden die Parasiten ausschließlich innerhalb der roten Blutkörperchen gefunden, in späteren Stadien hingegen treten auch freie Formen im Blutplasma auf. In den ersten der Injektion folgenden 24 Stunden sind die Parasiten nur in äußerst geringer Zahl im Blute vorhanden, auch können sie selbst bei sorgfältiger Untersuchung gewöhnlich nicht nachgewiesen werden. Am zweiten Tage hingegen konnten Parasiten in Blutkörperchenpräparaten gesehen werden, doch waren gewöhnlich weniger als 0,1 Proz. der Blutzellen infiziert. Am dritten Tage waren im Durchschnitte 2 Proz. der roten Blutkörperchen in-

Tabelle VII.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
16 Tage vor Infektion	Intravenöse Injektion von 5,8 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 2,20 ccm normaler rot. Blutkörperchen	1550	.	41,2	0,80	1:9	72	104	176	0,08 [1,93] ¹⁾	
0 Tg. 0 ^h	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>	1640									
1 " 19 ^h	.	.	0,1								
2 " 16 ^h	Temperatur 38,9° C	.	2,0								
2 " 21 ^h	.	.	3,0	16,0							
2 " 23 ^h	Intravenöse Injektion von 9,8 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 3,39 ccm normaler rot. Blutkörperchen	1480	.	15,0	1,04	.	28	172	200	0,67 [2,40] ¹⁾	schwarzrot

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

fiziert und gleichzeitig trat eine deutliche Zunahme des freien Hämoglobins im Blutplasma auf (Tabellen I—X).

Die Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen nimmt späterhin allmählich zu, während gleichzeitig eine beträchtliche Abnahme der Volumprozentzahl der roten Blutkörperchen statt hat. In einem Experiment enthielten 30 Proz. der roten Blutkörperchen Parasiten (Tabelle V), während in einem weiteren Experimente nur 12 Proz. der roten Blutzellen infiziert gefunden wurden (Tabelle IV). Die Anzahl der parasitenhaltenden Blutkörperchen zeigte gegen das Lebensende Abweichungen, doch war deren Zahl immerhin bedeutend. Nur in einem Falle (Tabelle IX) nahm die Anzahl der parasitenhaltigen Blutkörperchen gegen das Lebensende merklich ab.

In einem roten Blutkörperchen wurden 1—8 oder auch noch mehr Parasiten gefunden; deren Anzahl war um so größer, je rascher die Infektion tödlich verlief.

Hämoglobinvolumverhältnis.

Die Bestimmung des Hämoglobingehaltes mittels des Fleischschen Hämoglobinometers ist zwar sehr genau, insoweit als der absolute Hämoglobingehalt in Frage kommt. Da nun aber der Hämoglobingehalt in einem gegebenen Volumen von roten Blutkörperchen unter pathologischen Zuständen und in ganz geringem Maße auch im normalen Individuum Veränderungen unterworfen ist, so erschien es wünschenswert, für die richtige Auffassung des Blutbildes die Hämoglobinmenge so auszudrücken, daß sie das Verhältnis zwischen dem Volumen der roten Blutkörperchen und dem absoluten Hämoglobingehalt derselben darstellt. Für diese Zahl haben wir in einer früheren Arbeit¹⁾ den Ausdruck Hämoglobinvolumverhältnis eingeführt, welche also die Menge von Hämoglobin ausdrückt, die in einer Volumeinheit von roten Blutkörperchen enthalten ist.

Durch systematische Bestimmung der Hämoglobinmenge in einer Volumeinheit roter Blutkörperchen während der verschiedenen Stadien der Piroplasmainfektion wird es möglich, festzustellen, ob Abweichungen des Hämoglobingehaltes in

1) Annals of Tropical Medicine and Parasitology, Vol. 3, 1909, p. 45.

Tabelle VIII.
Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
0 Tg. 0 ^b	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>	2820
1 „ 4 ^b	Intravenöse Injektion von 5,7 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 1,90 ccm normaler rot. Blutkörperchen	.	.	46,2	0,81	1 : 16	79,5	92,5	172	0,12 [2,05] ¹⁾	.
2 „ 21 ^b	.	.	weniger als 0,1	42,0
3 „ 19 ^b	Temperatur 39,4° C	.	2,0	schwarzrot
4 „ 4 ^b	Intravenöse Injektion von 11,0 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 2,24 ccm normaler rot. Blutkörperchen	2620	.	19,7	1,05	.	24,5	98	122,5	1,36 [3,50] ¹⁾	.

einer Volumeinheit der roten Blutkörperchen während der Infektion stattfindet. Beim Vergleiche der Tabellen ist es auffällig, das der absolute Hämoglobingehalt einer Volumeinheit von roten Blutkörperchen während der ersten Phasen der Infektion bis zum Beginne der Blutkörperchenzerstörung nur ganz unerhebliche Veränderungen erfährt, daß aber in einem späteren Stadium, wo die Zerstörung der roten Blutkörperchen ausgesprochen ist, Veränderungen statthaben. In drei Experimenten (Tabellen VI, V und IV) erfuhr das Hämoglobinverhältnis eine geringe Abnahme, während den in drei übrigen Experimenten (Tabellen VII, VIII und IX) eine deutliche Zunahme von 0,80 bis 1,04 von 0,81 bis 1,05 und von 0,60 bis 1,13 resp. konstatiert werden konnte (vergl. Tabelle X). Beim

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

Vergleiche der einzelnen Experimente ist es somit klar, daß das Hämoglobinverhältnis nur ganz geringe Schwankungen in den ersten Stadien der Krankheit erfährt, wie selbe auch ähnlich beim normalen Tiere beobachtet werden können, daß jedoch bedeutende Abweichungen von der Norm gegen das Ende der Krankheit festgestellt werden können. Die Frage, ob diese Veränderungen von Schwankungen des osmotischen Druckes des Blutplasmas abhängig sind oder nicht, ist noch offen.

Veränderungen des Gesamtvolumens des Blutes.

Ebenso wie beim Schwarzwasserfieber an Menschen, so nimmt das Blut im Falle von Piroplasmainfektion in Stunden gleichzeitig mit dem Auftreten des Blutharnes eine dünnflüssige, wässrige Beschaffenheit an. Im ersteren Falle ist es bisher noch nicht festgestellt, ob diese Veränderung eine Folge der Zerstörung der roten Blutkörperchen oder der Zunahme des Plasmagehaltes ist. Im Falle von Piroplasmosis canis machten es die äußerst niederen Zahlen, die bei Bestimmung des Gesamtvolumens der roten Blutkörperchen mittels des Hämokrits erhalten wurden (6,5—17 Proz. in Tabellen II, IV, V, VII und IX) klar, daß die Blutkörperchenzerstörung dabei die Hauptrolle spielt. In den Fällen von Schwarzwasserfieber hingegen, die wir Gelegenheit hatten zu beobachten, ergab die Hämokritbestimmung niemals so niedrige Werte [20 Proz. war die geringste Ablesung, normalerweise beträgt sie ungefähr 45 Proz.¹⁾], und Malariaparasiten wurden nur äußerst selten und dann nur in geringer Anzahl in den roten Blutkörperchen beobachtet. Gesamtvolumbestimmungen des Blutes wurden bei Schwarzwasserfieberkranken bisher noch nicht vorgenommen. Bei Piroplasma canis dagegen ergaben solche, daß das Gesamtvolumen des Blutes manchmal zugenommen, manchmal jedoch abgenommen hatte; wurde nun das Gesamtvolumen der roten Blutkörperchen und das des Blutplasmas getrennt untersucht, ergab sich, daß, während das erstere immer bedeutend herabgesetzt war, das letztere gewöhnlich zugenommen hatte, nur in einem Falle war eine geringgradige Abnahme zu konstatieren. Wie die Tabellen

1) loc. cit., p. 183.

Tabelle IX.

Hund, infiziert mit *Piroplasma canis*.

Beobachtungszeit	Bemerkung	Gewicht g	Prozentzahl der infizierten Blutkörperchen %	Hämokritablesung der roten Blutkörperchen %	Hämoglobin-Volumenverhältnis	Verhältnis des Blutgewichts zum Körpergewicht	Blutvolumen			Prozentzahl des im Plasma gelösten Hämoglobins %	Harn
							rote Blutkörperchen ccm	Plasma ccm	Gesamtvolumen ccm		
0 Tg. 0 ^h	Infiziert mit <i>Piroplasma canis</i>										
0 „ 23 ^h	Intravenöse Injektion von 7,4 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 2,20 ccm normaler rot. Blutkörperchen	3850	.	49,5	0,60	1:10,6	184	180	364	0,01 [1,24] 1)	
2 „ 3 ^h	.	.	0,5								
2 „ 16 ^h	Temperatur 39,9° C	.	1,0	20,0		0,67	schwarzrot
4 „ 3 ^h	.	.	.	20,0	0,78		
4 „ 19 ^h	Intravenöse Injektion von 11,0 ccm Flüssigkeit, enthaltend die Hämoglobinmenge aus 2,49 ccm normaler rot. Blutkörperchen	3520	weniger als 1,0	16,7	1,13	.	38	223	261	0,17 [1,26]	gelb, kein Hämoglobin vorhanden

zeigen, fand in den Experimenten auf Tabellen V und IX eine Abnahme des Gesamtvolumens der roten Blutkörperchen um 21 Proz. des originalen Gesamtvolumens derselben statt, in dem Experiment auf Tabelle VI sogar 55 Proz. Das Gesamtvolumen des Blutplasmas zeigte eine Zunahme von 3, 6, 16, 22 und 65 Proz. resp. in den Experimenten auf Tabellen IX, VIII, V, IV und VII, eine Abnahme von 8 Proz. in dem Experimente auf Tabelle VI. In jenen Fällen, in welchen eine Zunahme des Gesamtvolumens des Blutplasmas gefunden worden war, trat entweder eine kleinere Zunahme des Gesamtvolumens des Blutes oder eine tatsächliche Abnahme auf, entsprechend dem Werte der Abnahme des Gesamtvolumens der roten Blutkörperchen. Diese Experimente

1) Nach Injektion von gelöstem Hämoglobin.

beweisen also, daß die Abnahme des Volumprozentos der roten Blutkörperchen nach Hämokritbestimmung, und die wässerige Beschaffenheit des Blutes beinahe ausschließlich eine direkte Folge der Zerstörung der roten Blutkörperchen ist und nur in einem sehr geringen Grade von Veränderungen des Gesamtvolumens des Blutplasmas abhängig ist.

Verschwinden des gelösten Hämoglobins aus dem Blutplasma.

In einer früheren Arbeit¹⁾ hatten wir bewiesen, daß, während gelöstes Hämoglobin rasch aus dem Blutplasma von Kaninchen verschwindet, nur eine ganz geringe Menge, beiläufig der sechste Teil, im Harn ausgeschieden wird. Da in den vorliegenden Experimenten die Gesamtmenge des ausgeschiedenen Harnes nicht bestimmt wurde, so war es daher auch nicht möglich, festzustellen, bis zu welchem Grade das Hämoglobin durch die Nieren ausgeschieden wird.

Tabelle X.

Schwankungen des Gesamtblutvolumens bei Piroplasmosis canis.
Uebersichtliche Darstellung der in den früheren Tabellen gegebenen Zahlen.

Tabelle No.	Beobachtungszeit	Gewicht	Hämokrit- ablesung %	Hämoglobin- Volumen- verhältnis	Volumen des Blutes		
					rote Blut- körper- chen ccm	Plasma ccm	Gesamt- volumen ccm
VI	am Anfang des Versuches	630	38,0	0,82	19	31	50
VI	„ Ende des Versuches	590	17,5	0,77	10,5	28,5	39
V	„ Anfang des Versuches	710	35,0	0,82	24	44	68
V	„ Ende des Versuches	690	9,1	0,80	5	51	56
VII	„ Anfang des Versuches	1550	41,2	0,80	72	104	176
VII	„ Ende des Versuches	1480	15,0	1,04	28	172	200
VIII	„ Anfang des Versuches	2820	46,2	0,81	79,5	92,5	172
VIII	„ Ende des Versuches	2620	19,7	1,05	24,5	98	122,5
IV	„ Anfang des Versuches	2850	36,9	0,91	84,5	144,5	229
IV	„ Ende des Versuches	2550	17,5	0,81	38	177	215
IX	„ Anfang des Versuches	3850	49,5	0,60	184	180	364
IX	„ Ende des Versuches	3520	16,7	1,13	38	185	223

In 2 Hunden verschwand die Hämoglobinurie nach einiger Zeit und ging auch die Hämoglobinämie zum Normalen

1) Annals of Tropical Medicine and Parasitology, Vol. 3, p. 89, auch p. 140.

2) C.p. Nocard und Motas, Piroplasmose canine. Annales de l'Institut Pasteur, T. 16, 1902, p. 262.

zurück. Dabei konnte eine deutliche Gelbfärbung der Haut, der Bindehäute und der Sklera der Augen beobachtet werden, wie solche bei Schwarzwasserfieberpatienten häufig ist. Das Blutplasma war dabei dunkelorange gefärbt im Gegensatz zu der normalen strohgelben Färbung des Plasmas. Der Harn dieser Hunde enthielt Gallenpigment, war aber sonst von normaler Färbung.

Zusammenfassung.

Die im vorhergehenden angeführten Experimente an mit *Piroplasma canis* infizierten Hunden führen uns zu folgenden Schlußfolgerungen:

1) Die Hämoglobinurie ist immer eine Folge einer Hämoglobinämie und tritt erst dann auf, wenn das Blutplasma ebensoviel gelöstes Hämoglobin enthielt, als dem Hämoglobingehalt so vieler normaler, roter Blutkörperchen entspricht, die 0,5 Proz. des Gesamtvolumens des Plasmas ausmachte.

2) Die Prozentzahl des Hämoglobins im Harn ist für gewöhnlich viel größer als die im Blutplasma.

3) Hämoglobinämie und darauffolgende Hämoglobinurie ist nicht früher ausgesprochen, als bis eine rasche und ausgedehnte Zerstörung der roten Blutkörperchen stattfindet.

4) Das Gesamtvolumen der im Blute vorhandenen roten Blutkörperchen nimmt im Verlaufe der Piroplasmainfektion so stark ab, daß es manchmal zur Zeit des Todes nur ein Fünftel des ursprünglichen Gesamtvolumens beträgt. Das Blutplasma hingegen zeigt nur ganz geringe Schwankungen, gewöhnlich im Sinne einer Zunahme.

5) Das Hämoglobinvolumverhältnis zeigt hie und da eine deutliche Zunahme, besonders dann, wenn die Blutkörperchenzerstörung weit fortgeschritten ist, manchmal hingegen tritt eine geringgradige Abnahme ein.

6) In 2 Fällen wurde eine ikterische Verfärbung der Haut und Schleimhäute konstatiert, nachdem die Hämoglobinurie schon verschwunden war, unter gleichzeitigem Auftreten von Gallenfarbstoff im Harne.

Nachdruck verboten.

[Aus dem k. k. Hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität Krakau; Vorstand: Prof. O. Bujwid.]

Zur Technik und Theorie der Wassermannschen Reaktion¹⁾.

Von Dr. **Philipp Eisenberg** und Dozent Dr. **Roman Nitsch**,
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. November 1909.)

Zweck vorliegender Untersuchungen war, durch experimentelle Analyse einiger an der Wassermannschen Reaktion teilnehmender Faktoren nach Möglichkeit einerseits die Reaktion zu verfeinern, andererseits in ihr Wesen tiefer einzudringen. Es ist nun freilich nicht zu verkennen, daß man, wie bereits von Sachs und Altmann, Meirowsky sowie letzthin von R. Müller hervorgehoben wurde, bei jedem Versuch einer solchen Verfeinerung Gefahr läuft, nicht nur luetische Sera in größerem Prozentsatz, sondern dabei auch nicht luetische positiv reagieren zu sehen. Angesichts der anerkannt großen Leistungsfähigkeit der klassischen Methode erwächst nun daraus für jede neue, auch noch so kleine Modifikation die Verpflichtung, nachzuweisen, daß bei ihr die zweitgenannte Möglichkeit nicht zutrifft.

Ohne auf die noch immer hypothetischen Anschauungen über das Wesen der Reaktion (speziell ob Bindung, ob Zerstörung des Komplements) näher einzugehen, müssen wir es als selbstverständlich voraussetzen, daß sowohl die Menge des Komplements als auch diejenige des Ambozeptors für den Ausfall der Reaktion von großer Bedeutung sein können. Es muß nun auffallen, daß das Komplement, der entscheidende Faktor der Reaktion, von fast allen Untersuchern in der konstanten Menge von 1 ccm der $\frac{1}{10}$ -Verdünnung (bei 5 ccm Gesamtvolumen) verwendet wird. Da nun diese Menge zumeist

1) Teilweise mitgeteilt am I. poln. Kongreß f. innere Medizin zu Krakau am 21. Juli 1909.

das 3—4-fache Multiplum der noch eben lösenden Komplementdosis ausmacht, kann man sich vorstellen, daß manche schwach hemmende Sera bei diesem Komplementüberschuß versagen, indem sie außerstande sind, soviel Komplement zu binden. Es könnte also ein und dasselbe Serum, an demselben Tag mit den gleichen Reagentien untersucht, bei Verwendung einer geringeren Komplementmenge positiv, bei Verwendung einer größeren negativ reagieren. Außerdem ist aber noch zu bedenken, daß die komplementhaltigen Meerschweinchensera sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Hinsicht durchaus nicht als gleichwertig zu betrachten sind, wie aus den Untersuchungen von Stern, M'Kenzie, Browning und M'Kenzie, Sachs und Altmann sowie Maslakowetz und Liebermann hervorgeht.

Bedeutung der Ambozeptormenge.

Was die Bedeutung der verwendeten Ambozeptormenge anbelangt, findet man wohl bei den meisten Autoren die Angabe, daß sie mit der 2—3-fachen geringsten lösenden Dosis arbeiten, leider aber wird nur ausnahmsweise erwähnt, wie die Ambozeptoreinheit bestimmt wurde. Die Hämolyse ist ein zeitlich fortschreitender Vorgang und es wird nach 15 Minuten die geringste lösende Dosis eine andere, und zwar eine viel größere sein, als wenn das Resultat nach 45 Minuten oder etwa 2 Stunden abgelesen wird. L. Meyer tut dies nach 20 Minuten (bei 37° C), Noguchi sowie Detre und Brezovsky (Menschen- resp. Pferdeblut!) nach 1 Stunde, G. Meier nach 2 Stunden. Bezüglich der Ambozeptortitrierung in der Neisserschen Klinik sei auf die Angaben von Taege verwiesen.

Es ist nun zwar bereits im menschlichen zu untersuchenden Serum wegen seines wechselnden Gehalts an Hammelblutambozeptoren ein variabler Faktor in die Reaktion eingeführt, es schien uns aber um so wünschenswerter, die Menge der spezifischen Ambozeptoren nach Möglichkeit konstant zu gestalten. Eine Reihe nach dieser Richtung angestellter Versuche ergab nun, daß die nach einer Viertelstunde festgestellte Titerdosis 2—7-fach größer ist, als diejenige, die man nach

$\frac{3}{4}$ -stündigem Aufenthalt der Proben bei 37° C bekommt. Dehnt man die Beobachtung auf 2 Stunden aus, so werden die Differenzen noch größer. Es kam nun darauf an, an einer größeren Reihe von Seris zu untersuchen, welchen Einfluß verschieden große Ambozeptormengen auf den Ausfall der Reaktion ausüben. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß zunächst die Titerdosis des Ambozeptors nach $\frac{3}{4}$ -stündigem Aufenthalt der Proben bei 37° C bestimmt wurde. Ursprünglich haben wir, wie wohl in manchen Laboratorien geschieht, diese Ablesung nach 15 Minuten vorgenommen; da jedoch die endgültige Feststellung der Resultate der eigentlichen Probe meist nach $\frac{3}{4}$ —2 Stunden erfolgt, mußten wir uns vorhalten, daß auf diese Weise ein ziemlich hohes Multipulum der Titerdosis des Ambozeptors zur Verwendung kommt, und zwar nach unseren Bestimmungen statt des 3-fachen das 6—20-fache. Folgerichtig mußte man also die Titerbestimmung nach 2 Stunden ausführen, aus Rücksicht auf die daraus erwachsende Verlängerung des Verfahrens haben wir uns auf $\frac{3}{4}$ Stunden beschränkt. Im eigentlichen Versuch wurde sodann in einer Reihe von Röhrchen das überall identische Hemmungssystem (Serum + Antigen + Komplement) mit Blutkörperchen versetzt, die mit verschiedenen Ambozeptormengen bei 37° C beladen waren. Die verwendeten Ambozeptormengen schwankten in verschiedenen Versuchen zwischen der 1—100-fachen Titerdosis. Anhangsweise sei bemerkt, daß nach allgemein gültigem Brauch luetischer alkoholischer Leberextrakt, gewaschene Hammelblutkörperchen, Kaninchenserum als Ambozeptor sowie frisches Meerschweinchenserum als Komplement zur Verwendung kamen. Das Gesamtvolumen der Proben betrug 1 ccm, die relativen Mengenverhältnisse befolgten genau die Wassermannsche Vorschrift. Das Gesamtergebnis der 119 nach dieser Richtung ausgeführten Einzeluntersuchungen läßt sich ungefähr auf folgende Weise formulieren: Bei einer überwiegenden Mehrzahl der positiv reagierenden Sera läßt sich durch mehr oder weniger großen Ambozeptorüberschuß die positive Reaktion zum Verschwinden bringen. Man kann hierbei ganz regelmäßige Abstufung der Resultate bekommen, indem z. B. ein bei mäßiger Ambo-

zeptormenge stark positives Serum, das in beiden Röhren Hemmung aufweist, bei größerer Ambozeptormenge nur mehr im ersten Röhren hemmt, bei noch größerer auch hier nur mehr eine partielle Hemmung gibt, um endlich bei großem Ueberschuß ganz negativ zu werden. Es ergibt sich daraus für die Praxis die naheliegende Forderung, größere Ambozeptorüberschüsse zu vermeiden, da dadurch positive Reaktionen verdeckt werden können, und zwar am leichtesten schwache Reaktionen bei frischem Primäraffekt oder bei latenter Lues, auf die es differentialdiagnostisch am meisten ankommt. Tatsächlich haben wir bei unseren 112 Untersuchungen 12 Sera (= 10%) gefunden, welche negativ reagierten, wenn die nach 15 Minuten bestimmte 3-fache Titerdosis zur Verwendung kam, dagegen positiv, wenn die nach $\frac{3}{4}$ Stunden bestimmte 3-fache Dosis einwirkte. Ob man in dieser Richtung noch weiter wird hinuntergehen dürfen, etwa bis zur 1—2-fachen, nach $\frac{3}{4}$ Stunde zu bestimmenden Titerdosis, ohne daß die Spezifität der Reaktion darunter leidet, können wir heute noch nicht endgültig aussagen. Unter 36 Seris, die wir mit diesen Ambozeptormengen untersucht haben, fanden wir kein einziges, das, ohne luetisch zu sein, reagiert hätte, wohl aber fanden wir 3 Sera, von latenten Luesfällen stammend, die bei diesen Mengen positiv reagierten, während sie bereits bei der 3-fachen Titerdosis versagten. Diese kleine Untersuchungsreihe berechtigt natürlich noch nicht zu bindenden Schlüssen, sollten jedoch weitere Untersuchungen einerseits die Spezifität, andererseits die größere Empfindlichkeit dieser Modifikation bestätigen, so wäre damit, wie wir glauben, manches gewonnen. Auf einen Nachteil dieser Methodik muß hingewiesen werden, daß man nämlich dabei öfter als sonst Hemmungen in den Serumkontrollen erlebt.

Man geht jedenfalls ganz sicher, wenn man, wie oben angegeben wurde, die 3-fache nach $\frac{3}{4}$ Stunden bestimmte Dosis verwendet; unter den Seris, die nach dieser Methode positiv, bei Verwendung der 3-fachen nach $\frac{1}{4}$ Stunde bestimmten Dosis negativ reagierten, fand sich kein einziges, das nicht luetisch wäre. Beifolgende Tabelle I veranschaulicht besser, als alles Gesagte, die besprochenen Verhältnisse.

Tabelle I.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Absolute Ambozeptormenge ccm	0,01	0,02	0,03	0,05	0,10	0,15	0,20	0,30
n-fach lösende Dosis des Amboz. n. $\frac{3}{4}^b$ bei 37° C	1×	2×	3×	5×	10×	15×	20×	30×
Ser. No. 1397 Lues III beh.	$\frac{3}{4}^b$ ± ± ±	± ± ±	× × ×	× × +	× × +	++	+++	+++
	2 ^b ± ± ±	± × ×	× × ×	++	++	++	+++	+++
	13 ^b × × ×	× × ×	× × ×	++	++	++	+++	+++
Ser. No. 1388 Lues II beh.	± ± ±	± × ×	± × ×	± ± ±	× × +	× × +	+++	+++
	± × ×	± × ×	× × ×	× × +	++	++	+++	+++
	× × ×	× × ×	× × ×	× × +	++	++	+++	+++
Ser. No. 1411 L. II nicht beh.	— +	— +	— +	—	—	—	— × +	— ± +
	— +	— +	— +	—	—	—	— × +	— × +
	— +	— +	— +	—	—	—	+++	× × +
Ser. No. 1367 L. III latens beh.	± × ×	± × ×	± ± ±	× × +	× × +	++	+++	+++
	± × ×	± ± ±	× × ×	× × +	++	++	+++	+++
	± × ×	× × ×	× × ×	++	++	++	+++	+++
Ser. No. 1363 L. III latens beh.	— ± —	— ± ∓	— × +	— ×	∓ ×	± +	× × +	+++
	— ± ×	— × +	— × +	— ×	± +	× × +	× × +	+++
	— × +	— × +	∓ ± ±	∓ +	× × +	× × +	× × +	+++
Ser. No. 1375 L. III? nicht beh.	—	—	—	—	— ×	— ×	— × +	— + +
	—	—	—	—	— +	— ×	— + +	— + +
	— +	— + ∓	— + ∓	— ±	— +	— +	∓ ± ±	∓ ± ±
Ser. No. 1404 L. hered. tard.?	± ± ±	± ± ±	× × ×	× × +	× × +	× × +	+++	+++
	± ± ±	± ± ±	± ± ±	× × +	++	× × +	+++	+++
	± ± ±	× × ×	± ± ±	++	++	++	+++	+++
Ser. No. 1337 L. III nicht beh.	— — ∓	— + ×	± × +	— +	— +	± +	± ± ±	× × +
	— — ×	— ∓ +	— + +	— +	× × +	× × +	× × +	+++
	± ∓ +	± × +	∓ ± ±	++	± +	× × +	× × +	+++

+ vollständige Hämolyse, × beinahe vollständige Hämolyse, ± partielle Hemmung, ∓ starke Hemmung, — beinahe vollständige Hemmung, — vollständige Hemmung, . nicht gemachte Probe.

Jede Probe wurde in 3 Rörchen angestellt: ins erste kamen 0,2 ccm Antigenaufschwemmung + 0,2 ccm Serumverdünnung; ins zweite 0,1 ccm Antigenaufschwemmung + 0,1 ccm Serumverdünnung; ins dritte (Kontrollrörchen) 0,4 ccm Serumverdünnung (ohne Antigen). Die Resultate wurden nach $\frac{3}{4}^b$, 2^b bei 37° C und nach 13^b (Zimmertemperatur) abgelesen. Gesamtvolumen der Proben 1 ccm, frisches Meerschweinchenkomplement 0,2 ccm ($\frac{1}{10}$ Verdünnung) = 0,02 ccm. — Gewaschene Hammelblutkörperchen, titrierte Ambozeptormenge nach $\frac{1}{4}^b$ 0,05 ccm, nach $\frac{3}{4}^b$ 0,01 ccm.

Wir ersehen aus dieser Tabelle: 1) daß die Sera No. 1363 und 1337 bei Verwendung der 3-fachen nach $\frac{3}{4}$ Stunden bestimmten Titerdosis positiv, bei Verwendung der 15-fachen (= 3-fachen nach $\frac{1}{4}$ Stunde) negativ sind, 2) daß das stark positive Serum No. 1411 statt beider gehemmter Röhrchen (Kol. III) bei Ambozeptorüberschuß (Kol. VIII) nur mehr im ersten Röhrchen hemmt, 3) daß die Sera No. 1388 und 1337 bei der 1- und 2-fachen Titerdosis im Kontrollröhrchen Hemmung aufweisen, die in den höheren Kolonnen verschwindet, ebenso daß das Serum No. 1375, ein „autotropes“ Serum nach Ballner und v. Decastello, erst bei der 20- und 30-fachen Titerdosis einwandfreie Kontrollen zeigt. Diese letztere Beobachtung weist darauf hin, bei solchen autotropen Seris, ein übrigens sehr seltenes Vorkommnis, falls man nicht mit Bakterien verunreinigte Sera verwendet, Reihen mit steigendem Ambozeptergehalt aufzustellen, wodurch es gelingen kann, eine Reihe mit tadellos gelöster Kontrolle zu erreichen.

Wenn wir somit auf Grund unserer Untersuchungen die Verwendung möglichst geringer Ambozeptormengen für die Reaktion empfehlen, so finden wir uns in prinzipieller Uebereinstimmung mit G. Meier, der die 3-fache nach 2 Stunden bestimmte Titerdosis zur Verwendung empfiehlt. Wie bereits oben hervorgehoben, haben wir uns mit einer Titration nach $\frac{3}{4}$ Stunden begnügt, einerseits wegen der technischen Vereinfachung (auch Meier scheint den Uebelstand empfunden zu haben, 2 Stunden abzuwarten, wie aus seiner eigenen Modifikation hervorgeht), andererseits aber deshalb, weil bei Verwendung der nach 2 Stunden bestimmten Titerdosis ab und zu Hemmungen in den Serumkontrollen vorgekommen sind. Auch Bauer hat vor kurzem darauf hingewiesen, daß ein Ambozeptorüberschuß eine positive Reaktion verdecken kann. Dem Ausspruch von Sachs und Altmann, „daß erfahrungsgemäß in ziemlich weiten Grenzen ein Ambozeptor- oder Komplementüberschuß für das Zustandekommen des Wassermannschen Phänomens belanglos ist“, können wir nur in bedingter Weise zustimmen, indem er nach unseren Erfahrungen nur für manche Sera gilt, bei anderen aber der oben besprochene Unterschied sich geltend macht. Der hier entwickelte Gedankengang liegt übrigens in bewußter oder un-

bewußter Weise all jenen Modifikationen zugrunde, welche auf die Verwendung der spezifischen Hammelblutambozeptoren verzichten und nur diejenigen des untersuchten Serums heranziehen. Bei den eigentlich bakteriellen Komplementbindungen ist übrigens schon mehrfach die Verwendung recht geringer Ambozeptormengen empfohlen worden. Auch ist es möglich, daß ähnliche Normen, wie die unsrige, bereits in manchen Laboratorien Eingang gefunden haben, obzwar man darüber keine sicheren Angaben in der Literatur vorfindet. So verdanken wir Herrn Dr. R. Volk vom k. k. serotherapeutischen Institut in Wien die freundliche persönliche Mitteilung, daß er seit längerer Zeit bei seinen Untersuchungen sowohl Ambozeptor- als auch Komplementüberschuß vermeidet.

Was die Zeit der Einwirkung des Ambozeptors auf die Erythrocyten betrifft, so haben bekanntlich Bordet und Gengou empfohlen, zunächst den Ambozeptor eine Zeitlang auf die Blutkörperchen einwirken zu lassen, um eine ausgiebigere „Sensibilisierung“ zu erzielen. Auch G. Meier hält die Mischung $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ Stunde im Brutschrank, was übrigens allgemeiner Brauch sein dürfte. Wir haben nun geglaubt, daß es vielleicht gelingen würde, durch Abkürzung oder Ausschaltung dieser Kontaktzeit die „Sensibilisierung“ der Blutkörperchen und damit die Avidität des hämolytischen Systems zum Komplement herabzusetzen, wodurch Hemmungen leichter zu erzielen wären. Ein Versuch, den wir in dieser Richtung an 11 Seris mit 3 verschiedenen Ambozeptormengen ausgeführt haben, bestätigte diese Erwartung nicht. Es wurden die Blutkörperchen in der ersten Serie 5 Stunden lang bei 37° mit dem Ambozeptor digeriert, in der zweiten $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° , in der dritten endlich wurden die Blutkörperchen direkt vor dem Zusatz zu den Proben mit dem Ambozeptor versetzt. Es ergaben sich jedoch dabei keine nennenswerten Abweichungen der Resultate.

Bedeutung der Komplementdosis.

Eine ebenso wichtige, eher noch wichtigere Rolle spielt bei der Reaktion die Menge des verwendeten Komplementserums. Nach dem früher Gesagten scheint es nun nahe-

liegend, zu verlangen, auch hier möglichst geringe Mengen zu benutzen, um zu verhüten, daß schwach positive Sera, die nur eine geringe Menge Komplement zu binden imstande sind, größeren Mengen gegenüber versagen. Man muß jedoch dabei dem Umstand Rechnung tragen, daß, je geringere Komplementmengen man wirken läßt, desto entsprechend größer der Ambozeptorbedarf ist, um denselben hämolytischen Effekt zu erzielen. Will man also diese geringen Komplementmengen verwenden, so muß man auch den Ambozeptor für diese Menge titrieren und kommt natürlich zu entsprechend größeren Mengen. Beide Vorteile, d. h. sowohl geringe Ambozeptor- als auch geringe Komplementmengen zu vereinigen, wird wohl kaum gelingen, da in diesem Fall das hämolytische System zu schwach wird und man zumeist auch in den Serumkontrollen Hemmung bekommt. In unseren Untersuchungen haben wir Bruchteile der allgemein üblichen Komplementmenge ($\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{6}$) mit der 3-fachen nach $\frac{1}{4}$ Stunde bestimmten Ambozeptordosis verwendet und zum Vergleich eine Reihe mit identischem Ambozeptorgehalt und normaler Komplementmenge herangezogen. Auch diese Methode hat sich unseren Erwartungen gemäß empfindlicher gezeigt, als die gewöhnliche, indem in 90 Einzeluntersuchungen 8mal (9 Proz.) Sera, die nach der gewöhnlichen Methode als negativ imponierten, bei dieser Modifikation positiv reagierten. Als Beispiel sei der Reaktionsverlauf angeführt, wie ihn die Tabelle II bringt.

Tabelle II.

Serum	Komplementmenge	
	0,02	0,0066
No. 1266, L. II beh.	±++	—±+
	×++	—×+
	×++	+++
No. 1283, L. II nicht beh.	×++	—±+
	+++	+++
	+++	×++

Ambozeptormenge 0,12 ccm = 3-fache Titerdosis bestimmt für 0,02 ccm Komplement nach $\frac{1}{4}$ bei 37°. Bei 0,12 ccm Ambozeptor bildet 0,0033 ccm die kleinste Komplementdosis, nach $\frac{3}{4}$ bestimmt, es gelangten also 2 resp. 6 Komplementdosen zur Verwendung. Zeichen wie in Tabelle I.

Der Prozentsatz der Höherleistung dieser Methode ist ungefähr ebenso groß wie bei der ersten. Denselben Eindruck gewannen wir bei einer Reihe von 75 vergleichenden Einzeluntersuchungen, die in folgender Weise angestellt wurden: Es wurde die Ambozeptortitrierung in zwei Reihen für die normale Komplementmenge (0,02), sowie für die Hälfte (0,01) nach $\frac{3}{4}$ Stunden bei 37° vorgenommen und nun in den eigentlichen Versuchsreihen jede Komplementmenge mit der zugehörigen 3-fachen Ambozeptormenge verwendet. Der Vergleich dieser beiden Reihen ergab keine nennenswerten Unterschiede, so daß beide Methoden als ungefähr gleichwertig zu erachten sind. Jedenfalls möchten wir jedoch zwecks Wahrung der Spezifität davor warnen, geringere Mengen als das 2-fache Multiplum der geringsten lösenden Komplementdosis (für die betreffende Ambozeptormenge) zu verwenden. In differentialdiagnostisch wichtigen Fällen, wo die klassische Methode ein negatives Resultat gibt, möchten wir raten, beide oben geschilderten Methoden zur Ergänzung heranzuziehen, d. h. geringe Ambozeptormenge bei normaler Komplementdosis und geringe Komplementmenge bei größerer Ambozeptordosis; die Leistungsfähigkeit der Methode dürfte dabei gewinnen.

Das Bestreben, die Wassermannsche Reaktion durch Verminderung der Komplementdosis zu verfeinern, findet gewisse Analogie bei den bakteriellen Komplementbindungen. So haben beim Rotz Schütz und Schubert, Schubert, sowie neuerdings Mießner und Trapp die Verwendung der einfach lösenden Dosis empfohlen, und es sollen hier nur bei dieser Versuchsanordnung positive Resultate zu erzielen sein. Auch haben Nicolle und Pozerski, sowie Armand-DeLille die Verwendung 5—14 Tage alten, also abgeschwächten Komplementserums befürwortet, das bessere Resultate geben soll als frisches.

Zur Bekräftigung des oben Gesagten wollen wir noch erwähnen, daß wir mit dem künstlichen Antigen A von Sachs und Rondoni (sowohl mit dem Originalpräparat als auch mit einem von uns selbst hergestellten) ähnliche Resultate der beiden beschriebenen Modifikationen erhalten haben, wie mit dem luetischen, alkoholischen Leberextrakt. Unter 31 Untersuchungen, bei denen die herabgesetzte Ambozeptormenge

verwendet wurde, fanden wir 5 positive luetische Sera, die bei der gewöhnlichen Methode negativ reagierten, unter 24 Untersuchungen, wo wir mit der Komplementmenge heruntergingen, 2 solche Sera.

Versuche mit gewaschenem und nicht gewaschenem Hammelblut.

Bezüglich der dritten Komponente des hämolytischen Systems, der Hammelblutkörperchen, findet man in der Literatur immer die Forderung, nur sorgfältig gewaschene zu verwenden. Indessen haben wir durch Herrn Dr. Rajchman erfahren, daß H. Levaditi im Pasteurschen Institut mit nicht gewaschenen Blutkörperchen arbeitet. Da hiermit eine nicht unerhebliche Vereinfachung der Technik gegeben wäre, haben wir eine Reihe von vergleichenden Untersuchungen mit gewaschenem und nicht gewaschenem Hammelblut angestellt. Unter 104 Einzeluntersuchungen haben wir 97 ungefähr übereinstimmende Resultate bekommen, 7mal gaben luetische Sera mit nicht gewaschenem Blut Hemmung, mit gewaschenem Hämolyse. Auch sonst fanden wir bei den übereinstimmenden Seris manchmal stärkere Hemmungen mit nicht gewaschenem Blut. Diesem Vorteil der größeren Empfindlichkeit der Reaktion mit nicht gewaschenem Blut stehen gewisse, übrigens kleine Nachteile gegenüber: Erstens bekommt man bei kleineren Komplementmengen (0,01 statt 0,02) öfter Hemmung in den Serumkontrollen, die bei gewaschenem Blut nicht auftritt, sodann aber beobachtet man des öfteren Nachhämolyse am 2. Tag (unsere Proben verbleiben jedoch bei Zimmertemperatur!). Auf Grund dieser Resultate möchten wir weitere Versuche mit nicht gewaschenem Blut anempfehlen. Die Höherleistung dieses Blutes ließe sich vielleicht damit erklären, daß die nicht gewaschenen Blutkörperchen in ihrem natürlichen Milieu weniger vulnerabel sind (dagegen spräche nur die Nachhämolyse).

Erhitzung der Antigene.

Im Gegensatz zu den zahlreichen Untersuchungen über die Verwendbarkeit verschiedener Antigene für die Wassermannsche Reaktion findet man in der Literatur keine Angaben über die Einwirkung verschiedener physikalischer und

chemischer Eingriffe auf dieselben. Von vornherein möchte man erwarten, daß sie sich recht empfindlich zeigen würden, da wir es hier ja mit Emulsionen zu tun haben, also mit ziemlich labilen Gebilden, um so mehr, als die Untersuchungen von Sachs und Rondoni gezeigt haben, daß bereits die Art ihrer Herstellung und der davon abhängige Trübungsgrad ihre Brauchbarkeit beeinflussen können. Wir haben regelrecht hergestellte wässerige Emulsionen eines alkoholischen, luetischen Leberextraktes auf verschiedene Temperaturgrade eine halbe Stunde lang erhitzt und sodann in parallelen Reihen mit dem nicht erhitzten Antigen verglichen. Es zeigte sich, daß die eine halbe Stunde lang auf 58°, 56°, 90°, sowie 98° (zum Sieden) erhitzten Aufschwemmungen mit den nicht erhitzten fast vollkommen übereinstimmende Resultate gaben. Die ebenso lang auf 70° resp. 80° C erhitzten zeigten dagegen eine ganz deutlich vergrößerte Reaktionsbreite, indem unter 8 untersuchten Seris (darunter 7 luetische) 4 ganz übereinstimmende Ausschläge gaben, bei 2 (luetischen) die Hemmung mit erhitztem Antigen deutlicher ausfiel, bei 2 ebenfalls luetischen das unerhitzte Antigen eine zweifelhafte Hemmung gab, die erhitzten aber vollständig hemmten! Es wäre wünschenswert, diese Untersuchungen auch auf andere alkoholische, sowie auf wässerige Organextrakte auszudehnen.

Des weiteren haben wir ähnliche Versuche mit dem künstlichen Antigen A von Sachs und Rondoni angestellt. Die auf 70° erhitzte Aufschwemmung ergab mit der unerhitzten im allgemeinen übereinstimmende Resultate, nur einmal gelang es bei einem zweifelhaft reagierenden luetischen Serum mit dem erhitzten Antigen eine positive Reaktion zu erzielen. Bei der auf 98° erhitzten Aufschwemmung ergab sich insofern eine Abweichung, als das aufgekochte Antigen bei 3 positiv reagierenden luetischen Seris (unter 8) versagte.

Einwirkung von Säure und Alkali auf das Antigen.

Von Sachs und Altmann wurde zuerst der Einfluß der Reaktion auf das Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion untersucht, und es zeigte sich ein begünstigender

Einfluß einer Ansäuerung der Sera, ein ungünstiger ihrer Alkalisierung. Im Anschluß an diese Befunde haben wir die gleichen Faktoren auf das Antigen einwirken lassen in der Hoffnung, eine gleichsinnige Beeinflussung der Reaktion zu erzielen.

Zu der wässerigen Aufschwemmung des alkoholischen Leberextraktes wurden verschiedene Mengen einer $\frac{n}{10}$ HCl zugesetzt; die Aufschwemmung wird dabei proportional der zugefügten Säuremenge undurchsichtiger, was in Uebereinstimmung mit den Angaben von Sachs und Rondoni eine Erhöhung ihrer Reaktionsfähigkeit erwarten ließ. Es zeigte sich jedoch, daß die auf $\frac{n}{666}$, auf $\frac{n}{333}$, sowie auf $\frac{n}{150}$ gebrachte Aufschwemmung mit der nicht angesäuerten fast identische Resultate ergab, während die auf $\frac{n}{80}$ gebrachte sich als unverwendbar erwies, indem die Eigenwirkung der Säure in Hämolyse sowie gelber Verfärbung des ausgetretenen Hämoglobins sich dokumentierte.

Versetzt man eine wässrige Extraktaufschwemmung hingegen mit $\frac{n}{10}$ NaOH, so tritt proportional der zugefügten Alkalimenge eine fortschreitende Aufhellung der Aufschwemmung ein. Entgegen der oben geäußerten Erwartung zeigt sich nun, daß die auf $\frac{n}{540}$ NaOH gebrachte Aufschwemmung sogar noch schärfere Ausschläge gibt, als die nicht alkalisierte, wenn auch keine prinzipiellen Unterschiede zutage treten (4 Sera unter 32). Bei stärkerer Alkalisierung (auf $\frac{n}{207}$, sowie $\frac{n}{100}$ NaOH) scheint schon eine gewisse Beeinträchtigung des Antigens einzutreten (1 Versager unter 8 Seris), bei noch stärkerer ($\frac{n}{50}$, sowie $\frac{n}{25}$) wird das Antigen wegen eigenlösender Eigenschaften ganz unbrauchbar. Aehnliche Ergebnisse erhielten wir auch mit dem künstlichen Antigen A nach Sachs und Rondini.

Auf Grund dieser Versuche könnte man vielleicht daran denken, gegebenen Falls Antigene von zu geringer Reaktions-

breite durch geeignete schwache Alkalizusätze (vielleicht auch durch Erhitzung?) zu verbessern. Ein dahin gerichteter Versuch mit 2 solchen Antigenen ergab (bei $\frac{n}{540}$ NaOH) bei einem eine bessere Prägnanz der Ausschläge.

Angesichts der relativen Stabilität des Antigens war es weiterhin von Interesse, nachzuforschen, ob die durch höheren Säure- resp. Alkalizusatz unbrauchbar gewordenen Aufschwemmungen durch Wiederherstellung ihrer ursprünglichen Reaktion ihre Brauchbarkeit wiedererlangen können. Tatsächlich gelang es in einer Reihe von Versuchen, sowohl bei Säure als auch bei Alkali (je 16 Sera) durch Hinzufügen der äquivalenten Menge des neutralisierenden Agens den unbrauchbar gewordenen Aufschwemmungen ihre volle ursprüngliche Wirksamkeit zurückzuerstatten. Einen Beleg dafür findet man in der folgenden Tabelle III (siehe p. 344).

Auch hier zeigte das nach Sachs und Rondoni hergestellte künstliche Antigen A dasselbe Verhalten wie das natürliche.

Die soeben demonstrierte Reversibilität der Säure- und Alkaliwirkung auf das „luetische“ Antigen reiht sich denjenigen Befunden an, die schon früher an Toxinen, Komplementen, Agglutinogenen, sowie neuerdings am Choleraantigen gemacht wurden (Morgenroth, Noguchi, Eisenberg, Doerr, Levaditi und Mutermilch) und stimmt auch mit seiner ziemlich hohen Thermoresistenz gut überein.

Haltbarkeit der Antigenaufschwemmung.

Ein weiteres Glied in dieser Kette bildet die von uns festgestellte überraschende Haltbarkeit der Antigenaufschwemmungen. Während man nämlich sonst nach allgemeinem Brauch die Aufschwemmungen sorgfältig jeden Tag frisch herstellt und selbst die Konservierung der alkoholischen Stammlösungen ängstlich überwacht, fanden wir in 27 Einzeluntersuchungen, daß die 2, 3, 21, 45 sowie 69 Tage im Eiskasten aufbewahrte Aufschwemmung eine unverminderte Reaktionsfähigkeit aufwies. Nur einmal ergab ein diagnostisch zweifelhaftes Serum

Tabelle III.

	I Kon- trollen	II Alka- lisierung	III Neutra- lisierung	IV Säuerung	V Neutra- lisierung
	Antigen „C“ 1 + 3 NaCl- Lösung	Antigen wie in I	Antigen wie in I	Antigen wie in I	Antigen wie in I
	Zu 2,4 ccm solcher Auf- schwem- mung wur- den 1,2 ccm NaCl- Lösung zu- gegeben	Zu 2,4 ccm Antigenauf- schwem- mung wur- den 0,6 ccm NaCl- Lösung und 0,6 ccm $\frac{1}{5}$ n. NaOH- Lösung zu- gegeben	Zu 3 ccm Mischung wie in II wurden nach $2\frac{1}{5}$ n. HCl- Lösung zu- gegeben	Zu 2,4 ccm Antigenauf- schwem- mung wur- den 0,6 ccm $\frac{1}{5}$ n. HCl- Lösung und nach $2\frac{1}{5}$ n. 0,6 ccm NaCl zuge- geben	Zu 3 ccm Mischung wie in IV wurden nach $2\frac{1}{5}$ n. 0,6 ccm $\frac{1}{5}$ n. NaOH- Lösung zu- gegeben
Serum R $\frac{3}{4}$ ^b	+++	---	-F.	+++	.X.
2 ^b	+++	-X.	-±.	+++	.X.
Lues 13 ^b	+++	±X.	-X.	+++	.+
Serum No. 1828	X+++	---	-+.	+++	-+.
Ulc. molle	+++	-X.	-+.	+++	-+.
	+++	±X.	F+.	+++	-+.
Serum No. 1889	-++	---	-+.	+++	-+.
L. II	-++	.X.	-+.	+++	-+.
	+++	±X.	F+.	+++	-+.
nicht beh. L. II recens	---	---	---	+++	---
1866	---	-X.	---	+++	---
	-++	±X.	-+.	+++	-+.
Ser. No. 1857	+++	---	++.	+++	++.
Ulc. molle	+++	-X.	++.	+++	++.
Lues?	+++	±X.	++.	+++	++.
Ser. No. 1825	-++	---	-±.	+++	-+.
L. II recid.	+++	-X.	-X.	+++	-+.
nicht beh.	+++	±X.	-+.	+++	-+.
Ser. No. 1823	±+±	---	X+.	+++	++.
L. II recid.	+++	-X.	++.	+++	++.
beh.	+++	±X.	++.	+++	++.
Ser. No. 1608	-±+	---	-±.	+++	-±.
L. II latens	-X+	-X.	-±.	+++	-X.
beh.	-++	±X.	-X.	+++	-+.

Zeichenerklärung wie in Tabelle I. — Probenvolumen = 1 ccm.
— Ambozeptormenge = 0,06 = 3-fache Dosis nach $\frac{3}{4}$ ^b. — Komplement-
menge 0,2 ccm ($\frac{1}{10}$) = 0,02. — Gewaschene Hammelblutkörperchen. —
Ablesung nach $\frac{3}{4}$, 2, 13^b. Das Antigen wurde nach Alkalisierung resp.
Säuerung durch $2\frac{1}{5}$ ^b bei Zimmertemperatur gehalten; dann wurde in je

3 ccm solchen Antigens je 0,6 ccm NaCl-Lösung in Kolonnen II und IV und je 0,6 ccm $\frac{1}{6}$ n. Säure oder Alkali in Kolonnen III und V zugesetzt. Die mit alkalisiertem Antigen angestellten Proben (Kolonne II) hemmen also durchweg; die mit angesäuertem (Kolonne IV) lösen durchweg. Bemerkenswert ist der absolut gleiche Verlauf der Reaktion aller Sera in Kolonne II und IV.

negatives Resultat mit der frischen Aufschwemmung, positives mit der 3 Wochen aufbewahrten — ein Fall, der bis jetzt noch der Aufklärung harret. Ebenso fanden wir, daß das nach Sachs und Rondoni hergestellte künstliche Antigen A sich in wässriger Aufschwemmung bis zu 69 Tagen (vielleicht auch noch darüber hinaus) ohne Veränderung seiner Brauchbarkeit im Eiskasten aufbewahren läßt; 30 Einzeluntersuchungen ergaben hier durchgehend übereinstimmende Resultate mit der frisch hergestellten Aufschwemmung, und das oben erwähnte zweifelhafte Serum ergab auch wieder eine Differenz — positives Resultat mit der frischen, negatives mit der 3 Wochen alten Aufschwemmung.

Ueber die Haltbarkeit der künstlichen Antigene.

Es scheint uns auch angebracht, hier einige Erfahrungen mitzuteilen, die wir seit Abfassung unserer ersten Arbeit über die Haltbarkeit der künstlichen Antigene gemacht haben. Wir haben bereits dort dafür Anzeichen gehabt, daß bei längerer Aufbewahrung die Empfindlichkeit der künstlichen Antigene, ebenso wie diejenige der natürlichen, eine Einbuße erleiden kann. Es liegt dies eben an der chemischen Labilität der in beiden wahrscheinlich den Hauptbestandteil ausmachenden Lipide.

Versuche mit den drei künstlichen Antigenen (S. R. Or., unser S. R., sowie unser Antigen ohne Oelsäure), die während der Ferien im Eiskasten aufbewahrt wurden (direkt vor den Ferien wurden die Flaschen eine Zeitlang fast Tag für Tag behufs Entnahme geöffnet), zeigten nach den Ferien eine beträchtliche Abnahme der Empfindlichkeit, indem die Hemmungen oft abgeschwächt waren, zum Teil aber auch die Antigene bei luetischen Series ganz versagten (62 Untersuchungen, 5 abgeschwächte Reaktionen, 11 Versager im Vergleich mit natürlichem Antigen). Daraufhin versuchten wir nun, wie das auch bei Abschwächung der natürlichen Antigene zuweilen mit Erfolg geübt wird, durch Verwendung konzentrierterer Auf-

schwemmung diese Abschwächung auszugleichen, indem wir die Verdünnung des Antigens 1 + 3 phys. NaCl statt 1 + 4 gebrauchten. Wenn auch die ursprüngliche Empfindlichkeit sich dadurch nicht voll wiederherstellen ließ, so war doch eine Verbesserung der Resultate nicht zu verkennen, indem die Zahl der abgeschwächten Reaktionen abnahm, und die Versager selten wurden. Diese Abschwächung der künstlichen Antigene (über die Schürmannschen haben wir keine eigenen Erfahrungen) sowie ihre Verbesserung durch stärkere Konzentration der Aufschwemmung bildet einen weiteren Beitrag zur Analogisierung der künstlichen Antigene mit den natürlichen.

Die Bedeutung des Volumens der Proben.

Alle bisher beschriebenen Versuche wurden in einem Volumen von 1 ccm angestellt, natürlich unter Einhaltung der relativen Mengenverhältnisse der klassischen 5-ccm-Probe. Es schien uns dabei selbstverständlich, daß diese Abänderung der Technik in keiner Weise die Resultate der Proben beeinflußt, um so mehr, als einzelne Autoren (Landsteiner und Müller, Detre und Brezovsky, Weidanz) in dieser Richtung noch weiter gegangen sind als wir. Da aber kürzlich von Schlimpert der Einwand erhoben wurde, im kleinen Volumen blieben zuweilen Hemmungen aus, die bei 2,5 ccm noch auftreten, haben wir es für nötig erachtet, über diesen Punkt einige Kontrolluntersuchungen anzustellen. Es wurden mit 50 Seris zwei Serien von Proben angestellt, in der ersten in 1 ccm, in der zweiten in 2,5 ccm, unter sonst identischen Bedingungen; 43mal bekamen wir ungefähr übereinstimmende Resultate, 3mal quantitative Unterschiede zugunsten der 2,5-ccm-Probe, 3mal zugunsten der 1-ccm-Probe, einmal endlich gab ein bei 1 ccm negatives Serum eine partielle Hemmung in 2,5 ccm. Das nicht eindeutige Resultat dieser Versuche ließ uns daran denken, daß es nicht so sehr die Verschiedenheit des Volumens, als vielleicht oligodynamische Wirkungen der Eprouvetten und sonstige unkontrollierbare Differenzen der einzelnen Proben sind, die die nicht einsinnigen Abweichungen der äußerst empfindlichen Reaktion verursachen. Von diesem Gedanken-gang ausgehend haben wir mit 8 Seris 4 Serien von Proben angestellt in der Weise, daß einerseits 1-ccm-Proben, andererseits aber 5-ccm-Proben hergestellt wurden und diese letzteren

auf 3 Gläschen zu je 1, 1,5 und 2,5 ccm verteilt wurden. Auch hier erhielten wir ähnliche Abweichungen, wie oben, ebenso, wenn auch in geringerem Grad in einer Reihe, wo mit 8 Seris 3 Serien à 1 ccm aufgestellt wurden. Wenngleich wir also im allgemeinen den etwas vagen Eindruck gewonnen haben, daß die Hemmungen in den 2,5-ccm-Proben etwas deutlicher sind, so glauben wir doch, daß der Vorteil des geringen Serumbedarfes bei der 1-ccm-Probe in der Praxis überwiegen wird und daß man wohl dabei keine Gefahr läuft, prinzipiell falsche Resultate zu bekommen.

Zum Schluß wollen wir nicht verfehlen, auch an dieser Stelle Herrn Prim. Dr. E. Borzęcki für die reichliche Versorgung mit luetischen Seris unseren wärmsten Dank auszusprechen.

Zusammenfassung.

1) Es gelingt durch Herabsetzung der verwendeten Ambozeptordosis (eventuell bis zur 1—2-fachen nach $\frac{3}{4}$ Stunde bestimmten Titerdosis) die Empfindlichkeit der Wassermannschen Reaktion zu steigern.

2) Ebenso gelingt dies durch Verminderung der gewöhnlich gebrauchten Komplementmenge; dabei wird am besten die 3-fache für diese Komplementdosis nach $\frac{3}{4}$ Stunde bestimmte Ambozeptordosis verwendet.

3) Bei Verwendung nichtgewaschener Hammelblutkörperchen scheint die Reaktion etwas empfindlicher zu sein, das Waschen dürfte also wahrscheinlich überflüssig sein.

4) Die Erhitzung der Antigenaufschwemmungen durch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 70° resp. 80° C scheint ihre Leistungsfähigkeit etwas zu erhöhen, diejenige auf 90° resp. 98° C läßt sie jedenfalls unberührt.

5) Schwache Säurezusätze schädigen die Brauchbarkeit der Antigenaufschwemmungen durchaus nicht, ganz schwache Alkalizusätze scheinen sie sogar etwas zu steigern. Stärkere Säure- sowie Alkalizusätze machen die Antigene unbrauchbar, die Neutralisation stellt die ursprünglichen Eigenschaften wieder voll her.

6) Wässrige Antigenaufschwemmungen lassen sich ohne Einbuße ihrer Tauglichkeit bis zu 10 Wochen (vielleicht auch länger) im Eiskasten aufbewahren.

7) Es erscheinen demnach die Antigenaufschwemmungen bedeutend stabiler, als man von vornherein hätte erwarten können.

8) Das künstliche Antigen A von Sachs und Rondoni hat bei längerer Aufbewahrung eine merkliche Abschwächung erlitten, die sich durch größere Konzentration der Aufschwemmungen nur teilweise beheben ließ.

9) Die Wassermannsche Reaktion kann getrost in einem Volumen von 1 ccm angestellt werden. Geringe Unterschiede können auch bei Anstellung identischer Proben von identischem Volumen nicht ganz vermieden werden.

Literatur.

- Armand-Delille, C. R. Soc. de Biol., T. 65, p. 417.
Ballner und v. Decastello, Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 45.
Bauer, J., Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 10.
Bordet et Gengou, Ann. Past., T. 15.
Browning und M'Kenzie, Diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 4, p. 459.
Detre und v. Brezovsky, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 49 u. 50.
Doerr, Dysenterietoxin, Jena 1907.
Eisenberg, Ph., Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 41.
Eisenberg und Nitsch, Diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 4, p. 386.
M'Kenzie, Journ. of Path. a. Bact., Vol. 13, p. 311.
Landsteiner u. Müller, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 7.
Levaditi und Mutermilch, S., C. R. Soc. de Biol., T. 64, p. 844, 1111.
Maslakowetz und Liebermann, Diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 5, p. 554.
Meier, G., Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 51.
Meyer, L., Ibid. 1909, No. 18.
Meirowsky, Ibid. 1909, No. 28.
Miessner und Trapp, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 52, p. 115.
Morgenroth, Festschr. z. Einw. d. path. Inst., Berlin, 1906.
Müller, R., Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 40.
Nicolle et Pozerski, Ann. Past., Vol. 22, No. 1, p. 26.
Noguchi, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 9.
Sachs und Altmann, Art. „Komplementbildung“ im Handb. d. path. Mikr., Erg.-Bd. 2, Heft 3.
— — Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.
Sachs und Rondoni. Ibid. 1908, No. 44.
— — Diese Zeitschr., Bd. 1, Heft 1.
Schlimpert, Deutsche med. Wochenschr., 1909, p. 1386.
Schubert, Zit. bei Miessner und Trapp.
Schütz und Schubert, Ibid.
Schürmann, Med. Klin. 1909, No. 17.
Stern, M., Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 32.
Taage, Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 33.
Weidanz, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, 1908, Ref. Bd. 42, Beiheft.

Nachdruck verboten.

[Aus der Psychiatrischen- und Nervenlinik zu Greifswald.]

Psychiatrische Erfahrungen mit der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. **Benedixson**,
Kgl. Oberarzt und Assistenzarzt der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. November 1909.)

Die bisher in der Psychiatrie mit der Wassermannschen Reaktion gemachten Erfahrungen hat Plaut in einer Monographie „Die Wassermannsche Serodiagnostik der Syphilis in ihrer Anwendung auf die Psychiatrie“ zusammengefaßt und seine eigenen, ausgedehnten Untersuchungen darin mitgeteilt. An der Greifswalder Psychiatrischen- und Nervenlinik wenden wir seit dem 6. Februar 1908 die Wassermannsche Reaktion als wertvolles, diagnostisches Hilfsmittel an. Wir schickten daher Blut und Spinalflüssigkeit unserer Kranken in das Kaiserliche Gesundheitsamt nach Berlin, wo Herr Stabsarzt Dr. Haendel die große Liebenswürdigkeit hatte, auf Veranlassung von Herrn Geh.-Rat Prof. Uhlentuch die Untersuchung vorzunehmen. Wir sprechen auch an dieser Stelle dem Kaiserlichen Gesundheitsamt für diese wertvolle Hilfe unseren wärmsten Dank aus. Es lag nahe, die an unserer Klinik in der Zeit vom 6. Februar 1908 bis zum 15. Januar 1909 mit der Wassermannschen Reaktion gemachten Erfahrungen, mit denen Plauts zu vergleichen, wie es in der beifolgenden Tabelle geschehen ist.

Wir unterscheiden an ihr zwei Hauptabschnitte:

- I. Krankheitsformen nicht luetischer und
- II. solche luetischer Natur.

Zu der ersten Gruppe gehören die Kranken, bei denen weder anamnestisch noch klinisch ein sicherer Anhaltspunkt für Syphilis bestand. Von den 81 untersuchten Sera waren 72 negativ, 5 positiv und 4 verdächtig. Sehen wir uns jedoch die positiv reagierenden Fälle näher an, so finden sich gerade unter ihnen eine Anzahl Kranker, bei denen sich nicht mit derselben Sicherheit Syphilis ausschließen ließ wie bei den

Eigene				I. Nichtluetische	Plaut			
Negativ		Positiv			Negativ		Positiv	
Spin.-Flüss.	Serum	Spin.-Flüss.	Serum		Spin.-Flüss.	Serum	Spin.-Flüss.	Serum
—	3	—	1	a) Psychische				
—	3	—	—	Alkoholismus chronicus	8	10	—	—
—	1	—	—	Korssakoffsche Psychose	3	5	—	—
—	3	—	—	Alkoholwahnsinn	4	4	—	—
4	12	—	(2)	Dementia praecox	3	3	—	—
—	7	—	—	Epilepsie	2	8	—	—
—	4	—	(1)	Hysterie	4	7	—	—
2	8	—	(1)	Man. depr. Irresein	5	9	—	—
—	3	—	1	Tumor cerebri (ausschließl. Gumma)	6	6	—	—
—	2	—	—	Arteriosklerose	13	17	—	1
—	2	—	—	Unfallneurosen	3	3	—	—
—	6	—	2	Multiple Sklerose	2	2	—	1
—	2	—	—	Dementia senilis	1	4	—	—
1	6	—	1	Idiotie bezw. Imbecillität	1	4	—	—
2	4	—	—	Andere psychiatrische Fälle	17	16	—	2
9	63	—	5 (4)		68	95	—	4
3	9	—	—	b) Neurologische	3	7	—	—
—	—	—	—	c) Sonstige Fälle	4	10	—	1
12	72	—	5 (4)	Summa d. nichtluetischen Fälle	75	121	—	5

Nichtluetische.

Negativ		Positiv	
Spin.-Fl.	Serum	Spin.-Fl.	Serum
12	72	—	5 (4)
100%	95%	—	2% (3%)

Nichtluetische.

Negativ		Positiv	
Spin.-Fl.	Serum	Spin.-Fl.	Serum
75	121	—	5
100%	96%	—	4%

übrigen Fällen. Ich führe sie dennoch hier an, weil ich der Meinung bin, daß gerade an der Hand solcher zweifelhafter Fälle der Wert der Wassermannschen Reaktion erläutert werden kann.

Bei dem positiv reagierenden Alkoholikern war, um auf die zweifelhaften Fälle überzugehen, immerhin die Angabe verdächtig, daß zwei seiner Kinder bald nach der Geburt gestorben waren. In der Gruppe Dementia praecox hemmte das Blut stark bei einem jungen Mädchen, das während seiner Psychose sich in Berlin umhertrieb und hier verschiedene sexuelle Abenteuer erlebte. Die Möglichkeit einer Infektion ist nicht ausgeschlossen, zumal bei Frauen der Primäraffekt viel leichter als bei Männern übersehen werden kann. Positiv

Eigene				II. Luetische	Plaut			
Negativ		Positiv			Negativ		Positiv	
Spin.-Flüss.	Serum	Spin.-Flüss.	Serum		Spin.-Flüss.	Serum	Spin.-Flüss.	Serum
1	—	8 (1)	14 (1)	Paralyse	7	0	180 (10)	156
2	—	—	5	Tabes	3	3	7 (1)	11
—	—	2	8	Lues cerebri	17	1	3	19
—	2	—	5 (6)	Sonstige Fälle, bei denen Lues nachgewiesen	27	19	—	72
3	2	10 (1)	32 (7)	Summa der luetischen Fälle	54	23	190 (11)	258

Luetische.

Negativ		Positiv	
Spin.-Fl.	Serum	Spin.-Fl.	Serum
3	2	10 (1)	32 (7)
22%	2½%	71% (70%)	80% (17½%)

Luetische.

Negativ		Positiv	
Spin.-Fl.	Serum	Spin.-Fl.	Serum
54	23	190 (11)	258
21%	8%	74½% (40%)	92%

reagierte ferner das Serum bei einem Kranken, bei dem wir die Diagnose Tumor gestellt hatten; wir vermuteten nach Ausfall der Wassermannschen Reaktion eine syphilitische Neubildung. Leider verloren wir den Fall sehr bald aus den Augen, so daß wir über eine eventuelle Bestätigung unserer Diagnose nichts erfahren konnten. In zwei Fällen von Multipler Sklerose waren wir sehr erstaunt, positive Wassermannsche Reaktion im Blute zu finden. Hiernach hatten sich die betreffenden Individuen zu irgend einer Zeit mit Syphilis infiziert. Es konnte demnach eine Lues noch neben der Multiplen Sklerose bestehen oder die Lues war bei der Entstehung der Multiplen Sklerose mitbeteiligt oder es handelte sich überhaupt um eine Lues cerebri, die das Bild der Multiplen Sklerose nur vortäuschte. Ueber den weiteren Verlauf können wir leider nichts angeben, da die betreffenden Fälle sehr bald wieder unsere Klinik verließen. Wenn wir bei der Berechnung der positiv reagierenden Sera diese zweifelhaften Fälle ausschalten, so kommen wir den von Plaut erhaltenen Resultaten sehr nahe. Die seitlich herausgerückten kleinen Tabellen geben hiervon ein Bild; in Uebereinstimmung mit Plaut fanden wir 100 Proz. der Spinalflüssigkeiten negativ, von den Sera fand Plaut 96 Proz. negativ, 4 Proz. positiv, wir 95 Proz.

negativ, 2 Proz. positiv und 3 Proz. zweifelhaft. (2. Rubrik der seitlich herausgerückten kleinen Tabelle, die eingeklammerten Zahlen bedeuten die fraglichen Resultate.)

Unter II. der Tabelle finden sich die Fälle zusammengestellt, bei denen durch die Anamnese und den klinischen Befund sicher oder doch wahrscheinlich gemacht war, daß zu irgend einer Zeit Lues bestanden hatte. Unter 40 zur Untersuchung gekommenen Sera reagierten 2 negativ, 32 positiv und 7 zweifelhaft. Unter den negativ reagierenden Fällen befand sich ein Mann, der im Anschluß an eine Blutvergiftung eine Psychose bekam. Der Beginn der Psychose und die anamnestische Angabe, daß ein Kind kurz nach der Geburt an einem pemphigusartigen Ausschlag gestorben sei, ließ uns an eine Lues cerebri resp. Paralyse denken. Die Wassermannsche Reaktion in Serum und Spinalflüssigkeit war jedoch auch bei mehrfacher Untersuchung negativ, der weitere Verlauf des Leidens zeigte, daß es sich um eine funktionelle Psychose handelte. Wir können daher wohl annehmen, daß der Ausschlag des Kindes nicht spezifischer Natur gewesen war. Bei einem zweiten Kranken, dessen Blut negativ reagierte, lag die Infektion bereits 29 Jahre zurück. Es kann sich nach Plaut hier 1. um ein Individuum handeln, daß überhaupt nicht, auch nicht im floriden Stadium imstande war, reagierende Substanzen zu bilden, oder 2. um ein Individuum, daß zwar einmal die Reaktion aufwies, sie aber nun verloren hat, möglicherweise aber doch noch luetisch ist oder 3. um einen tatsächlich Geheilten. Schalten wir den ersten der beiden angeführten Fälle aus, der in Bezug auf die syphilitische Infektion zweifelhaft war, so erhalten wir von Spinalflüssigkeiten 22 Proz. negativ, 71 Proz. positiv und 7 Proz. fraglich, von Sera $2\frac{1}{2}$ Proz. negativ, 80 Proz. positiv und $17\frac{1}{2}$ Proz. fraglich. Plaut hatte von Spinalflüssigkeiten 21 Proz. negativ, $74\frac{1}{2}$ Proz. positiv und 4 Proz. fraglich, von Sera 8 Proz. negativ, 92 Proz. positiv. Daß Plaut häufiger im Serum eine negative Wassermannsche Reaktion fand als wir (8 Proz. zu $2\frac{1}{2}$ Proz.) beruht darauf, daß unter seinen Fällen 41 Sera von Kranken sich befinden, die an tertiärer, latenter Lues litten, von denen allein 16 negativ reagierten. Die Erklärung ist dieselbe wie bei dem von uns oben angeführten

Fall, bei dem die Infektion 29 Jahre zurücklag und das Serum negativ reagierte.

Beim Vergleich der Prozentzahlen negativ reagierender Spinalflüssigkeiten und Sera von Individuen, die Lues überstanden haben, zeigt sich, daß die Zahl der negativ reagierenden Spinalflüssigkeiten sehr viel höher ist als die der negativ reagierenden Sera. Es reagierten negativ an Spinalflüssigkeiten 22 Proz. eigene, 21 Proz. Plaut, an Sera 21 $\frac{1}{2}$ Proz. eigene, 8 Proz. Plaut. Es kam dagegen kein Fall zur Beobachtung, bei dem nur die Spinalflüssigkeit positives Resultat gab, das Serum aber negatives.

Es findet sich also durchaus nicht immer gleichzeitig in Blut und Spinalflüssigkeit die Wassermannsche Reaktion. Im Blute wurde sie häufiger nachgewiesen als in der Spinalflüssigkeit. Ein Uebertritt der betreffenden Stoffe aus dem Blute in die Spinalflüssigkeit erfolgt nicht ohne weiteres.

Wenden wir uns dann den einzelnen Rubriken der Tabelle zu. Bei den unter I. angeführten Geistes- und Nervenkrankheiten findet sich nur selten Lues. Es gibt allerdings Formen der Epilepsie und der Arteriosklerose, die sicher durch Lues bedingt sind. Plaut wies bei schwachsinnigen Kindern und ihren Eltern in einer hohen Prozentzahl die Wassermannsche Reaktion nach, so daß auch die bereits bekannte Tatsache, daß Kinder syphilitischer Eltern häufig schwachsinnig sind, dadurch eine Bestätigung erfuhr.

Gehen wir dann auf die einzelnen Rubriken des zweiten Teils der Tabelle ein. Bei 15 Paralytikern fanden wir im Blute 14mal eine positive Reaktion einmal eine fragliche, bei Plautes 156 Fällen war die Reaktion jedesmal positiv, da ein einziger negativ reagierender Fall sich in seinem späteren klinischen Verlauf als eine nicht paralytische Demens erwies. Unter 10 Spinalflüssigkeiten sahen wir 8 positiv, eine fraglich und eine negativ reagieren. Plaut fand bei 197 Fällen 180 positiv, 10 fraglich und 7 negativ.

Bei der Tabes fanden wir nur positiv reagierende Sera und bei der Untersuchung zweier Spinalflüssigkeiten beide Male ein negatives Resultat. Plaut sah von 14 Sera 11

positiv und 3 negativ, von 11 Spinalflüssigkeiten 7 positiv, 1 fraglich und 3 negativ. Schütze, der 78 Sera bei Tabikern untersuchte, fand 51 positiv, von 29 Spinalflüssigkeiten 23 positiv. Plaut ist auf Grund seiner Zahlen der Ansicht, daß bei den meisten Tabikern im Blut und in der Spinalflüssigkeit die Wassermannsche Reaktion positiv ausfällt. Es liegen nach ihm bei der Tabes ähnliche Verhältnisse vor wie bei der Paralyse. Um die Richtigkeit dieses Satzes nachprüfen zu können, war unser Material zu klein; unsere beiden nicht mit Plautes Resultaten übereinstimmenden Fälle berechtigen noch zu keinerlei Schlußfolgerungen.

Ganz dasselbe gilt beim Vergleich unserer Werte, mit denen Plautes für die Rubrik Lues cerebri; wir hatten bei 8 Sera stets positiven Befund, ebenso bei 2 Spinalflüssigkeiten im Gegensatz von Plaut, doch schwankten wir bei einem Falle sehr, ob es sich um Lues cerebri oder Paralyse handelte, während der andere nach seinem weiteren Verlauf wohl sicher eine Paralyse war. Plaut fand unter 20 Sera 19 positive, 1 negatives, unter 20 Spinalflüssigkeiten 17 negative, 3 positive. Aehnliche Erfahrungen machten auch Frenkel-Heiden, der bei 7 untersuchten Spinalflüssigkeiten 5mal einen negativen, 2mal einen positiven Befund hatte, Förster unter 4 Spinalflüssigkeiten 3 negative, 1 positive, Sterz unter 8 keine positive. Plaut kommt auf Grund seiner Resultate zu folgendem differentialdiagnostisch sehr wichtigen Satz: Bei der Lues cerebri ist die Spinalflüssigkeit in der Regel negativ, das Serum in der Regel positiv. Die Lues cerebri steht damit im Gegensatz zu der Paralyse, da bei dieser sich fast ausnahmslos eine positive Reaktion im Serum und in der Spinalflüssigkeit findet.

Ich möchte dann noch kurz darauf eingehen, in welchen Fällen die Wassermannsche Reaktion in differentialdiagnostischer Hinsicht als wertvolles Hilfsmittel verwandt werden kann. Bei der Unterscheidung zwischen Lues cerebri und Paralyse ist nach Plaut der negative Ausfall der Wassermannschen Reaktion in der Spinalflüssigkeit dafür ein Beweis, daß es sich nicht um eine Paralyse handelt. Sollte diese Behauptung den Nachprüfungen stand halten, so hätten wir damit ein

in therapeutischer und prognostischer Hinsicht wertvolles Unterscheidungsmerkmal, da wir bei der Lues cerebri durch eine spezifische Behandlung in manchen Fällen recht gute Resultate erzielen, während wir der Paralyse vollkommen machtlos gegenüberstehen. Gleich wertvoll ist aus denselben Gesichtspunkten auch die Unterscheidung zwischen Lues cerebri und Multipler Sklerose. Noch häufiger und für die Prognose besonders wichtig ist in manchen Fällen die Entscheidung der Frage, ob es sich um eine Alkoholpsychose, Dem. präcox, Epilepsie, Hysterie, Manisch-depressives Ierresein, Tumor cerebri und eine nicht paralytische Demenz handelt oder um die entsprechenden, zum Verwechseln ähnlichen Zustandsbilder der Paralyse und Lues cerebri. In der Unfallpraxis hatten wir wiederholt zu entscheiden, ob es sich um einen nicht paralytischen Demenzzustand nach Kopftrauma handelte oder um eine wirkliche Paralyse. Interessant war auch die Entscheidung bei einem Sittlichkeitsverbrecher, bei dem eine Paralyse oder ein hysterischer Dämmerzustand mit Aufhebung der Achillesreflexe und fast aufgehobenen Patellarreflexen vorlag. Die Wassermannsche Reaktion war im Blute bei der ersten Untersuchung fraglich, bei der zweiten negativ, da in der Spinalflüssigkeit die Wassermannsche Reaktion negativ war, so konnten wir schon deshalb eine Paralyse mit Wahrscheinlichkeit ausschließen, und der weitere Verlauf der Psychose hat uns darin Recht gegeben. In einigen seltenen Fällen bietet dann ferner auch die Neurasthenie differentialdiagnostisch die größten Schwierigkeiten gegenüber einer beginnenden Paralyse. Es wäre natürlich ein Fehler, wenn man bei positivem Ausfall der Reaktion im Blut nun sofort auf eine bestehende Paralyse resp. Lues cerebri schlosse, da der positive Ausfall zunächst weiter nichts besagt, als daß der Betreffende sich zu irgend einer Zeit mit Lues infiziert gehabt hat. Es kann sich hier die Neurose, in anderen Fällen die Psychose vollkommen unabhängig von der Lues entwickelt haben. Der positive Ausfall der Wassermannschen Reaktion im Blute, bei der Paralyse auch der negative, kann daher nur in sehr seltenen Fällen ausschlaggebend sein, in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle darf sie nur als ein wichtiges

23*

Symptom bei den diagnostischen Erwägungen Berücksichtigung finden.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß wir auch eine Anzahl Urine darauf untersuchten, ob die beim Ueberstehen einer Lues im Blute gebildeten Stoffe auch in den Urin übertreten und mit ihm ausgeschieden werden. Die mit diesen Urinen angestellte Wassermannsche Reaktion ergab jedoch in allen Fällen ein negatives Resultat.

Zusammenfassung.

Wir können das Ergebnis unserer Untersuchung dahin zusammenfassen:

1) Die Wassermannsche Reaktion konnte im Blute häufiger nachgewiesen werden als in der Spinalflüssigkeit.

2) Niemals fand sich die Wassermannsche Reaktion allein in der Spinalflüssigkeit, ohne daß sie gleichzeitig auch im Blute nachgewiesen werden konnte.

3) Bei Paralyse kommt fast regelmäßig im Blut und in der Spinalflüssigkeit positive Wassermannsche Reaktion vor.

4) Der negative Blutbefund macht Paralyse unwahrscheinlich.

5) Der positive Blutbefund ist nur mit äußerster Vorsicht zu verwenden.

6) Von prinzipieller Bedeutung scheint es zu sein, Untersuchungen darüber anzustellen, ob bei sicher luetischen Individuen mit gesundem Zentralnervensystem neben dem positiven Nachweis der Wassermannschen Reaktion im Blute stets auch eine negative Reaktion in der Spinalflüssigkeit auftritt. Diese Frage können jedoch der Innere oder der Chirurg an der Hand ihres Krankenmaterials leichter lösen als der Psychiater oder der Neurologe.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin.]

Der Einfluß der Reaktion auf die spezifische Hämolyse.

Von **Leonor Michaelis** und **Peter Skwirsky**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. November 1909.)

1. Theoretische Einleitung (von L. Michaelis).

In der Immunitätslehre stößt man häufig auf das Problem, dem Medium, in dem sich irgendein Vorgang, wie Hämolyse, Agglutination u. dgl. abspielen soll, eine genau bestimmbare Alkalität bzw. Azidität zu erteilen. Von den zahlreichen Fragen, deren Lösung von der exakten Herstellung eines bestimmten Aziditätsgrades abhängt, sei z. B. die Bindung der Toxine und Antitoxine bei wechselnder Reaktion genannt; zumal Morgenroth¹⁾ in verschiedenen Arbeiten nachgewiesen hat, daß solche Bindungen in reversibler Weise gesprengt oder begünstigt werden, je nachdem man dem Gemisch Säuren zufügt oder nicht. So hat z. B. auch Hans Sachs und Altmann²⁾ einen Zusammenhang der Reaktion des Mediums mit dem Ablauf der Wassermannschen Luesreaktion beschrieben.

Nun ist aber in der Immunitätsforschung der Begriff der Azidität und der Alkalität noch nicht in derjenigen einzig richtigen und präzisen Form angewandt worden, wie ihn die moderne physikalische Chemie geschaffen hat, und das hat zu manchen Unklarheiten geführt. Die genannten Autoren haben bisher, um der Lösung einen gewissen Grad von Säuerung zu erteilen, z. B. eine sehr verdünnte Lösung von HCl zugefügt. Eine Säuerung überhaupt wird damit natürlich erreicht, aber welcher Grad der Säuerung erreicht wird, läßt sich, selbst bei peinlichst genauer Abmessung der Säure, im Einzelfall nicht einmal ahnen. Denn wenn man z. B. zu 1 l reinen Wassers nur 1 Millimol HCl zugibt, so ist die erreichte

1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 50. — Morgenroth und Willanen, Virchows Arch., Bd. 190, 1907, p. 371.

2) Hans Sachs und Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

Azidität größer, als wenn man zu reinem Blutserum, welches ja an sich nahezu so neutral wie reines Wasser reagiert, 100 Millimol HCl oder noch mehr zugibt.

Die einzig richtige Definition der Alkalität ist gegeben durch die Konzentration der Hydroxyl-Ionen; wir werden die Konzentration der Hydroxyl-Ionen mit $[\text{OH}']$ bezeichnen; die Definition der Azidität durch die Konzentration der Wasserstoff-Ionen, $[\text{H}']$. Diese beiden Konzentrationen sind in der Weise voneinander abhängig, daß ihr Produkt eine Konstante ist. Man nennt sie die Dissoziationskonstante des Wassers, k_w , und sie beträgt bei 18° $0,64 \cdot 10^{-14}$ und bei 37° ¹⁾ zwischen $2,72$ und $2,84 \cdot 10^{-14}$. Wir werden für unsere Zwecke niemals einen merkbaren Fehler begehen, wenn wir sie für die uns am meisten interessierenden Temperaturen um 37° und 38° herum einfach $= 3 \cdot 10^{-14}$ setzen. Es ist also

$$[\text{H}'] \cdot [\text{OH}'] = k_w = 3 \cdot 10^{-14}.$$

Die Reaktion einer jeden beliebigen wässerigen Lösung kann daher entweder durch $[\text{H}']$ oder durch $[\text{OH}']$ definiert werden. Dem Vorschlag von Friedenthal²⁾ folgend, geben wir stets nur $[\text{H}']$ an, weil die Messungsmethoden der physikalischen Chemie mit Hilfe der Konzentrationsketten meist in direkter Weise zu dem Wert $[\text{H}']$, und nicht $[\text{OH}']$ führen. Bei neutraler Reaktion ist z. B. bei 20° sowohl $[\text{H}']$ wie $[\text{OH}'] = \text{rund } 10^{-7}$, d. h. eine neutrale Lösung verhält sich wie eine $1/10\,000\,000$ normale Säure, und ebenfalls wie eine ebenso verdünnte Lauge.

Wollen wir die „Reaktion“ einer Flüssigkeit definieren, so ist das Naheliegendste³⁾, als „Azidität“ den Bruch $\frac{[\text{H}']}{[\text{OH}]}$ zu definieren, oder als „Alkalität“ den reciproken Wert $\frac{[\text{OH}']}{[\text{H}]}$. Meist aber ist es einfacher, gar nicht die „Azidität“

1) Interpoliert nach den Messungen von Lundén (Journ. de Chemie Physique, T. 5, 1907, p. 589) und von Kohlrausch und Heydweiller (Ann. de Physik, T. 53, 1894, p. 209).

2) H. Friedenthal, Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. 1, 1901, p. 56; Bd. 4, 1904, p. 44; Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1903, p. 551.

3) L. Michaelis und P. Rona, Biochem. Zeitschr., Bd. 18, 1909, p. 317; Fußnote p. 326. — L. Michaelis, Biochem. Zeitschr., Bd. 19, 1909, p. 182; s. p. 185.

selbst anzugeben, sondern nur $[H^+]$, was einfacher zu berechnen und dabei völlig eindeutig ist.

Der Berechnung von $[H^+]$ liegt in den einfachsten Fällen einfach das Arrheniussche Gesetz der elektrolytischen Dissoziation zugrunde.

Da bei starken Säuren und Basen die Dissoziation bei nicht allzu hohen Konzentrationen nahezu vollkommen ist, so können wir ohne einen für unsere Zwecke ins Gewicht fallenden Fehler sagen, daß eine Flüssigkeit, welche 1 g-Mol HCl im Liter enthält, auch in bezug auf $[H^+] = 1$ -fach normal ist.

So einfach liegen aber die Verhältnisse in der Immunitätsforschung niemals. Wir haben es stets mit Flüssigkeiten zu tun, welche infolge ihres Gehalts an Karbonaten, Phosphaten und Eiweiß etwa zugesetzte HCl weitgehend neutralisieren. So hat ein Blutserum, dem wir HCl zu einem Gehalt von $\frac{1}{100}$ Normalität zugeben¹⁾, nicht eine $[H^+]$ von 0,01, sondern von ca. 0,000 001 oder 10^{-7} normal, also fast vollkommene Neutralität. Das Serum verschluckt diese Menge HCl, ohne seine Reaktion in irgendwie nennenswerter Weise zu ändern.

Es ist nun unsere Aufgabe, ein Mittel zu finden, um einer beliebigen Flüssigkeit, auch wenn sie Säuren und Basen „verschluckt“, eine von uns gewünschte Reaktion wirklich zu erteilen.

Dieses Mittel besteht darin, daß wir unsere, meist serumhaltigen Flüssigkeiten mit einer solchen Flüssigkeit im Ueberschuß versetzen, welche, wie das Serum, eine durch äußere Faktoren wenig beeinflussbare konstante Reaktion, aber von beliebig wechselbarem und berechenbarem Grade hat.

Das „regulierende“ Moment im Serum liegt in der Anwesenheit von Karbonaten, Phosphaten und Eiweiß²⁾. Das letztere verbietet sich als künstlicher Reaktionsregulator wegen seiner vielfachen störenden Einflüsse von selbst; die Karbonate leiden an dem Uebelstand, daß ihre Lösungen infolge der Flüchtigkeit der CO_2 veränderlich sind. Als bestes Mittel erwiesen sich die Phosphate. Die Theorie der

1) L. Michaelis und P. Rona, l. c. p. 333.

2) Lawrence J. Henderson, Americ. Journ. of Physiol., Vol. 21, 1908, p. 427.

Phosphatgemische ist daher die Grundlage für die späteren Untersuchungen.

Die Lösung des primären Natriumphosphats, NaH_2PO_4 , reagiert sauer, weil sie zum kleinen Teil in NaOH und H_3PO_4 durch Hydrolyse gespalten ist, und weil von beiden Produkten dieser Hydrolyse je 1 Mol NaOH nur 1 Mol OH' liefert, wogegen 1 Mol H_3PO_4 zunächst 1 Mol $\text{H}' + 1$ Mol $\text{H}_2\text{PO}_4'$, und dieses letztere zum Teil noch weiterhin das zweiwertige Ion HPO_4'' nebst einem zweiten H' -Ion liefert. Es sind also mehr H' -Ionen als OH' -Ionen in Lösung, die Reaktion ist sauer.

Die Lösung des sekundären Natriumphosphats, Na_2HPO_4 , liefert durch Hydrolyse $2 \text{NaOH} + \text{H}_3\text{PO}_4$; und da die beiden NaOH stärker elektrolytisch dissoziiert sind als die Phosphorsäure, so reagiert die Lösung alkalisch.

Durch Mischung von primärem und sekundärem Natriumphosphat kann man nun alle möglichen Abstufungen von Azidität, Alkalität und auch wirkliche Neutralität erreichen. Die Theorie einer Mischung der beiden Phosphatarten gestaltet sich folgendermaßen.

Angenommen, es seien in einer Lösung x Mole NaH_2PO_4 und y Mole Na_2HPO_4 vorhanden. Da alle Natriumsalze selbst in hohen Konzentrationen sehr weitgehend elektrolytisch dissoziiert sind, so enthält die Lösung infolge der Dissoziation des primären Salzes nahezu x g-Mol Na' und x g-Mol $\text{H}_2\text{PO}_4'$ -Ionen¹⁾, aus dem sekundären Salz noch dazu $2 y$ g-Mol Na' und y g-Mol HPO_4'' -Ionen. Zu einem sehr kleinen Teil sind aber diese Salze auch hydrolytisch dissoziiert, und es enthält die Lösung daher auch ein wenig NaOH , welche ihrerseits wieder OH' -Ionen durch elektrolytische Dissoziation abspaltet, und H_3PO_4 , welche ihrerseits H' -Ionen abdissoziiert. Von dem Verhältnis der H' -Ionen zu den OH -Ionen hängt nun die

1) Die weitere Dissoziation des $\text{H}_2\text{PO}_4'$ -Ions in $\text{H}' + \text{HPO}_4''$ ist so geringfügig, daß sie hier nicht störend in Betracht kommt. — Bei Lösungen, die in bezug auf das Natriumsalz etwa einfach normal sind, kommt man der Wahrheit noch näher, wenn man bei Berücksichtigung der unvollkommenen Dissoziation die Konzentration der Ionen nicht $= x$, sondern $= 0,8 x$ setzt. Ebenso wird man bei ca. $\frac{1}{10}$ norm. Lösung $0,9 x$ für x zu setzen haben. Für unsere Zwecke kommt diese kleine Korrektur gar nicht in Betracht.

Reaktion des Gemisches ab. Das Produkt $[H'] \times [OH']$ muß auf alle Fälle bei $37^\circ = 3 \cdot 10^{-14}$ sein.

Betrachten wir nun die elektrolytische Dissoziation der „freien Phosphorsäure“ in diesen Gemischen. Die undissoziierte Phosphorsäure, H_3PO_4 , liefert zunächst durch Abspaltung eines H' -Ions



das einwertige Phosphorsäure-Ion. Die Massenbeziehungen zwischen diesen 3 Molekulgattungen liefert das Massenwirkungsgesetz:

$$1) \quad k_1 \cdot [H_3PO_4] = [H'] \cdot [H_2PO_4'],$$

wo k_1 die Dissoziationskonstante der Phosphorsäure in der ersten Stufe ihrer Dissoziation ist. Die Klammern bedeuten die Konzentration des eingeklammerten Moleküls. Nun ist aber das einwertige Phosphorsäure-Ion H_2PO_4' teilweise weiter dissoziiert in H' und HPO_4'' , ein zweiwertiges Phosphorsäure-Ion. Hier gilt nach dem Massenwirkungsgesetz:

$$2) \quad k_2 \cdot [H_2PO_4'] = [H'] \cdot [HPO_4''],$$

wo k_2 die zweite Dissoziationskonstante der Phosphorsäure ist. Sie ist ¹⁾ rund $= 2 \cdot 10^{-7}$ für 18° und $2,4 \cdot 10^{-7}$ für 38° . Die dritte Dissoziation der Phosphorsäure, $HPO_4'' = H' + PO_4'''$, kommt für uns nicht in Betracht und ist ganz außerordentlich geringgradig.

Aus 2) folgt:

$$[H'] = k_2 \cdot \frac{[H_2PO_4']}{[HPO_4'']}$$

Wir sahen aber, daß bei einem Phosphatgemisch $[H_2PO_4']$ angenähert gleich der Konzentration des primären, $[HPO_4'']$ gleich der des sekundären Natriumphosphats ist, und es ist daher in einer angenäherten, unseren Zwecken genügend genauen Weise (für 38°):

$$3) \quad [H'] = 2,4 \cdot 10^{-7} \times \frac{[\text{primäres Phosphat}]}{[\text{sekundäres Phosphat}]}$$

Mit Hilfe dieser Gleichung läßt sich also $[H']$ berechnen, wenn wir die Menge des primären und des sekundären Phosphats kennen. Es folgt weiterhin aus der Gleichung, daß es

1) Henderson, l. c.; ferner G. A. Abbott und W. C. Bray, Journ. Americ. Chem. Soc., Vol. 31, 1909, p. 729.

nicht auf die absoluten Mengen der beiden Phosphate, sondern nur auf ihr Verhältnis ankommt. Ferner ist im Auge zu behalten, daß eine Lösung dann neutral ist, wenn $[H^+] = [OH^-] = 1,7 \cdot 10^{-7}$ normal ist.

Diese Gleichung 3) gibt einen Näherungswert. Sie gilt um so genauer, je mehr sich das Verhältnis der beiden Phosphate der 1 nähert, läßt sich aber praktisch genügend noch verwenden zwischen einem Verhältnis von mindestens $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{1}$, und wohl noch etwas weiter.

Auf die durch ein solches Phosphatgemisch diktierte Reaktion hat die Gegenwart anderer Säuren und Basen einen relativ geringen Einfluß; die Reaktion wird durch die Phosphate um so genauer vorgeschrieben, je mehr sie relativ die anderen etwa vorhandenen reaktionsbestimmenden Substanzen an Masse übertreffen. Wenn man z. B. 0,1 ccm eines Serums, enthalten in 5 ccm Gesamtvolumen, durch Phosphatzusatz auf eine bestimmte Reaktion bringen will, so wird man dies durch 1 ccm eines Phosphatgemisches mit einem $\frac{1}{4}$ Normalgehalt an Phosphaten der gewollten Mischung recht gut erreichen, dagegen nur unvollkommen durch 0,1 ccm eines gleichen Phosphatgemisches.

Für die meisten Zwecke ist es am besten, die Phosphatgemische in einer für Blutkörperchen isotonischen Konzentration anzuwenden. Das erreicht man bei Anwendung von $\frac{1}{4}$ normalen Lösungen. Man halte sich als Stammlösung vorrätig:

- 1) eine Lösung von 27,4 g $NaH_2PO_4 + 4 H_2O$ in 1 Liter Wasser („einbasisches Natriumphosphat“, Kahlbaum),
- 2) eine Lösung von 51,4 g $Na_2HPO_4 + 12 H_2O$ in 1 Liter Wasser

(d. h. große, nicht verwitterte Kristalle von „Natriumphosphat“ pro analysi, Kahlbaum).

Es ist zwar richtig, daß der Kristallwassergehalt dieser Salze nicht immer konstant ist¹⁾, jedoch macht eine Ab-

1) In der Arbeit von Sørensen (s. unten) finden sich Angaben über die Herstellung konstanter Präparate der Phosphate; als primäres Phosphat verwendet er das wasserfrei kristallisierende Kaliumphosphat, als sekundäres das bis zu einem Gehalt von 2 Mol. Kristallwasser verwitterte Natriumphosphat. Es dürfte sich wohl empfehlen, sich in Zukunft dieser Salze zu bedienen.

weichung bei der Berechnung des Molekulargewichtes selbst um $\frac{1}{3}$ des Gesamtwertes für unsere Zwecke noch recht wenig aus, so daß man sich in praxi darum nicht zu kümmern braucht. Der absoluten Genauigkeit sind ja doch die Grenzen sehr bald dadurch gesetzt, daß die Serumgemische der gewollten Reaktionsänderung stets einen kleinen und nicht genau berechenbaren Widerstand entgegensetzen. Es sind aber, wie wir sehen werden, die Effekte der Reaktionsänderung so allmählich, daß es zwecklos wäre, eine allzu große Genauigkeit anzustreben. Dazu kommt noch, daß wir der Bedingung, einen sehr großen Ueberschuß des Phosphatgemisches zuzugeben, nicht in extremer Weise genügen können, weil dann die Phosphate als solche zu stören beginnen. Deshalb arbeiten wir im allgemeinen in einer isotonischen ClNa-Lösung, der nur eine gewisse Menge eines gewollten Phosphatgemisches jedesmal zugegeben wird.

Die folgende Tabelle gibt die H-Konzentration der verschiedenen Gemische bei 37° an. Es sei Na_1 das Symbol für das primäre Natriumphosphat, Na_2 das für das sekundäre.

$\frac{Na_1}{Na_2} =$	[H·]	Reaktion
$\frac{1}{8}$	$0,15 \cdot 10^{-7}$	alkalisch ↑
$\frac{1}{4}$	$0,30 \cdot 10^{-7}$	
$\frac{1}{2}$	$0,60 \cdot 10^{-7}$	
$\frac{1}{2}$	$1,2 \cdot 10^{-7}$	→ neutrale Reaktion ($1,3 \cdot 10^{-7}$)
$\frac{1}{4}$	$2,4 \cdot 10^{-7}$	sauer ↓
$\frac{1}{2}$	$4,8 \cdot 10^{-7}$	
$\frac{1}{4}$	$9,6 \cdot 10^{-7}$	
$\frac{1}{2}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$	} → durchschnittliche Reaktion sauren Harnes
$\frac{1}{2}$	$3,8 \cdot 10^{-6}$	

Dieses Bereich ließe sich nun dadurch erheblich erweitern, daß man noch reines primäres und reines sekundäres Natriumphosphat benutzt. Die Theorie der Reaktion der reinen, ungemischten Phosphate ist anders, hier ist die Reaktion nicht mehr von ihrer absoluten Konzentration

unabhängig, und da das angegebene Bereich für die vorliegenden Untersuchungen vollständig ausreicht, wollen wir uns vorläufig damit begnügen. Es sei darauf hingewiesen, daß man nach den aus der Nernstschen Schule hervorgegangenen Arbeiten von Fels¹⁾ und Salesski²⁾ in ähnlicher Weise stärker saure und alkalische Reaktionen durch Kombination von Essigsäure mit Natriumacetat, von Ammoniak mit Chlorammonium u. a. herstellen kann, und ganz neuerdings hat Sörensen³⁾ in sehr vollständiger Weise bei verschiedenartigen ähnlichen Kombinationen die $[H^+]$ -Konzentration durch Messungen sehr genau bestimmt und uns ein Mittel an die Hand gegeben, nötigenfalls jede gewünschte Azidität und Alkalität herzustellen.

2. Literatur über den Reaktionseinfluß auf die spezifische Hämolyse.

Untersuchungen über den Einfluß des Mediums überhaupt auf die spezifische Hämolyse liegen schon eine ganze Reihe vor. Sie betreffen meist den Einfluß der Salzkonzentration auf die spezifische Hämolyse.

Die Autoren stimmen darin überein, daß bei erhöhter Salzkonzentration eine Hemmung der Hämolyse eintritt⁴⁾. Ueber den Einfluß von Säuren und Alkalien liegen Untersuchungen noch v. Liebermann⁵⁾, Hecker⁶⁾ und Rondoni [s. bei H. Sachs⁴⁾] vor. Soweit es sich um die Wirkung größerer Mengen Säuren und Alkalien handelt, ist es sichergestellt, daß sie zum mindesten das Komplement einfach zerstören⁷⁾. Von geringen Alkalikonzentrationen fand v. Liebermann⁵⁾,

1) Fels, Zeitschr. f. Elektrochemie, Bd. 10, 1904, p. 208.

2) Salesski, Zeitschr. f. Elektrochemie, Bd. 10, 1904, p. 204.

3) Sörensen, Biochem. Zeitschr., Bd. 21, 1909, p. 131.

4) Vergl. darüber Hans Sachs, Hämolyse und Cytotoxine des Blutserums, Handbuch der Technik etc. von Kraus und Levaditi, Bd. 2, p. 1001 ff.

5) v. Liebermann, Biochem. Zeitschr. Bd. 4, 1907, p. 25; siehe bes. p. 29.

6) Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. in Frankfurt, Heft 3, 1907.

7) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1899, No. 22.

daß sie einen hemmenden, aber reversiblen Einfluß haben. Hecker¹⁾ fand ähnliches und deutete diese Tatsache in dem Sinne, daß die Komplemente eine reversible Veränderung durch das Alkali erfahren. Interessanterweise zeigt Hecker, daß die durch Salzsäure erzeugte Hemmung der Hämolyse nicht reversibel sei, während in einem Gegensatz dazu nach v. Liebermann und Sachs und Altmann (l. c.) durch sehr geringe Säuremengen die Hämolyse beschleunigt werden soll.

Die in diesen Angaben noch bestehenden Unklarheiten beruhen zum großen Teil auf der ungenauen Definition der Alkalität bzw. Azidität. Von den genannten Autoren hat nur v. Liebermann den Versuch gemacht, von der wirklich erreichten Alkalität nach Zusatz der Lauge sich Rechenschaft zu geben, jedoch gibt er kein Mittel an, um die Reaktion in abgestufter Weise willkürlich zu verändern.

Zu erwähnen ist noch eine interessante Angabe von Markl²⁾. Aus der Arbeit von Markl ergibt sich, daß der Zusatz von primärem Natriumphosphat die Hämolyse unterdrückt. Die Deutung wurde zum Teil ganz richtig in der Weise gegeben, daß die saure Reaktion die Ursache dafür sei. Jedoch wurde eine Bestimmung der Azidität noch nicht gegeben und auch Reihen mit abgestufter Alkalität bzw. Azidität noch nicht angestellt. Auch steht auf der anderen Seite die Angabe von Markl damit in Widerspruch, daß man das Phosphat auch durch ClNa ersetzen könne; erhöhte Konzentration desselben hemme in der gleichen Weise. Es wird sich zeigen, daß Markl hier die auch von anderen Autoren sicher-gestellte Hemmung durch Erhöhung der Salzkonzentration mit der Hemmung durch Reaktionsänderung zusammen-geworfen hat. Bei dem damaligen Stand der Dinge kann ihm ein Vorwurf daraus nicht gemacht werden.

3. Der Verlauf der Hämolyse bei verschiedener Reaktion.

Wenn wir uns nun die Aufgabe stellen, den Einfluß der Azidität auf die Hämolyse als Ganzes festzustellen, so müssen

1) Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther. in Frankfurt, Heft 3, 1907.

2) Markl, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, 1902.

wir da verschiedene Einflüsse der Reaktion auseinanderhalten, die nicht miteinander zusammenzuhängen brauchen. Einen zerstörenden Einfluß hat die Azidität in den von uns angewendeten Grenzen auf keine der beteiligten Komponenten, auch nicht auf die Blutkörperchen. Das wird aus den einzelnen Versuchsreihen hervorgehen. Wenn wir also, vorgehend, diesen an sich denkbaren Einfluß ausschalten können, so bleibt noch übrig:

- 1) der Einfluß auf die Bindung des Ambozeptors;
- 2) " " " " " " Komplements;
- 3) " " " " Wirkung des hämolytischen Systems.

Zunächst aber muß der Einfluß der Reaktion auf den gesamten Ablauf der Hämolyse in toto festgestellt werden.

a) Der Einfluß der Reaktion auf den Ablauf der Hämolyse.

Es wird in eine Reihe von Reagenzgläsern zuerst eine bestimmte Menge eines Phosphatgemisches von wechselnder Zusammensetzung, ferner 0,5 ccm 5-proz. gewaschene Blutkörperchen, Komplement (0,05 ccm Meerschweinchenserum) und Ambozeptor (gewöhnlich die 2—3-fach lösende Dosis), sowie 0,85-proz. NaCl-Lösung bis zu einem stets konstanten Volumen von 2,5 ccm eingefüllt und der zeitliche Ablauf der Hämolyse beobachtet.

Versuch 1.

Phosphatgemisch 1,0 ccm, Gesamtvolumen 2,5 ccm.

Zusammensetzung des Phosphatgemisches $\frac{Na_1}{Na_2} =$	‡	†	‡	0,85-proz. NaCl statt Phosphat
Hämolyse nach 50 Min.	.	komplett	.	komplett
" " 60 "	.	komplett	.	.
" " 85 "	komplett	.	keine Spur Hämolyse	.

Versuch 2.
Phosphatgemisch je 0,5 ccm.

	1	2	3	4	5	6	7	8
	reines, primäres Phosph.	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$	reines, sekundäres Phosph.	NaCl statt Phosphat
					Optimum			
20 Min.	Beginn
40 "	Beginn	.	.	fast. kpl.
50 "	.	.	.	Beginn	fast kpl.	Beginn	Beginn	kopl.
55 "	.	.	.	fast kpl.	kopl.	kopl.	Schleier	.
60 "	.	.	.	Schleier	.	.	"	.
65 "	.	.	.	kopl.	.	.	"	.
80 "	.	.	Beginn	.	.	.	kopl.	.
24 St. (Eis.)	0	0	unvollst.	kopl.	kopl.	kopl.	kopl.	.

Versuch 3.
Verschiedene Phosphatmengen. (Ambozeptor 4-fach lösende Dosis.)

	a						b					c				
	1	2	3	4	5	Kontrolle	1a	2a	3a	4a	5a	1b	2b	3b	4b	5b
	je 1,0 ccm Phosphat					1,0ccm 0,85 % NaCl	je 0,5 ccm Phosphat					je 0,25 ccm Phosphat				
	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$	0,85 % NaCl	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$
				Optimum					Optimum					Optimum		
30 Min.	kpl.	.	.	Schl.	Schl.	.	.	.	Schl.	Schl.	.
45 "	.	.	.	Schl.	Schl.	.	.	.	kpl.	kpl.	Schl.	.	.	kpl.	kpl.	kpl.
60 "	.	.	Schl.	kpl.	kpl.	kpl.	Schl.
75 "	.	.	kpl.	Schl.	.	.	.	Schl.	kpl.	.	.	.
95 "	0	Spur Hämolyse	0	kpl.	.	.	.	kpl.
24 Std. Eis-schrank	0	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	Spur Hämol.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.

Betrachten wir den Ausfall dieser Versuche, so ergibt sich zunächst übereinstimmend, daß es ein wenn auch nicht sehr scharfes Optimum der Reaktion gibt. Ueberschreitung desselben (reines sekundäres Phosphat) nach der alkalischen Seite hin hemmt etwas, Ueberschreitung nach der sauren Seite sistiert die Hämolyse bald vollkommen. Die Lage des Optimums liegt bei reichlichem Phosphatzusatz bei $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{16}$; bei geringem Phosphatzusatz scheint es sich nach $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{4}$ zu ver-

schieben. Das ist aber nur scheinbar. Denn wie wir oben erörterten, entspricht die wahre Reaktion bei geringem Phosphatzusatz nicht mehr genau der berechneten, sondern liegt zwischen der Eigenreaktion des Blutserums (welches in Form des Komplementes stets zugegen ist) und der aus dem Phosphatgemisch berechneten Reaktion. In der Tat, wenn wir das Röhrchen $\frac{1}{4}$ aus der Reihe c, mit dem entsprechenden Röhrchen aus Reihe a vergleichen, so haben sie gegen Lackmuspapier nicht die gleiche Reaktion, vielmehr entspricht $\frac{1}{4}$ aus Reihe a dem Röhrchen $\frac{1}{4}$ aus Reihe c. Das Optimum der Reaktion liegt also ungefähr — sehr scharf läßt es sich nicht definieren — bei dem Gemisch $\frac{1}{4}$, d. h. bei $[H^+] = 0,6 \cdot 10^{-7}$. Das ist also eine eben spurweise alkalische Reaktion, ziemlich entsprechend derjenigen des Blutes oder des frischen Blutserums ($= 0,4 \cdot 10^{-7}$)¹⁾. Andererseits wird durch das saure Gemisch $\frac{1}{4}$, also $[H^+] = 3,8 \cdot 10^{-6}$, jede Spur der Hämolyse unterdrückt, auch bei sehr großem (30-fachen) Ueberschuß an Ambozeptor, wie weitere Versuche zeigten.

Wir finden demnach bei Berücksichtigung der Reaktionsverschiebung durch das Komplementserum, daß in der Tat die Lage des Optimums von der absoluten Menge der Phosphate unabhängig ist. Dagegen wird die absolute Geschwindigkeit der Hämolyse durch viel Phosphate ein wenig verringert, was man wohl als eine spezielle Salzwirkung zu deuten hat, die den Phosphaten zukommt. Daher ist die Hämolyse in dem Kontrollröhrchen ohne Phosphate, nur mit ClNa, stets ein wenig früher beendet als in den anderen. Da in den Kochsalzröhrchen das Blutserum (Komplement) bestimmend für die Reaktion ist, so können wir hier eine $[H^+]$ von 0,3 bis $0,4 \cdot 10^{-7}$ oder, infolge Entweichens von etwas CO_2 , ein klein wenig alkalischer²⁾ annehmen, die also jedenfalls dem Optimum äußerst nahe liegt.

Vergleicht man die Geschwindigkeit der Hämolyse mit und ohne Phosphatzusatz, so findet man also, daß selbst bei

1) Messungen der Reaktion des Blutes bei 38° s. L. Michaelis und P. Rona, l. c., p. 331.

2) Ueber den Einfluß des Entweichens von CO_2 auf die Reaktion des Serums s. Michaelis und Rona, l. c., Biochem. Zeitschr., 1909.

dem optimalen Phosphatgemisch die Hämolyse langsamer erfolgt als in reiner ClNa-Lösung und zwar um so langsamer, je mehr Phosphate zugegen sind, ohne daß die osmotische Konzentration der Lösung erhöht ist. Man muß also den Phosphat-Ionen als solchen einen hemmenden Einfluß zuschreiben, der einer eingehenderen Untersuchung bedürfte, hier aber nur erwähnt werden soll.

Um dem Einfluß der Salzkonzentration bei der Deutung der vorhergehenden Versuche Rechnung zu tragen, sind noch Kontrollversuche ausgeführt worden, von denen folgender beschrieben werden mag:

Versuch 5.

	hemmendes Gemisch		optimales Gemisch				Kontrolle
	1	2	3	4	5	6	7
Phosphatgemisch { Art	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	0
Menge	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0
2,5-proz. ClNa-Lösung	0,0	0,0	0,0	0,5	0,25	0,0	0
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,0	0,25	0,0	0,0	0,25	0,5	1,5
Komplement ($\frac{1}{1}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Ambozeptor (3 lös. Dosen)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,0
Blutk. (5-proz.)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
destilliertes Wasser ¹⁾	0,5	0,25	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5

Resultat (nach 2-stündigem Verweilen bei Bruttemperatur und 24-stündigem im Eisschrank):

No. 1: Nur so viel gelöst, wie am Anfang bei Zugabe des destillierten Wassers. Das Uebrige ungelöst geblieben. Dasselbe Resultat in No. 7 (Kontrolle ohne Ambozeptor).

No. 2: Keine Spur von Hämolyse.

No. 3: Komplett.

No. 4: Fast komplett.

No. 5: Komplett.

No. 6: Komplett.

Es findet sich die Angabe der Autoren bestätigt, daß eine hypertonsche Lösung die Hämolyse hemmt (Versuch 4). Jedoch tritt andererseits bei einem sauren Gemisch ($\frac{1}{1}$) selbst bei starker, die Blutkörperchen zum Teil schon schädigender

1) Sofort nach Hinzufügen von destilliertem Wasser in der Menge von 0,5 ccm teilweise Hämolyse in den Röhren 1, 3 und 7.

Hypotonie keine Lösung ein (Versuch 1), während eine starke Hypertonie bei einem Gemisch $\frac{1}{4}$ nur eine mäßige Hemmung hervorruft (No. 4). Der Einfluß der Reaktion ist daher viel stärker als der Einfluß mäßiger Schwankungen der osmotischen Konzentration.

b) Die Umkehrung der Phosphatgemische.

Die nächste Frage ist, ob die Hemmungen durch die sauren Phosphatgemische umkehrbar sind. Die Versuche wurden in der Weise gemacht, daß in den obigen Reihen zu denjenigen Röhren, in denen auch nach 24 Stunden die Hämolyse ausgeblieben war, nachträglich das umgekehrte Phosphatgemisch zugesetzt wurde, also zu 1 ccm reinen Na_1 wurde 1 ccm reines Na_2 zugegeben; zu 1 ccm $\frac{1}{8}$ wurde 1 ccm $\frac{1}{8}$ zugegeben usw. Auf diese Weise wird stets das Gemisch $\frac{1}{4}$ endgültig hergestellt, welche dem Optimum ziemlich nahe liegt. Es zeigte sich nun durchweg, daß die Hemmung der sauren Phosphate durch diese nachträgliche Aenderung der Reaktion selbst nach 24 Stunden Aufenthalt im Eisschrank vollkommen rückgängig gemacht wird. Andererseits wird auch durch die hemmende, zu stark alkalische Reaktion des reinen sekundären Phosphats durch nachträgliche Neutralisierung wieder aufgehoben:

I		II (Kontrolle)	
Komplement ($\frac{1}{8}$)	0,5	Komplement ($\frac{1}{8}$)	0,5
rein Na_2 -Lösung	0,25	0,85-proz. ClNa	0,125
1 Stunde Brutschrank.			
Dazu:		Dazu:	
reine Na_1 -Lösung (zur Herstellung der optim. Reaktion)	0,125	Phosphat ($\frac{\text{Na}_1}{\text{Na}_2} = \frac{1}{4}$)	0,375
0,85-proz. ClNa	0,125		
Blutkörperchen	0,5	Blutkörperchen	0,5
Ambozeptor (3-fach)	0,5	Ambozeptor	0,5

Resultat: Gleichzeitige Hämolyse in I und II.

Wir können daraus zunächst schließen, daß weder der Ambozeptor noch das Komplement durch die ungünstige Reaktion zerstört werden, sondern daß nur eine Hemmung der Wirkung vorliegt, deren Angriffspunkt nunmehr festgestellt werden muß.

Zur Beurteilung dieser Reversibilität sei darauf hingewiesen, daß die Hämolyse in den Röhrcchen mit nachträglich korrigierter Reaktion genau so schnell eintritt wie in denjenigen, welche von vornherein gleich das richtige Phosphatgemisch in entsprechender Menge enthalten, d. h. also ein wenig langsamer wie ganz ohne Phosphate.

c) Die Wirkung auf die Bindung des Ambozeptors.

Die Sensibilisierung der Blutkörperchen wurde bei der für die Hämolyse ungünstigen Reaktion, $\frac{Na_1}{Na_2} = \frac{1}{1}$, vorgenommen, dann die Blutkörperchen abzentrifugiert, zu den Blutkörperchen Komplement und das optimal wirksame Phosphatgemisch $\frac{Na_1}{Na_2} = \frac{1}{4}$ zugesetzt. Die Hämolyse trat glatt ein.

5-proz. Blutkörperchen	3 ccm
$\frac{1}{4}$ Phosphatgemisch	3 „
Ambozeptor (die 2 $\frac{1}{2}$ -fach lösende Menge)	5 „

Nach 10 Minuten langem Aufenthalt bei 37° zentrifugiert, Blutkörperchen mit 0,85-proz. ClNa gewaschen, zentrifugiert und mit 5 ccm 0,85-proz. ClNa-Lösung, 1 ccm Phosphat $\frac{1}{4}$ und Komplement versetzt. In $\frac{1}{2}$ Stunde komplette Hämolyse.

Die Bindung des Ambozeptors wird also durch die höhere Azidität nicht gehemmt.

Dementsprechend fielen auch Versuche, gebundenen Ambozeptor durch Waschen mit einem Phosphatgemisch $\frac{1}{4}$ abzulösen, durchaus negativ aus: Sensibilisierte Blutkörperchen wurden in einem Phosphatgemisch $\frac{1}{4}$ stark geschüttelt, abzentrifugiert, wieder geschüttelt, schließlich mit Komplement versetzt, es trat rasch Hämolyse ein.

d) Die Wirkung auf die Bindung des Komplements.

I.	II.
1 ccm Phosphat $\frac{1}{4}$	1 ccm 0,85-proz. ClNa-Lösung
0,5 „ Ambozeptor (3-fach)	0,5 „ Ambozeptor (3-fach)
0,5 „ Blutkörperchen	0,5 „ Blutkörperchen
0,5 „ Komplement ($\frac{1}{16}$)	0,5 „ Komplement

Beide gleichzeitig angesetzt. Sobald in II komplette Hämolyse eingetreten ist, wird I zentrifugiert und die Flüssig-

keit, nach Zugabe des umgekehrten Phosphatgemisches $\frac{1}{8}$ (1 ccm), mit sensibilisierten Blutkörperchen versetzt. Hämolyse komplett.

Die zentrifugierten Blutkörperchen von Versuch I dagegen, mit 2,0 ccm ClNa-Lösung + 0,5 Phosphat $\frac{1}{4}$ versetzt, bleiben ungelöst.

Das Komplement wird also bei der ungünstigen Reaktion nicht gebunden, aber auch nicht zerstört.

Es wurde nun der Versuch unternommen, festzustellen, ob das einmal bei günstiger Reaktion gebundene Komplement bei nachträglicher Ansäuerung noch in seiner Wirkung gehemmt wird. Es handelt sich hier zunächst darum, mit Ambozeptor und Komplement beladene Blutkörperchen zu gewinnen, die noch nicht gelöst sind. Dieses konnte in einigen Versuchen durch geeignete Abkühlung erreicht werden. Der Ehrlich-Morgenrothsche Kälteversuch zeigt, daß durch starke Abkühlung die Bindung des Komplements an sensibilisierte Blutkörperchen verhindert werden kann. Durch Probieren der Temperatur kann man aber zu einem Zustand gelangen, wo das Komplement sich schon zum größten Teil gebunden hat, aber noch keine Hämolyse eingetreten ist.

Es wurde so verfahren. Zu sensibilisierten, dann abgekühlten Blutkörperchen wurde kaltes Komplement zugefügt. Dann wurde eine Probe dieser Mischung dazu benutzt, um nach raschem Abzentrifugieren in eisgekühlten Gefäßen, Waschen und Auffüllen mit ClNa-Lösung den Eintritt der Bindung des Komplements durch die nunmehr eintretende Hämolyse bei 37° zu erweisen. Diese Kontrollprobe fiel je nach den Umständen in einigen Versuchen zur Zufriedenheit aus, in anderen nicht. Beweisend sind nur diejenigen Versuche, bei denen die Kontrolle die Bindung des Komplements erwies. Eine zweite Probe wurde genau gleich behandelt, nur zum Schluß statt mit reiner ClNa-Lösung mit einem Phosphatgemisch $\frac{1}{6}$ versetzt. Es trat nun hier trotz nachgewiesener Komplementbindung keine Komplementwirkung ein.

Das konnte entweder daran liegen, daß das Komplement durch die saure Reaktion wieder abgelöst wurde, oder daran,

daß sogar gebundenes Komplement zur Entfaltung seiner Wirkung eine günstige Alkalität des Mediums verlangt.

Es wurden wieder sensibilisierte Blutkörperchen bei 3°—9° für 5—45 Minuten mit Komplement versetzt und von Zeit zu Zeit Proben entnommen, an denen die schon eingetretene Bindung des Komplements nachgewiesen werden sollte; in einer zweiten Probe wurden die Blutkörperchen kalt abzentrifugiert, gewaschen, mit der üblichen Menge Phosphatgemisch $\frac{1}{8}$ und ClNa versetzt, verschieden lange, im Zimmer oder im Brutschrank, behalten, öfters geschüttelt, dann abzentrifugiert, und die Flüssigkeit auf freies Komplement geprüft. Es fand sich kein Komplement darin, wohl aber ließ es sich in den Blutkörperchen nach Abänderung der Phosphatmischung nachweisen. Es werden also die mit Ambozeptor und Komplement beladenen Blutkörperchen bei saurer Reaktion des Mediums nicht gelöst, obwohl die gebundenen Substanzen von den Blutkörperchen nicht wieder abgelöst werden.

Kontrolle

1,0 ClNa-Lösung	}	ebenso
0,5 Blutkörperchen		
0,5 Ambozeptor (2 $\frac{1}{2}$ -fach lösende Dosis)		
$\frac{1}{4}$ Stunde bei 37°. Abgekühlt, 0,5 Komplement ($\frac{1}{10}$) eiskalt zugesetzt und im Wasserbad 10 Minuten bei 3° bis 7° gehalten. Abzentrifugiert.	}	ebenso
Zum Bodensatz 1,0 ccm Phosphat $\frac{1}{8}$ und 1,5 ccm ClNa-Lösung zugesetzt. 37°. Keine Hämolyse.		
		Zum Bodensatz 2,5 ccm ClNa-Lösung zugesetzt. 37°. In 20 Minuten Hämolyse.

Dieser Versuch wurde häufig unter Modifikation der Temperatur und der Zeit wiederholt, oft mißlang er, zum Teil, weil die Kontrolle eine noch ungenügende Bindung des Komplements in der Kälte ergab, wir verfügen aber über 4 in obigem Sinne gut gelungene Versuche.

Wurden die nicht hämolysierten Blutkörperchen der linken Kolumne nochmals abzentrifugiert und in das Phosphatgemisch $\frac{1}{4}$ versetzt, so trat in einem daraufhin untersuchten Fall Hämolyse ein.

Es wird also gebundenes Komplement durch ein saures Phosphatgemisch nicht wieder abgelöst, trotzdem aber seine hämolytische Wirkung

verhindert. Jedoch gelang dieser Versuch nicht immer, und es bleibt in diesem Punkte noch eine gewisse Unklarheit bestehen. Möglicherweise klärt sich diese auf, wenn man die Dissociation des Komplements in „Mittelstück“ und „Endstück“¹⁾ künftig mitberücksichtigt.

Immerhin haben wir nachgewiesen, daß unter gewissen Umständen Blutkörperchen mit Ambozeptor und gesamtem Komplement beladen sein können, und trotzdem wegen ungünstiger Bedingung des äußeren Mediums keine Hämolyse eintritt.

Zusammenfassung.

Durch Mischung von primärem und sekundärem Natriumphosphat läßt sich die Reaktion des Mediums in einer berechenbaren Weise willkürlich modifizieren.

Die spezifische Hämolyse hat ihr Optimum bei einer minimal alkalischen Reaktion, entsprechend derjenigen des Blutes; durch Erhöhung der Alkalität wird sie gehemmt, leichter noch durch eine geringe saure Reaktion unterdrückt. Diese Hemmung beruht nicht auf einer Verhinderung der Ambozeptorbindung, sondern auf einer Verhinderung der Komplementbindung.

Aber auch schon gebundenes Komplement wird, vor Eintritt der Hämolyse auf saure Reaktion gebracht, an seiner Wirkung verhindert, ohne nachweislich von den Blutkörperchen wieder abgelöst zu werden.

Alle beschriebenen Hemmungen sind reversibler Natur, bei nachträglicher Korrektur der Reaktion tritt stets Hämolyse ein.

1) Ferrata, Berl. klin. Wochenschr. 1907, p. 366. — H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr. 1907, No. 16, 17, 19.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. IV. No. 4.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut (Vorstand: Prof. Schattenfroh) und der I. chirurgischen Klinik (Vorstand: Prof. Freih. v. Eiselsberg) der k. k. Universität in Wien¹⁾.]

Präzipitogene des Kotes und der Ausscheidungen sowie der zelligen Auskleidung des Magen-Darmtraktes²⁾.

Von

Dr. Ernst Bresna,
Privatdozent für Hygiene an der
k. k. technischen Hochschule in
Wien.

und

Dr. Egon Ranzi,
Assistent und Privatdozent für
Chirurgie an der k. k. Universität
in Wien.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. November 1909.)

Im Oktober vorigen Jahres haben wir eine kurze Reihe von Versuchen publiziert, welche die Beziehungen zwischen den Präzipitogenen des Kotes, der Sekrete des Magen-Darmtraktes, der epithelialen Auskleidung des Darmes und des Blutserums betrafen. Diese Versuche wurden seitdem auf breiterer Basis und mit zum Teil verbesserter Technik wiederholt, fortgesetzt und erweitert, außerdem aber eine Reihe anderer das gleiche Thema betreffender Versuche unternommen. Hinsichtlich der Technik der Gewinnung der Antigene sei auf die frühere Publikation hingewiesen, desgleichen hinsichtlich der früheren Literatur. Doch sind gleichzeitig und nach jener einige Arbeiten von Kraus und Wilenko erschienen, in denen unsere durch Versuche mit Antigenen vom Hunde gewonnenen Resultate durch solche mit menschlichen Antigenen (natürlich bei entsprechend veränderter Technik) durchgehende Bestätigung fanden.

I.

Wir arbeiteten mit Dünndarm- und Dickdarmzellenextrakt, Dünndarm- und Dickdarmsekret,

1) Ausgeführt mit Unterstützung der Kais. Akademie der Wissenschaften aus dem Legate Wedl.

2) Nach einem in der Versammlung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie am 5. Juni 1909 in Wien gehaltenen Vortrage.

Galle, Kotextrakt und Blutserum des Hundes und gewannen durch Injektion dieser Substanzen von Kaninchen wirksame Immunsera. Für die Fällungsversuche wurde mitunter noch Magensaft und, da uns Pankreassekret leider nicht zur Verfügung stand, Pankreasextrakt herangezogen. Die Versuchstechnik war folgende:

Graduierte Röhrrchen in entsprechender Zahl wurden mit gleichen Mengen (meist 0,8 ccm) eines Immunserums beschickt, erhielten hierauf heterologe Antigenlösung, und zwar stets 2 Röhrrchen die gleiche. Die nach 2-stündigem Verweilen im Brutschrank und Aufbewahren im Eisschrank bis zum folgenden Tage entstandenen Niederschläge (heterologe Fällung) wurden abzentrifugiert, die klaren Flüssigkeiten in frische Röhrrchen pipettiert, ein zweites Mal mit der gleichen Antigenlösung versetzt, und dann vorgegangen, wie eben beschrieben. In dieser Weise wurde eventuell ein drittes und viertes Mal verfahren, bis kein Niederschlag mehr auftrat. Für jedes Röhrrchen wurde die Gesamtmenge der so entstandenen Niederschläge, „heterologe oder primäre Fällung“, bestimmt.

Die mit heterologem Antigen ausgefällten Immunsera (richtiger Mischungen von Immunserum mit heterologer Antigenlösung) erhielten nun Zusätze gleicher Mengen homologen Antigens, und zwar abermals wiederholt bis zum Ausbleiben jedes Niederschlages, also bis zur vollkommenen Ausfällung. Die so entstandenen Niederschläge wurden gleichfalls für jede einzelne Probe als „homologe oder sekundäre Fällung“ summiert. Hätten wir ähnlich zusammengesetzte Reaktionsflüssigkeiten, nur mit verschiedenartigen Antigenen, vor uns gehabt, so wäre aller Wahrscheinlichkeit nach beim Einhalten gleicher Versuchsbedingungen die Gesamtsumme der heterologen und homologen Fällung bei einem und demselben Immunserum stets gleich, die Verwandtschaft des heterologen Antigens zu demjenigen, das zur Erzeugung des Immunserums gedient hatte (zum homologen) direkt proportional der heterologen oder primären Fällung, umgekehrt proportional der homologen oder sekundären Fällung gewesen. Wir hatten es aber mit auf verschiedene Weise gewonnenen Lösungen (Galle, Zellenextrakte, verdünnte Se-

krete usw.) mit verschiedenem und quantitativ unbekanntem Antigengehalte zu tun und mußten daher schon durch Zusatz verschiedener Anfangsmengen dieser Lösungen in den zwei bei jedem Versuche mit dem gleichen Antigen versetzten Röhrchen (2. Röhrchen stets die 3—4-fache Menge des ersten) trachten, daß wenigstens ein Versuch brauchbar wurde. Naturgemäß repräsentierte die größere Menge mitunter bereits einen Ueberschuß — es trat spezifische Lösung ein, die Größe der heterologen Fällung war dann in den betreffenden Röhren nicht mehr bestimmbar; bei Zusatz zu kleiner Mengen war mitunter 4malige Ausfällung nötig, was zu Ungenauigkeiten führte. Diese Umstände aber zeitigten folgendes größere Uebel.

Wie bekannt, ist die Größe des entstehenden Präzipitates bei gleichen reagierenden Körpern von deren gegenseitigem Mengenverhältnis abhängig. (Es war daher nicht gleichgültig, ob die Ausfällung durch einen erstmaligen größeren Zusatz von Antigen oder durch mehrere kleine Zusätze stattfand.) Da uns nun die äquivalenten Mengen unserer heterologen Antigene unbekannt waren, und es auch nicht möglich war, sie immer von neuem festzustellen, so durfte es uns nicht wundern, wenn die Befunde in Parallelversuchen oft nicht übereinstimmten, ferner wenn die Summen der Niederschläge (heterolog + homolog) nicht gleich waren. Aber nicht nur die heterologen, sondern auch die homologen Niederschläge waren in solchen Fällen öfters verschieden, so daß wir zu der Vermutung kommen mußten, der ungleiche Eiweißgehalt der Flüssigkeitsgemische übe einen von Fall zu Fall verschiedenen, unkontrollierbaren Einfluß auf die Bildung des Niederschlages aus. Dabei ließ sich keinerlei Gesetzmäßigkeit beobachten, derart etwa, daß ein größerer Niederschlag erzielt wurde, wenn das Antigen in einer größeren Zahl kleinerer Portionen zugesetzt wurde, oder umgekehrt. Dagegen war eine Tatsache ziemlich regelmäßig zu beobachten: selten genügte einmaliger Zusatz eines Antigens zum Immunserum, um das gesamte Präzipitin auszufällen, öfters auch dann nicht, wenn der erste Zusatz ein anscheinend überschüssiger gewesen war, was aus dem Beginn spezifischer Lösung geschlossen werden mußte.

Eine weitere Erschwerung der Versuche lag in der mitunter zu beobachtenden Neigung mancher antigenhaltiger

Flüssigkeiten, spontan Niederschläge zu bilden. Namentlich bei Galle war das nicht gerade selten zu beobachten. Diese Fällungen unterschieden sich von den spezifischen durch ihre größere Masse und durch ihre oft späte (nach Tagen erfolgende) Bildung, während sie durch Kontrollproben mit Rücksicht auf die Regellosigkeit ihres Auftretens nicht immer hätten erkannt werden können.

Alle diese Momente waren für unsere Bemühungen, die gegenseitige biologische Verwandtschaft der fraglichen Körperbestandteile zu eruieren, und namentlich eine Analyse des Kotes in dieser Richtung vorzunehmen, wenig günstig, unsere Erfolge sind daher nicht durchwegs befriedigend.

Die bei jedem einzelnen Immunserum durch die Ausfällung gewonnenen Resultate (siehe Uebersicht der Präzipitationsversuche) stellten wir in 3-facher Weise zusammen: Wir ordneten die Antigene 1) nach der Größe des entstandenen heterologen Niederschlages (fallend), 2) in umgekehrter Richtung (vom Minimum zum Maximum) nach der Größe der homologen Fällung, 3) nach der Größe des Mengenverhältnisses heterologe: homologe Fällung. Wo zwei Röhrchen im Versuche nebeneinander gestanden waren und der erste heterologe Antigenzusatz auch in der 2. Reihe nirgends im Ueberschuß erfolgt war, wurde die Ordnung für jede der beiden Röhrchenreihen gesondert vorgenommen. Wir erhielten so die Antigene in 3- bzw. 6-facher Weise zusammengestellt.

Die Ordnung nach dem Mengenverhältnisse heterologe: homologe Fällung erschien uns aus verschiedenen Gründen empfehlenswert.

Ordnete man die Antigene nach der bloßen absoluten Menge der Niederschläge, so waren kleine, innerhalb des Bereiches der Fehlergrenzen liegende Mengenunterschiede ebenso maßgebend, wie große Differenzen. Bei der Berechnung von Verhältniszahlen dagegen mußten erstere vor letzteren verschwinden. Ferner war, wie schon gesagt, zu vermuten, daß der mit Rücksicht auf die Gewinnungsart der Antigene schwankende Eiweißgehalt der in den Versuchsröhrchen enthaltenen Gesamtflüssigkeit unkontrollierbare hemmende Wirkungen auf die Größe der Fällungen ausübe. Diese Einflüsse,

auf die, wie wir meinen, die verschiedenen Unstimmigkeiten der Versuche hauptsächlich zurückzuführen sind, mußten aber, falls sie in einem oder dem anderen Röhrchen auftraten, die heterologe Fällung sowie die homologe in gleichem Sinne treffen. Es war daher zu erwarten, daß in den berechneten Verhältniszahlen dieser störende Einfluß, wenn nicht ausgeschaltet, so doch abgeschwächt erscheinen werde. In der Tat zeigen die in dieser Weise aufgestellten Reihen mitunter bessere Uebereinstimmung als jene, bei welchen die absolute Menge des heterologen oder homologen Niederschlages maßgebend gewesen war. Die Berechnung der Verhältniszahlen hatte auch noch den Vorteil, daß hierdurch die verschiedenen Versuche (mit verschiedenen Immunseren) vergleichbar wurden, was bei den Zahlen, welche die absolute Größe einer Fällung ausdrückten, mit Rücksicht auf die verschiedene Stärke der Sera naturgemäß nicht der Fall sein konnte. Diesen Zahlen sind daher, wie wir im folgenden sehen werden, einzelne interessante Aufschlüsse zu danken.

Bei den so gebildeten Reihen zeigte sich nicht immer die zur Erzielung bestimmter Resultate nötige vollkommen gleiche Ordnung der Glieder. Die Mehrzahl ließ nur eine Aehnlichkeit in dieser Ordnung in mehr oder weniger groben Umrissen erkennen. Die aus allen hierher gehörigen Versuchen mit Sicherheit sich ergebenden Tatsachen seien nunmehr zuerst hervorgehoben (siehe die Tabelle auf p. 380/81).

1) Alle geprüften Antigene weisen einen gewissen Grad von Verwandtschaft auf, denn es kam niemals vor, daß eines der Immunsera mit einem der heterologen (jedoch arteigenen) Antigene gar keine Fällung erzeugt hätte¹⁾.

2) Eine völlige Uebereinstimmung zwischen zwei von uns geprüften Antigenen hinsichtlich der präzipitierenden Eigenschaften ist niemals zu beobachten, stets ließ ein heterologes Antigen nach Ausfällung eines Immunserums in diesem etwas Präzipitin zurück, das erst durch das homologe Antigen zur Fällung gebracht werden

1) Von einem Ausnahmefalle: Kotextraktserum-Pankreassekret kann man absehen.

Uebersicht der Präzipitinversuche

Präzipitogen	1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe			1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe		
	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällung	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällung	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällg.	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällg.	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.
	1) Dünndarmzellen-Serum						2) Dünndarmzellen-Serum					
Dünndarmzellen
Dünndarmsekret	1,1 ¹⁾	0,4	2,7	1,5	0,4	3,7	0,3
Dickdarmzellen	1,7	0,8	2,1	1,3	0,6	2,1	1,7
Dickdarmsekret	1,0
Galle	1,2	0,7	1,7	1,1	0,5	2,2
Blutserum	0,1	1,3	0,08	0,2	1,4	0,14	0,3
Pankreasextrakt
Kotextrakt	1,0	0,3	3,3	1,0	0,7	1,4	2,0
	5) Dickdarmzellen-Serum						6) Dickdarmsekret-Serum					
Dünndarmzellen	1,8	Kuppe ²⁾	9,0	1,8	Kuppe	9,0	Kuppe	0,4	0,5	.	.	.
Dünndarmsekret	1,0	Spur	∞	.	.	.
Dickdarmzellen	0,3	0,3	1,0	.	.	.
Dickdarmsekret	1,6	0,5	3,2	1,9	0,4	4,7
Galle	0,4	0,2	2,0	.	.	.
Blutserum	0,6	1,3	0,46	0,4	1,4	0,3	0,25	0,6	0,4	.	.	.
Magensaft
Kotextrakt	1,1	Kuppe	5,5	0,7	Kuppe	3,5	0,5	Spur	∞	.	.	.
	9) Kotextrakt-Serum						10) Kotextrakt-Serum					
Dünndarmzellen	0,9	1,8	0,5	0,9	1,4	0,6	4,6	0,4	11,5	3,3	0,8	4,1
Dünndarmsekret	0,8	1,0	0,8	1,1	1,0	1,1	4,3	2,0	2,2	4,2	1,5	2,8
Dickdarmzellen	0,7	1,5	0,47	0,8	1,5	0,5	3,0	3,0	1,0	3,1	1,8	1,7
Dickdarmsekret	0,6	2,3	0,26	0,6	2,2	0,27	3,0	2,6	1,15	2,4	2,9	0,8
Galle	0,3	2,2	0,14	Spur	2,2	0,0	3,0	2,8	1,07	3,6	3,6	1,0
Blutserum	0,6	1,8	0,3	0,7	1,7	0,4	1,6	4,1	0,4	1,0	4,3	0,23
Pankreasextrakt	0,0	1,6	0,0	0,0	1,0	0,0

konnte, wenn auch manchmal der homologe Niederschlag gegenüber dem heterologen so gering war, daß die Uebereinstimmung der beiden Antigene eine weitgehende sein mußte.

3) Die in der vorigen Arbeit von uns geäußerte Vermutung, daß das Kotextrakt die in den Darmzellen und Sekreten vorhandenen Antigene unverändert enthalten könne, ist hiermit fallen zu lassen.

1) Die Zahlen bedeuten Teilstriche der graduierten Röhren, 1,0 = $\frac{1}{40}$ ccm.

2) Bei Berechnung der Verhältniszahlen als 0,2 angenommen.

mit Antigenen vom Hunde.

Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällung	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällung	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällung	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.	Heterologe oder primäre Fällung	Homologe oder sekundäre Fällung	Verhältniszahl d. heterologen zur homologen Fällg.
1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe			1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe		
3) Dünndarmsekret-Serum						4) Dünndarmsekret-Serum					
4,1	1,8	2,3	3,9	2,0	2,0	4,0	1,1	3,6	3,5	1,8	1,9
.	2,5	3,7	0,68	2,5	2,9	0,86
3,2	2,8	1,14	3,2	2,6	1,2	3,2	3,7	0,87	3,2	2,8	1,1
1,9	2,8	0,68	2,3	2,5	0,92	3,0?	2,5?	1,2	3,0?	2,5?	1,2
1,0	3,2	0,31	0,9	3,5	0,26	0,9	4,5	0,2	0,9	4,6	0,2
0,3	3,0	0,1	0,4	2,3	0,17
1,4	2,2	0,64	1,6	1,8	0,89	2,6	2,5	1,0	2,8	2,1	1,3
7) Gallen-Serum						8) Blut-Serum					
2,0	Spur	∞	.	0,3	.	2,7	16,7	0,16	1,6	15,7	0,1
1,1	Kuppe	5,5	.	0,4	.	9,1	8,4	1,1	12,5	6,7	1,9
.	4,8	10,7	0,45	3,9	14,8	0,26
1,3	0,7	1,9	.	0,4	.	4,4	11,7	0,38	4,6	11,1	0,41
.	2,8	19,0	0,15	2,4	10,4	0,23
Spur	2,0	0,0	.	2,0
.	6,7	9,8	0,68	6,7	9,8	0,68
1,8	Kuppe	9,0	.	Kuppe	.	1,7	17,0	0,1	1,2	15,0	0,08
11) Kotextrakt-Serum						12) Kotextrakt-Serum					
0,9	Kuppe	4,5	.	Kuppe	.	1,2	0,8	1,5	.	1,2	.
1,1	1,0	1,1	.	1,8	.	1,8	1,6	1,1	.	1,4	.
1,1	0,6	1,8	.	0,7	.	1,1	1,3	0,85	.	1,1	.
0,6	0,9	0,7	.	1,2	.	0,6	1,4	0,4	.	1,3	.
0,7	1,0	0,7	.	1,0	.	0,6	0,8	0,75	.	0,8	.
Spur	1,6	0,0	.	2,2	.	Spur	1,4	0,0	.	2,5	.
.

Es gelang, wie schon aus Punkt 2 hervorgeht, bei sorgfältiger Prüfung niemals, ein Darmzellen- oder Darmsekretserum durch Kotextrakt vollkommen (also auch für das homologe Antigen ganz) auszufällen. Die präzipitierenden Stoffe dieser Substanzen müssen im Darmkanal eine Modifikation erfahren, ein Befund, der sich mit dem von Kraus und Wilenko auf anderem Wege erhobenen deckt. Diese Autoren fanden, daß die durch Injektion von Kotextrakt aus verschiedenen Darmpartien stammenden präzipitierenden Sera mit dem Kotextrakt aus der gleichen Darmpartie stets die stärkste Fällung geben.

Tabelle I.
Dünndarmzellenserum 0,8 ccm.

1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe		
geordnet nach der Größe					
der heterologen oder primären Fällung	der homologen oder sekundären Fällung	des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen	der heterologen oder primären Fällung	der homologen oder sekundären Fällung	des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen
fallend	steigend	fallend	fallend	steigend	fallend
Dickdarm-Zell. 1,7	Kotextrakt 0,3	Kotextrakt 3,3	Dünndarm-Sekr. 1,5	Dünndarm-Sekr. 0,4	Dünndarm-Sekr. 3,7
Galle 1,2	Dünndarm-Sekr. 0,4	Dünndarm-Sekr. 2,7	Dickdarm-Zell. 1,3	Galle 0,5	Galle 2,2
Dünndarm-Sekr. 1,1	Galle 0,7	Dickdarm-Zell. 2,1	Galle 1,1	Dickdarm-Zell. 0,6	Dickdarm-Zell. 2,1
Kotextrakt 1,0	Dickdarm-Zell. 0,8	Galle 1,7	Kotextrakt 1,0	Kotextrakt 0,7	Kotextrakt 1,4
Blutserum 0,1	Blutserum 1,3	Blutserum 0,08	Blutserum 0,2	Blutserum 1,4	Blutserum 0,14

Tabelle II.
Dünndarmzellenserum 0,8 ccm.

Kotextrakt 2,0
Dickdarm-Zell. 1,7
Dickdarm-Sekr. 1,0
Dünndarm-Sekr. 0,3
Blutserum 0,3

Tabelle III.
Dünndarmsekretserum 0,8 ccm.

Dünndarm-Zell. 4,1	Dünndarm-Zell. 1,8	Dünndarm-Zell. 2,3	Dünndarm-Zell. 3,9	Kotextrakt 1,8	Dünndarm-Zell. 2,0
Dickdarm-Sekr. 3,2	Kotextrakt 2,2	Dickdarm-Sekr. 1,14	Dickdarm-Sekr. 3,2	Dünndarm-Zell. 2,0	Dickdarm-Sekr. 1,2
Galle 1,9	Dickdarm-Sekr. 2,8	Galle 0,68	Galle 2,3	Pankreas-extrakt 2,3	Galle 0,92
Kotextrakt 1,4	Galle 2,8	Kotextrakt 0,64	Kotextrakt 1,6	Galle 2,5	Kotextrakt 0,89
Blutserum 1,0	Pankreas-extrakt 3,0	Blutserum 0,31	Blutserum 0,9	Dickdarm-Sekr. 2,6	Blutserum 0,26
Pankreas-extrakt 0,3	Blutserum 3,2	Pankreas-extrakt 0,1	Pankreas-extrakt 0,4	Blutserum 3,5	Pankreas-extrakt 0,17

Tabelle IV.
Dünndarmsekretserum 0,8 ccm.

1. Röhrechenreihe			2. Röhrechenreihe		
geordnet nach der Größe					
der heterologen oder primären Fällung		homologen oder sekundären Fällung	der heterologen oder primären Fällung		des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen
fallend	steigend	fallend	fallend	steigend	fallend
Dünndarm-Zell. 4,0	Dünndarm-Zell. 1,1	Dünndarm-Zell. 3,6	Dünndarm-Zell. 3,5	Dünndarm-Zell. 1,8	Dünndarm-Zell. 1,9
Dickdarm-Sekr. 3,2	Kotextrakt 2,5	Galle 1,2	Dickdarm-Sekr. 3,2	Kotextrakt 2,1	Kotextrakt 1,3
Galle 3,0?	Galle 2,5?	Kotextrakt 1,0	Galle 3,0?	Galle 2,5?	Galle 1,2
Kotextrakt 2,6	Dickdarm-Sekr. 3,7	Dickdarm-Sekr. 0,87	Kotextrakt 2,8	Dickdarm-Sekr. 2,8	Dickdarm-Sekr. 1,1
Dickdarm-Zell. 2,5	Dickdarm-Zell. 3,7	Dickdarm-Zell. 0,68	Dickdarm-Zell. 2,5	Dickdarm-Zell. 2,9	Dickdarm-Zell. 0,86
Blutserum 0,9	Blutserum 4,5	Blutserum 0,2	Blutserum 0,9	Blutserum 4,6	Blutserum 0,2

Tabelle V.
Dickdarmzellenserum 0,8 ccm.

Dünndarm-Zell. 1,8	Dünndarm-Z. Kuppe ¹⁾	Dünndarm-Zell. 9,0	Dickdarm-Sekr. 1,9	Dünndarm-Zell. Kuppe	Dünndarm-Zell. 9,0
Dickdarm-Sekr. 1,6	Kotextrakt Kuppe	Kotextrakt 5,5	Dünndarm-Zell. 1,8	Kotextrakt Kuppe	Dickdarm-Sekr. 4,7
Kotextrakt 1,1	Dickdarm-Sekr. 0,5	Dickdarm-Sekr. 3,2	Kotextrakt 0,7	Dickdarm-Sekr. 0,4	Kotextrakt 3,5
Blutserum 0,6	Blutserum 1,3	Blutserum 0,46	Blutserum 0,4	Blutserum 1,4	Blutserum 0,3

Tabelle VI.
Dickdarmsekretserum.

Dünndarm-Sekr. 1,0	Dünndarm-Sekr. Spur	Dünndarm-Sekr. ∞	.	.	.
Kotextrakt 0,5	Kotextrakt Spur	Kotextrakt ∞	.	.	.
Galle 0,4	Galle 0,2	Galle 2,0	.	.	.
Dickdarm-Zell. 0,3	Dickdarm-Zell. 0,3	Dickdarm-Zell. 1,0	.	.	.
Blutserum 0,25	Dünndarm-Zell. 0,4	Dünndarm-Zell. 0,50	.	.	.
Dünndarm-Zell. Kuppe	Blutserum 0,6	Blutserum 0,4	.	.	.

1) Kuppe = 0,2 ger.

Tabelle VII.
Gallenserum 0,8 ccm.

1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe		
geordnet nach der Größe					
der heterologen oder primären Fällung		des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen	der heterologen oder primären Fällung		des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen
fallend	steigend	fallend	fallend	steigend	fallend
Dünndarm-Zell. 2,0	Dünndarm-Zell. Spur	Dünndarm-Zell. ∞	.	Kotextrakt Kuppe	.
Kotextrakt 1,8	Kotextrakt Kuppe	Kotextrakt 9,0	.	Dünndarm-Zell. 0,3	.
Dickdarm-Sekr. 1,3	Dünndarm-Sekr. Kuppe	Dünndarm-Sekr. 5,5	.	Dünndarm-Sekr. 0,4	.
Dünndarm-Sekr. 1,1	Dickdarm-Sekr. 0,7	Dickdarm-Sekr. 1,9	.	Dickdarm-Sekr. 0,4	.
Blutserum Spur	Blutserum 2,0	Blutserum 0,0	.	Blutserum 2,0	.

Tabelle VIII.
Blutserumserum 0,8 ccm.

Dünndarm-Sekr. 9,1	Dünndarm-Sekr. 8,4	Dünndarm-Sekr. 1,1	Dünndarm-Sekr. 12,5	Dünndarm-Sekr. 6,7	Dünndarm-Sekr. 1,9
Magensaft 6,7	Magensaft 9,8	Magensaft 0,68	Magensaft 6,7	Magensaft 9,8	Magensaft 0,68
Dickdarm-Zell. 4,8	Dickdarm-Zell. 10,7	Dickdarm-Zell. 0,45	Dickdarm-Sekr. 4,6	Galle 10,4	Dickdarm-Sekr. 0,41
Dickdarm-Sekr. 4,4	Dickdarm-Sekr. 11,7	Dickdarm-Sekr. 0,38	Dickdarm-Zell. 3,9	Dickdarm-Sekr. 11,1	Dickdarm-Zell. 0,26
Galle 2,8	Dünndarm-Zell. 16,7	Dünndarm-Zell. 0,16	Galle 2,4	Dickdarm-Zell. 14,8	Galle 0,23
Dünndarm-Zell. 2,7	Kotextrakt 17,0	Galle 0,15	Dünndarm-Zell. 1,6	Kotextrakt 15,0	Dünndarm-Zell. 0,1
Kotextrakt 1,7	Galle 19,0	Kotextrakt 0,1	Kotextrakt 1,2	Dünndarm-Zell. 15,7	Kotextrakt 0,08

Tabelle IX.
Kotextraktserum 0,8 ccm.

Dünndarm-Zell. 0,9	Dünndarm-Sekr. 1,0	Dünndarm-Sekr. 0,8	Dünndarm-Sekr. 1,1	Dünndarm-Sekr. 1,0	Dünndarm-Sekr. 1,1
Dünndarm-Sekr. 0,8	Dickdarm-Zell. 1,5	Dünndarm-Zell. 0,5	Dünndarm-Zell. 0,9	Pankreas-Extr. 1,0	Dünndarm-Zell. 0,6
Dickdarm-Zell. 0,7	Pankreas-Extr. 1,6	Dickdarm-Zell. 0,47	Dickdarm-Zell. 0,8	Dünndarm-Zell. 1,4	Dickdarm-Zell. 0,5

1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe		
geordnet nach der Größe					
der heterologen oder primären Fällung	homologen oder sekundären Fällung	des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen	der heterologen oder primären Fällung	homologen oder sekundären Fällung	des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen
fallend	steigend	fallend	fallend	steigend	fallend
Dickdarm-Sekr. 0,6	Dünndarm-Zell. 1,8	Blutserum 0,3	Blutserum 0,7	Dickdarm-Zell. 1,5	Blutserum 0,4
Blutserum 0,6	Blutserum 1,8	Dickdarm-Sekr. 0,26	Dickdarm-Sekr. 0,6	Blutserum 1,7	Dickdarm-Sekr. 0,27
Galle 0,3	Galle 2,2	Galle 0,14	Galle Spur	Galle 2,2	Galle 0,0
Pankreas-Extr. 0,0	Dickdarm-Sekr. 2,3	Pankreas 0,0	Pankreas-Extr. 0,0	Dickdarm-Sekr. 2,2	Pankreas-Extr. 0,0

Tabelle X.

Kotextraktserum 0,8 ccm.

Dünndarm-Zell. 4,6	Dünndarm-Zell. 0,4	Dünndarm-Zell. 11,5	Dünndarm-Sekr. 4,2	Dünndarm-Zell. 0,8	Dünndarm-Zell. 4,1
Dünndarm-Sekr. 4,3	Dünndarm-Sekr. 2,0	Dünndarm-Sekr. 2,2	Galle 3,6	Dünndarm-Sekr. 1,5	Dünndarm-Sekr. 2,8
Dickdarm-Zell. 3,0	Dickdarm-Sekr. 2,6	Dickdarm-Sekr. 1,15	Dünndarm-Zell. 3,3	Dickdarm-Zell. 1,8	Dickdarm-Zell. 1,7
Galle 3,0	Galle 2,8	Galle 1,07	Dickdarm-Zell. 3,1	Dickdarm-Sekr. 2,9	Galle 1,0
Dickdarm-Sekr. 3,0	Dickdarm-Zell. 3,0	Dickdarm-Zell. 1,0	Dickdarm-Sekr. 2,4	Galle 3,6	Dickdarm-Sekr. 0,8
Blutserum 1,6	Blutserum 4,1	Blutserum 0,4	Blutserum 1,0	Blutserum 4,3	Blutserum 0,23

Tabelle XI.

Kotextraktserum 0,8 ccm.

Dünndarm-Sekr. 1,1	Dünndarm-Zell. Kuppe	Dünndarm-Zell. 4,5	.	Dünndarm-Zell. Kuppe	.
Dickdarm-Zell. 1,1	Dickdarm-Zell. 0,6	Dickdarm-Zell. 1,8	.	Dickdarm-Zell. 0,7	.
Dünndarm-Zell. 0,9	Dickdarm-Sekr. 0,9	Dünndarm-Sekr. 1,1	.	Galle 1,0	.
Galle 0,7	Dünndarm-Sekr. 1,0	Galle 0,7	.	Dickdarm-Sekr. 1,2	.
Dickdarm-Sekr. 0,6	Galle 1,0	Dickdarm-Sekr. 0,7	.	Dünndarm-Sekr. 1,8	.
Blutserum Spur	Blutserum 1,6	Blutserum 0,0	.	Blutserum 2,2	.

Tabelle XII.
Kotextrakt-Serum 0,8 ccm.

1. Röhrenreihe			2. Röhrenreihe		
geordnet nach der Größe					
der heterologen oder primären Fällung		des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen	der heterologen oder primären Fällung		des Verhältnisses der heterologen Fällung zur homologen
fallend	steigend	fallend	fallend	steigend	fallend
Dünndarm-Sekr. 1,8	Dünndarm-Zell. 0,8	Dünndarm-Zell. 1,5	.	Galle 0,8	.
Dünndarm-Zell. 1,2	Galle 0,8	Dünndarm-Sekr. 1,1	.	Dickdarm-Zell. 1,1	.
Dickdarm-Zell. 1,1	Dickdarm-Zell. 1,3	Dickdarm-Zell. 0,85	.	Dünndarm-Zell. 1,2	.
Dickdarm-Sekr. 0,6	Dickdarm-Sekr. 1,4	Galle 0,75	.	Dickdarm-Sekr. 1,3	.
Galle 0,6	Blutserum 1,4	Dickdarm-Sekr. 0,4	.	Dünndarm-Sekr. 1,4	.
Blutserum Spur	Dünndarm-Sekr. 1,6	Blutserum 0,0	.	Blutserum 2,5	.

Versucht man aus unseren Versuchen Detailbefunde zu erheben, so fällt bei den Versuchen mit Dünndarmsekretserum (Tabelle III, IV) auf, daß Dünndarmzellen unter den der Darmwand entstammenden Antigenen an der Spitze der Reihe stehen, also mit dem homologen Antigen anscheinend am nächsten verwandt sind, ein gleiches gilt wenigstens in dem vollständigeren der beiden Gegenversuche (Tabelle I, 2. Röhrenreihe), umgekehrt von Dünndarmzellenserum und Dünndarmsekret als Antigen. Diese Tatsache, daß Dünndarmzellen und -sekret einander nahestehen, ist gewiß nicht verwunderlich. Doch besteht, wie schon oben hervorgehoben, auch zwischen diesen beiden Substanzen als Antigenen keine vollkommene Identität. Es ist daher nicht tunlich, bei Versuchen dieser Art, wenn das Sekret einer Drüse nicht zu erhalten ist, das Extrakt aus dem Drüsenparenchym an dessen Stelle zu verwenden. Aus diesem Grunde ließen wir bald davon ab, Pankreasextrakt in die Versuche mit einzubeziehen. Dickdarmsekretserum (Tabelle XI) wird

von Dünndarmsekret fast vollkommen ausgefällt (Verhältniszahl ∞), während umgekehrt (Tabelle III, IV) bei Zusatz von Dickdarmsekret zu Dünndarmsekret-Serum in letzterem ein großer Teil der Präzipitine zurückbleibt (Verhältniszahl klein), die dann nur durch das homologe Antigen (Dünndarmsekret) ausfällbar sind. Die im Dickdarmsekret enthaltenen Präzipitogene kommen also vermutlich zum größten Teil auch im Dünndarmsekret vor, letzteres enthält aber noch spezifische Präzipitogene in größerer Menge dazu. Tatsächlich ist ja ersteres bedeutend ärmer an festen Substanzen als das letztere. Analoge Beziehungen, doch nicht so ausgesprochen, scheinen zwischen Dickdarm- und Dünndarmzellen zu herrschen.

Gallenserum (Tabelle VII) wird durch die Darmsekrete und Zellenextrakte stärker ausgefällt als umgekehrt die Darmsera durch Galle. Es scheint also die Galle gegenüber den genannten Substanzen nur wenig spezifische Präzipitogene zu enthalten, diese hingegen außer den mit der Galle gemeinsamen Präzipitogenen noch in größerer Zahl solche, welche im Sekret der Leber nicht vorhanden sind. Fast vollkommen voneinander verschiedene Antigene enthalten Galle einer-, Blutserum andererseits (Tabelle VII, VIII). Von dem eigentümlichen Verhalten der Galle wird später noch die Rede sein.

Die Fällungen der Darmsera mit Blutflüssigkeit (Tabelle I—VI) waren, wie schon in der vorigen Arbeit hervorgehoben, verhältnismäßig gering, diese enthält also zum größeren Teile in den Darmzellen und -sekreten nicht vorkommende Antigene. Am meisten Verwandtschaft scheint sie wohl noch zum Sekret des Dünndarmes zu besitzen, welches sich auch hier als ein ungemein reaktionsfähiges, anscheinend die verschiedensten wirksamen Gruppen enthaltendes Sekret erweist. Die wenigsten Beziehungen hat das Blutserum zum Kotextrakt (Tabelle VIII), und hiermit gelangen wir zum ursprünglichen Ausgangspunkte unserer Arbeiten zurück.

Die Ausfällungsversuche mit Hundekotextrakt-Serum (Tabelle IX—XII) weisen nicht nur, miteinander verglichen, Verschiedenheiten auf, sondern auch jeder

Einzelversuch, für sich betrachtet, ist nicht vollkommen eindeutig. Um letztere Schwierigkeiten zu eliminieren, hat sich die oben beschriebene und begründete Methode der Berechnung des Verhältnisses der heterologen zur homologen Fällung besonders bewährt. Daß die einzelnen Versuche untereinander verschiedene Resultate ergeben, ist nicht auffallend, wenn wir uns vor Augen halten, daß die Bestandteile, welche den Kot bilden helfen, nicht nur in wechselnder Menge daran partizipieren, sondern daß die Veränderungen, der Abbau, welchen diese Substanzen im Darmrohre erleiden, eben je nach ihrer wechselnden Menge, nach den bakteriellen Vorgängen und nach dem verschieden langen Verweilen im Darm, nicht immer gleich ausfallen können. Die mit verschiedenem Kote hergestellten Immunsera müssen dann auch ungleich wirken.

Immerhin zeigen die Versuche ziemlich klar, daß Dünndarmzellen und -sekret wohl wegen der weit größeren Länge des Dünndarmes in den Antigenen des Kotes reichlicher vertreten sind als die Dickdarmantigene, obwohl letztere dem Darminhalt später zugemischt werden, die Gelegenheit zum Abbau also kürzer ist. Besonders deutlich ist der Unterschied zwischen Dünn- und Dickdarmsekret zugunsten des ersteren. Daß aber die Präzipitogene des Dickdarmes, besonders das Sekret, im Kote die geringere Veränderung erleiden, geht aus den reziproken Versuchen hervor, indem aus Dickdarmzellen-, noch mehr Dickdarmsekretserum (Tabelle VI), der größte Teil des Präzipitins durch Kotextrakt ausgefällt wird, die bezüglichen Verhältniszahlen also größer sind als bei Dünndarmzellen- und -sekretserum.

Galle fällt aus den Kotextraktseren nur wenig von deren Präzipitin aus (ziemlich kleine Verhältniszahlen), während umgekehrt der größte Teil des Präzipitins eines Gallenserums (Tabelle VII) diesem durch Kotextrakt entzogen wird. Die Erklärung ist einfach. Beide Substanzen haben wenig gemeinsame wirksame Gruppen, aber nicht etwa deshalb, weil die Galle auf dem langen Wege von der Ausmündung des Ductus choledochus an größtenteils verändert wird, sondern weil sie

überhaupt arm an Präzipitogen ist, was ja auch durch die Schwierigkeiten erwiesen wird, auf die die Herstellung eines präzipitierenden Gallenserums stößt. Die geringe Menge spezifisch wirksamer Substanz, welche dem Kot mit der Galle überhaupt zugeführt wird, bleibt größtenteils erhalten, so daß man durch Kotextrakt einem Gallenserum die Hauptmenge seines Präzipitins entziehen kann, und nur wenig spezifischen, nur durch Galle fällbaren Präzipitins übrig bleibt.

Noch geringer als durch Galle ist der Niederschlag, der im Kotextraktserum durch Zusatz von Blutflüssigkeit auftritt. Die Ursache ist, wie eine einfache Ueberlegung und der gleiche Ausfall des Gegenversuches (Tabelle VIII) ergibt, eine andere. In den Kot gelangt überhaupt nur wenig unverändertes Blutserumpräzipitogen durch die übrigen Zellen und Sekrete hinein, und diese werden im Darm noch weiter verändert. Die Präzipitogene des Blutserums und des Kotes sind, wie wir schon in der früheren Arbeit konstatieren konnten, voneinander fast ganz verschieden, die gegenseitige Fällbarkeit ist in der Regel sehr gering. Bemerkenswert muß allerdings werden, daß in einem der Kotextraktserumversuche (Tabelle IX) die Fällung mit Blutflüssigkeit stärker war, als in den übrigen. Ob ein zufälliger, abnormer Serumgehalt des Hundekotes, der zur Immunisierung gedient hatte, dafür verantwortlich zu machen ist, oder ob das immunisierte Tier auf die normale Serumkomponente der Injektionsflüssigkeit abnorm stark reagiert hat, ist nicht zu entscheiden. Betrachten wir nun noch die Beziehungen zwischen Blutserum und den übrigen Antigenen mit Ausnahme des Kotextraktes. Die Versuche zeigen abermals die uns schon bekannte Tatsache, daß das Blutserum aus den verschiedenen Immunseren nur einen geringen Teil des Präzipitins zu fällen vermag. Die Verhältniszahl ist daher stets klein, am kleinsten bei Gallenserum (Tabelle VII), am größten noch bei Dünndarmsekretserum (Tabelle III, IV). Die Befunde stimmen ziemlich gut mit den Gegenversuchen (Tabelle VIII), wo auch die stärkste Fällung durch Dünndarmsekret erzielt wurde, weitaus schwächere durch Zusatz von Galle und Dünndarmzellen. Die Verhältniszahlen sind bei dieser Versuchsreihe im ganzen größer als bei den Gegenversuchen. Daraus ist zu entnehmen, daß bei der

Bildung der Zellen und Sekrete des Darmkanals und der Leber aus den durch das Blut zugeführten Nährstoffen größtenteils Körperentstehen, deren biologische Eigenschaften von denen des Serums verschieden sind, und die im ganzen mannigfaltigere präzipitinbildende Gruppen haben.

Mit dem nur in sehr geringer Menge zur Verfügung stehenden Magensaft konnten wir bloß wenige Versuche anstellen. Magensaft gibt mit Blutserum stärkere Fällung als die meisten anderen von uns benützten Antigene, steht also diesem relativ nahe; er gibt auch mit Dünndarmsekretserum einen kräftigen Niederschlag, nicht aber mit Kotextraktserum, wohl deshalb, weil er auf dem langen Wege durch den Darm vollkommen verändert wird, soweit nicht seine Resorption stattfindet.

II.

Wünschenswert wäre nunmehr der Versuch gewesen, die sämtlichen in die Versuche einbezogenen Antigene zu mischen, mit dem Gemisch Kotextraktserum auszufällen und dann zu sehen, ob dieses mit dem homologen Antigen noch einen Niederschlag gibt. Der Versuch war aber nicht einwandfrei durchzuführen, denn entweder wurde eine ausgiebige Einengung der Flüssigkeiten vorgenommen, dann neigte das Gemisch zur Bildung spontaner, nicht spezifischer Niederschläge und war außerdem so eiweißreich, daß dadurch unkontrollierbare Hemmungen für die Bildung spezifischer Niederschläge auftreten konnten, oder die Einengung unterblieb, dann wurde die Menge der Flüssigkeit zu groß, graduierte Röhrrchen, welche die Messung der Niederschlagsmenge gestatten, waren nicht verwendbar, und die Möglichkeit der Lösung einzelner Partialniederschläge war nahegerückt (sie scheint bei einem entsprechenden Vorversuche tatsächlich eingetreten zu sein). Der positive Ausfall dieses Versuches hätte direkt gezeigt, daß der Kot außer den ihm durch die Darmwand selbst und die Leber zugeführten Antigenen auch neue, in ihm selbst gebildete enthält, doch ließ sich, wie schon aus dem bisher Gesagten hervorgeht, und wie wir noch weiter sehen werden, dieser Beweis auch indirekt mit Sicherheit erbringen. Wir gingen

den umgekehrten Weg und fällten Kotextrakt mit einem Gemisch sämtlicher heterologer Immunsera. Dieses Gemisch wurde nicht aus gleichen Mengen der einzelnen Sera hergestellt, sondern die Sera nach Maßgabe ihrer aus früheren Versuchen ungefähr bekannten Stärke an dem Gemisch beteiligt, schwächere Sera also in größerer Menge zugesetzt als stärkere. Der Endeffekt mußte derselbe sein, wie bei Verwendung gleicher Serummengen, doch wurde nach unserem Vorgehen einerseits an Serum erspart, andererseits auch die Gesamtmenge der resultierenden Flüssigkeit herabgesetzt und dadurch die Versuchstechnik einfacher gestaltet. Als Kontrollen wurden gleiche Mengen Kotextrakt mit je einem der Immunsera und endlich mit dem homologen (Kotextraktserum) bis zur Erschöpfung gefällt.

Tabelle XIII.

Kotextraktausfällung mit Gemisch von Immunsereen, dazu Kontrollen.

Das Serungemisch, bestehend aus den 6 nebenangeführten Immunsereen in den gleichen Mengen wie bei den Kontrollversuchen.

Kot-extrakt	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	Serum-gemisch	Dünnd.-Zell.-Ser.	Dünnd.-Sokr.-Ser.	Dickd.-Zell.-Ser.	Dickd.-Sokr.-Ser.	Gallen-Serum	Serum-Im-mun-Ser.	Kotextr.-Serum
	7,2	1,2	0,9	2,4	1,2	1,0	0,5	4,8
heterologe Fällung	6,9	0,9	3,9	2,0	1,5	2,0	0,3	.
	Kotextr.-Serum
	4,0
homologe Fällung	18,1	23,4
daher ges. Fällung	25,0	23,4

Die Gesamtmenge der durch Serungemisch erzeugten Fällung betrug 6,9, die Summe der in den einzelnen, mit je einem heterologen Serum entstandenen Niederschläge betrug 10,6. Daß diese Summe größer war als die erste, darf nicht verwundern, da ja die in Frage kommenden Präzipitine der Sera zum Teil identisch waren, in dem Gemisch aber nur einfach zur Wirkung kommen konnten.

Das mit heterologem Serungemisch ausgefällte Kotextrakt wurde mit Kotextraktserum nachgefällt, die erzielte Fällung betrug 18,1, die Gesamtfällung also 25,0, während in dem letzten Kontrollröhrchen der Niederschlag — ausschließlich mit homologem Serum — 23,4 ausmachte, eine ziemlich gute Uebereinstimmung. Sämtliche heterologe Sera zusammen hatten also dem Kotextrakt nicht einmal den vierten Teil seiner präzipitablen Substanz entzogen.

Der Versuch ist allerdings nicht ganz vollständig, denn es fehlte ein Pankreasserum. Da aber Pankreassekret nach Versuch 2 mit Kotextrakt gar keine Fällung gibt, so ist bei den zwischen Drüsenzelle und -sekret herrschenden nahen Beziehungen nicht anzunehmen, daß die Mitverwendung von Pankreasserum — wir hatten leider keines — das Bild des Versuches irgendwie alteriert hätte. Ein gleiches gilt, wie wir weiter unten zeigen werden, von den von uns erst später dargestellten Bakterienpräzipitinen. Doch selbst wenn wir annehmen wollten, daß die in den Versuch nicht einbezogenen präzipitierenden Sera die Größe der heterologen Fällung verdoppelt hätten, was gewiß nicht im entferntesten zutrifft, wäre durch diesen gezeigt, daß der Kot präzipitierende Substanzen enthält, welche in den ihn zusammensetzenden Körpern nicht enthalten sind.

Durch die bei der Kotbildung vor sich gehenden Umsetzungen bilden sich also reichlich neue, in den an der Kotbildung beteiligten Stoffen nicht präformierte Präzipitogene, diese sind spezifisch für Kot und, wie wir von früher her wissen, gleichzeitig artspezifisch, vermutlich sogar strenger artspezifisch als Blutserum.

Die Tatsache, daß die einzelnen Präzipitogene im Darm umgesetzt und verändert werden, ergibt sich übrigens mit großer Wahrscheinlichkeit auch schon aus der ersten Versuchsreihe; würde diese Umsetzung nicht stattfinden, so müßte es ja, wie wir auch anfangs meinten, möglich sein, durch wiederholte Fällung mit Kotextrakt z. B. ein Dünndarmzellenserum vollkommen (auch für das homologe Antigen) seines Präzipitinhalt zu berauben. Die Umsetzungen im Darm nun haben

die Bildung neuartiger Präzipitogene zur Folge und unterscheiden sich dadurch wesentlich von der Tätigkeit des Magensaftes, indem peptische Spaltungsprodukte des Eiweißes bekanntlich weder mit ihren Muttersubstanzen reagieren, noch überhaupt als Präzipitogene wirken können.

Kraus und Wilenko haben bekanntlich Verschiedenheiten im Verhalten des Stuhles aus verschiedenen Darmpartien beim Menschen festgestellt und werfen in einer ihrer Arbeiten die Frage auf, ob diese Tatsache durch Verschiedenheit der sezernierten Antigene oder durch Zustandsveränderungen des Darminhaltes im Sinne von Obermayer und Pick zu erklären sei. Wir glauben die Frage gelöst zu haben in dem Sinne, daß beides zutrifft: die Sekrete und die an den Kot abgegebenen Zellen sind hinsichtlich ihres Antigengehaltes verschieden (zum mindesten gilt dies für Dünndarm einer-, Dickdarm andererseits; daß eine genaue Untersuchung auch Verschiedenheiten für die einzelnen Abschnitte des Dünndarms feststellen könnte, ist zum mindestens denkbar). Nach der Abgabe an den Darminhalt findet eine Zustandsveränderung dieser Stoffe im Sinne von Obermayer und Pick statt.

Das von Kraus und Wilenko beobachtete eigentümliche Verhalten der Cholerastühle dürfte wohl so zu erklären sein, daß die Sekretion im Darm bei Cholera eine vorwiegend wässerige, in gleichen absoluten Mengen Cholerastuhl also weniger Präzipitogen enthalten ist als in Normalkot, und jenes fernerhin durch sein abnorm kurzes Verweilen im Darm nicht diejenigen Umsetzungen erleidet, die im normalen Kot stattfinden. Wünschenswert wäre es, Choleraextrakt mit Seren, erzeugt durch Injektion von normaler und Choleradünndarmschleimhaut, zu prüfen.

III.

Die beschriebenen Beobachtungen über teilweise Veränderung der von der Darmwand und den Drüsen an den Kot abgegebenen Stoffe und Neubildung von Antigenen daselbst mußte eine wesentliche Herabsetzung unserer in früheren Arbeiten geäußerten Hoffnungen betreffend die Verwendbar-

keit der biologischen Kotreaktion für praktisch-diagnostische Zwecke zur Folge haben.

Wenn man bedenkt, aus wie vielen als Präzipitogene wirksamen Substanzen der Kot sich zusammensetzt, deren wirksame Gruppen einander zum Teil, aber in unbestimmbarem Maße decken, zum Teil verschieden sind, wenn man ferner bedenkt, daß diese Stoffe im Darm eine weitgehende, vermutlich je nach der Länge des Verweilens im Darm, vielleicht auch nach der Ernährung, quantitativ verschieden starke Veränderung erleiden, und wenn man schließlich berücksichtigt, daß auch bei Parallelversuchen die Fällungen nicht immer gleich sind, so darf man in der Tat nicht hoffen, daß das Fehlen bezw. die Zu- oder Abnahme eines einzelnen Kotbestandteiles durch Aenderung der präzipitierenden Eigenschaften des Kotextraktes erkennbar sein werde. Das pathologische Vorhandensein von Blutserum im Kot allein könnte sich, wie wir sehen werden, exakt nachweisen lassen und so unsere diagnostischen Hilfsmittel für die Erkennung mancher Darmfälle in Zukunft vielleicht etwas bereichern. Zur Aufklärung in dieser Hinsicht diene folgender Versuch:

Um die Einwirkung der Sekrete des Magendarmtraktes auf arteigene Körpersubstanzen kennen zu lernen, führten wir einem Hunde per os arteigenes Serum zu, in einem späteren Zeitpunkte injizierten wir ihm solches ins Duodenum, in einem dritten Falle setzten wir in den obersten Partien des Dünndarms Geschwüre durch Abschaben der Mucosa und Aetzen mit Salpetersäure. Stets wurden die auf den Eingriff folgenden Kotpartien isoliert aufgefangen und nebst normalem Kote des gleichen Tieres mit Hundeserum-immunserum geprüft. Der Kot, welcher nach Einführung des Serums per os abgesetzt wurde, reagierte mit dem Immunserum ebenso wie der Normalkot des gleichen Tieres nur spurenweise, in den beiden anderen Fällen jedoch gab der Kot nach dem Eingriff eine starke Fällung mit jenem, enthielt also bezüglich seiner präzipitablen Eigenschaften zum Teil noch unverändertes Serum.

Aus diesen Versuchen ist zu entnehmen, daß der Magen des Hundes nicht allein eingeführte artfremde präzipitierende Stoffe, wie bekannt, hinsichtlich ihrer Artspezifität, sondern

auch arteigene bezüglich ihrer Organspezifität denaturiert, unterhalb des Pylorus ist letzteres nicht so vollständig der Fall.

IV.

Eigentümliche Beobachtungen waren hinsichtlich der Galle zu machen. Ihre Fällungen waren bei den bereits mitgeteilten Versuchen häufig anders (stärker oder schwächer) als man sie nach den übrigen Versuchsergebnissen erwarten konnte, sie neigte zur Bildung spontaner, nicht spezifischer Niederschläge, die von den spezifischen nicht in jedem Einzelfalle sicher zu unterscheiden waren und störte manchen Versuch. Besonders auffallend war jedoch folgendes.

Galle gilt, wie bekannt, für proteinfrei, trotzdem wirkt sie als Antigen. Bisher sind an eiweißfreien Körperflüssigkeiten keine Antigenwirkungen beobachtet worden mit Ausnahme des Harns, bei dem Schattenfroh lysogene Eigenschaften für verschiedene Blutarten zuerst und zwar auch bei Eiweißfreiheit nachwies. Präzipitogen wirkt Harn nach einer Reihe von Autoren allerdings nur, wenn er eiweißhaltig ist, während Landsteiner und v. Eisler diese Wirkung auch an eiweißfreiem Harn beobachteten. Doch geht die herrschende Meinung dahin, anzunehmen, daß die Antigenwirkung solcher Stoffe lediglich einem minimalen, chemisch nicht nachweisbaren Eiweißgehalt zuzuschreiben ist.

Einer mündlichen Anregung Exners folgend, trachteten wir zu eruieren, ob die Wirkung der Galle als präzipitable Substanz etwa an das Mucin gebunden ist. Wir fällten daher aus praktisch eiweißfreier Galle durch Essigsäure das Mucin aus, filtrierten klar und neutralisierten vorsichtig mit Kalilauge, zur Kontrolle führten wir den gleichen Vorgang — Ansäuern — Filtrieren — Neutralisieren — bei Kotextrakt und Normalserum aus und setzten zu jeder der drei so behandelten Antigene das homologe Immuserum zu.

Die Galle hatte durch den beschriebenen Vorgang fast ihre gesamte fällende Kraft eingebüßt, das Kotextrakt nur etwa die Hälfte, das Serum gar nichts.

Nach diesem Versuche könnte tatsächlich der Gehalt der Galle an präzipitabler Substanz im Gegensatz zu Blutserum

an das Mucin gebunden sein. Doch ist auch die Erklärung nicht auszuschließen, daß geringe chemisch nicht nachweisbare Mengen Eiweiß (Eiweiß im engeren Sinne) in der Galle die Ursache der Antigenwirkung sind, und daß diese Spuren bei der Essigsäurefällung in den Niederschlag übergehen.

V.

Nachdem durch die erste Versuchsreihe der Nachweis erbracht war, daß die in den Drüsensekreten und den zelligen Bestandteilen des Darmkanals enthaltenen Präzipitogene sich zwar teilweise mit denen des Kotes decken, daß aber dieser zum größeren Teile andere, in jenen Substanzen nicht vorhandene Präzipitogene enthält, mußte nunmehr die Frage nach der Herkunft dieser letzteren entschieden werden. Man konnte nun vermuten, daß hier im wesentlichen Bakterienstoffe in Frage kommen. Mit Rücksicht auf die weitergehende Kenntnis, die wir von der aeroben und anaeroben Darmflora des Menschen besitzen, erschien es uns besser, diese Versuche mit Menschenkotextrakt und einem entsprechenden Immunserum vorzunehmen. Ein vollständiges Durchprüfen aller gelegentlich oder regelmäßig den menschlichen Darmkanal bewohnenden Bakterienarten mit Kotserum und vice-versa der betreffenden präzipitierenden Bakterienserum mit Kotextrakt vorzunehmen, war einerseits undurchführbar, andererseits auch vollkommen überflüssig. Es genügte, diejenigen Bakterienarten auszuwählen, die durch ihre Masse hier allein maßgebend sind. Unter den Aerobiern kam also besonders *Bacterium coli* in Betracht, doch fielen die Versuche in beiden Richtungen negativ aus. Unser Kotextraktserum gab mit präzipitinogenhaltigem Colifiltrat ebensowenig einen Niederschlag, als ein präzipitierendes Coliserum unseren Kotextrakt fällte, obwohl wir sogar die Vorsichtsmaßregel gebraucht hatten, den Colistamm aus dem gleichen Kote zu züchten, der zur Herstellung des Kotextraktes diente. Etwas mehr Erfolg hatte später Herr Dr. Kromholz im hiesigen hygienischen Institute, welcher zu anderen Zwecken ähnliche Versuche anstellte. Ihm gelang es in seinem offenbar stärker wirksamen Kotextraktserum mit Colifiltraten verschiedener

Provenienz schwache, doch deutliche Niederschläge zu erzielen.

Als Vertreter der anaeroben Bakterien wählten wir *Bacillus putrificus* (Bienstock), ein Bakterium, das nicht nur regelmäßig massenhaft im menschlichen Kote vorkommt, sondern auch durch die Präzipitinreaktion von seinen gleichfalls im Kote vorkommenden Verwandten nicht zu unterscheiden ist, so daß durch Versuche mit diesem Bakterium die Frage für die einen großen Teil der anaeroben Bakterien des Kotes und der Kotbakterien überhaupt repräsentierende Bakteriengruppe entschieden wird. Tatsächlich waren unsere Erfolge hier besser als bei den Versuchen mit *Bacterium coli* (Tab. XIV). Putrificus-Serum, das uns dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Primarius Dr. Passini zur Verfügung stand, gab mit Kotextrakt einen Niederschlag (etwa $\frac{1}{2}$ von der Menge, die das gleiche Serum mit dem homologen Antigen gab), und Kotextraktserum zeigte zwar weniger, jedoch deutliche Spuren einer Fällung mit Putrificus-Extrakt.

Wenn wir nun berücksichtigen, daß der Darm des Hundes als Raubtieres (Fleischfressers) wohl kaum geeigneter für die Entwicklung einer Bakterienvegetation ist als der des Menschen, so ist wohl zu vermuten, daß zwar auch beim Hunde die Bakterienantigene einen gewissen Anteil an dem gesamten Antigengehalt des Kotes haben, daß dieser aber nicht im entferntesten genügt, um die durch Darmsekret- und Zellensera etc. nicht ausfällbaren Antigene des Kotes einfach als Bakterienantigene zu betrachten.

Weiterhin sei noch bemerkt, daß wir durch lange fortgesetzte Behandlung eines Kaninchens mit Extrakt des art-eigenen Kotes ein Serum erhielten, das mit diesem Extrakte eine schwache, aber deutliche Fällung gab. Da es, wenn man von den wenig klaren und nicht sehr überzeugenden Versuchen Centannis absieht, bisher noch nicht gelungen ist, Iso- bzw. Autopräzipitine zu erzeugen, so ist es wohl naheliegend, den Gehalt dieses Serums an Präzipitinen auf Bakterienstoffe zu beziehen, womit die schwache Wirksamkeit des Serums vollkommen im Einklange steht, während die im Darm des

Tieres aus den Sekreten und zelligen Bestandteilen neugebildeten Antigene wohl nicht geeignet sein dürften, bei ihrer parenteralen Einverleibung Präzipitinbildung hervorzurufen.

VI.

An menschlichen Antigenen stand uns außer Vollkot auch Dünndarmkot einer Patientin der Klinik zur Verfügung, der durch einen wegen Ileus nächst dem Coecum angelegten Anus praeternaturalis gewonnen wurde, ferner Dickdarmsekret der gleichen Patientin, erhalten durch Ausspritzen des Dickdarms, endlich Meconium. Die Versuche mit diesen Antigenen, speziell mit Meconium, sind gleichzeitig und unabhängig von den Versuchen von Wilenko und Sohma ausgeführt. Endlich wurde auch menschliches Blutserum (Placentaserum) zu den Versuchen herangezogen, und Placentaimmunserum (Serumimmunserum hergestellt.

Tabelle XIV.

Immunsera 0,8 ccm	Meconium bezw. Stuhl										Dünndarmkotextr. Dickdarmsekret Voll-Kotextrakt	Blut- serum	Putri- ficus (Bien- stock) Ex- trakt	
	eingeeigt 0,5	0,5 ccm einer Ver- dünnung				Defäkationen von Säuglingen im Alter von Tagen								
		1:1	1:3	1:10	1	2	5	8	10					
Meconiumserum	0,0	Kuppe	1,0	0,5	1,2	Kp.	Sp.	0,0	1,0	4,0	1,8	0,4	1,1	0,0
dasselbe, späterer Aderlaß	Sp.	.	1,3	0,9
Dünndarmkot- extr.-Serum a	0,0	1,0	0,5	0,5	kl. Kuppe	0,0
dgl. b	0,0	Kuppe	1,2
Dickdarmsekret- serum	0,0	0,4	1,0	1,8	0,7	Spuren	0,0
Voll-Kotextrakt- Serum a	0,0	Trübung	Trübung	0,0	.	0,0	3,1	.	Spuren
dgl. b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	Kp.	.	.	1,2	.	.
Blutserum — Serum (Plaz.)	0,0	schwache Trübung	schwache Trübung	0,0	11,0
Putrificus-(Bien- stock)-Ser.	0,0	.	0,0	0,0	0,0	0,6	.	1,5

Die Versuche (Tabelle XIV) ergaben, wenn man zunächst von denen mit Meconium und Meconiumserum absieht, keinerlei auffallende Resultate, diese waren ähnlich den von uns bei Hundantigenen, von Kraus und Wilenko beim Menschen erhobenen Befunden. Auch bedarf die Tatsache, daß Dünndarmkot und Dickdarmsekret und die bezüglichen Immunsera mit *Bacillus putrificus* und *Putrificus*-Serum keinerlei Niederschlag ergaben, wohl keiner weiteren Erklärung. Die Versuche mit der gleichen Breite und Gründlichkeit wie beim Hunde durchzuführen, wäre ein ziemlich zweckloses Unternehmen gewesen. Interessanter waren die mit Meconium und einem entsprechenden Immunsorum ausgeführten Versuche. Gewonnen wurde das Meconium-extrakt in ähnlicher Weise wie Kotextrakt durch Verreiben des Meconium mit schwacher Salzlösung, nachfolgendes Zentrifugieren und Filtrieren. Das Meconium wurde von den Tieren vorzüglich vertragen. Als wir dann nach einer Reihe von Injektionen eine Serumentnahme machten und das Serum mit dem homologen und den heterologen Antigenen prüften, bemerkten wir zu unserem Staunen, daß Meconium keinen Niederschlag gab, obwohl das Serum durch die mit heterologen Antigenen auftretenden Fällungen als präzipitierendes charakterisiert war. Erst als wir, einer mündlichen Bemerkung von Kraus folgend, starke Verdünnungen des Meconiumextraktes vornahmen, traten Niederschläge auf, doch waren diese wesentlich schwächer als die mit Dünndarmkotretrakt. Dieses gab mit dem Meconiumserum eine sehr kräftige Fällung, wesentlich schwächere, aber noch immer stärkere Fällung als das homologe Antigen gab Dickdarmsekret, weit schwächer war die Fällung mit Placentaserum, doch war es interessant, daß letztere viel deutlicher war als die bei Zusatz von Placentaserum zu Kotextraktserum auftretenden Niederschläge. Der bei Zusatz von Kotextrakt zu Meconiumserum endlich sich bildende Niederschlag war der schwächste, aber immer noch deutlich. Die letzten Befunde stehen in einem gewissen Widerspruche zu denen von Sohma und Wilenko¹⁾. Wir

1) Diese Autoren hatten bei den gleichen Versuchen in der Regel gar keine Reaktion.

glauben, daß dieser Widerspruch am einfachsten dadurch zu erklären ist, daß unser Serum, wie die kräftigen Niederschläge mit Dünndarmkotrekt zeigen, ein ungemein wirksames war, daher auch in genügender Menge fällende Gruppen enthielt, die in einem mittelstarken Serum zu spärlich vorhanden sind, um einen Niederschlag zu verursachen. In quantitativer Hinsicht stimmten unsere Versuche mit denen der genannten Blutseren insofern überein, als Blutserum und Kotrekt die schwächste Fällung gaben.

Die auffallende Tatsache, daß Meconium mit Meconiumserum und auch mit anderen präzipitierenden Seren nur in stärkerer Verdünnung Niederschläge gibt, ließ zwei Erklärungen zu. Entweder das Meconium war ungemein reich an Präzipitogen und bei einigermaßen stärkerem Gehalt der Mischung an solchem trat spezifische Lösung auf, oder das Meconiumextrakt enthielt eine andere, die Fällung hemmende Substanz. Eine Entscheidung schien uns durch folgenden Versuch möglich. Wir setzten einem Meconiumserum Meconiumextrakt in einem bereits nicht mehr zur Fällung führenden, doch nicht zu starken Ueberschuß zu und hierauf (in einem Versuche sofort, in einem zweiten, nachdem die Röhren 2 Stunden im Brutschrank, dann über Nacht im Kühlschränk gewesen waren) fügten wir Dünndarmkotrekt oder Dickdarmsekret zu. Falls das Ausbleiben des Niederschlages mit homologem Antigen auf spezifischer Lösung beruhte, durfte bei weiterem Zusatz heterologen Antigens gleichfalls keine Fällung eintreten, dasselbe mußte geschehen, wenn eine die Fällung hemmende Substanz anderer Art vorlag, welche die Eigenschaft hatte, jede Präzipitatbildung zu hindern. Trat jedoch eine solche ein, so konnte von spezifischer Lösung keine Rede sein, da diese ja doch auch die Niederschlagsbildung durch die dem Dünndarmkotrekt mit dem Meconiumextrakt gemeinsamen Gruppen hätte hindern müssen; es mußte vielmehr eine Hemmung durch eine Substanz vorliegen, welche nur auf Meconiumextrakt allein wirkt. Dieser letztere Fall trat ein, und zwar war die Fällung ebenso stark, wie bei fehlendem Zusatz des Meconiumextraktes. Ueber die Natur dieser hemmenden Substanz etwas auszusagen, ist wohl kaum möglich. Jeden-

falls liegt die Grenze ihrer wirksamen Konzentration höher als die der eben noch fallenden Wirkung des Extraktes.

Mit Rücksicht auf die bei Meconium beobachtete Hemmung war selbstredend das Anstellen von Versuchen mit elektiver Absättigung des Meconiumserums durch heterologe Antigene und Nachfällung mit Meconium gegenstandslos.

Fällungen der anderen in Frage kommenden Sera mit Meconium fielen so aus, wie die entsprechenden Gegenversuche unter Rücksichtnahme auf die oben beschriebene Hemmung es erwarten ließen. Reaktionen traten überhaupt nur bei gewissen optimalen Meconiumverdünnungen auf, eigentliche Niederschläge in geringer Menge nur bei Dünndarmkot- und Dickdarmsekretserum. Vollkots Serum sowie Placentaserumserum gaben bloß Trübungen, Putrificusserum, wie nicht anders zu erwarten war, keinerlei Reaktion. Wenn Sohma und Wilenko mit Vollkot und Serumimmenserum nur ausnahmsweise positive Reaktionen erhielten, so glauben wir diesen Unterschied in den Befunden auch damit erklären zu können, daß unsere Sera infolge längerer Behandlung der Versuchstiere mit großen Antigenmengen etwas intensiver fällend waren und eine dementsprechend größere Wirkungsbreite hatten. Im übrigen erstrecken sich unsere Untersuchungen im Gegensatz zu denen jener Autoren nur über wenige Neugeborene und Säuglinge.

Unsere Versuche über Meconium und Meconiumserum sprechen in ähnlicher Weise wie die von Sohma und Wilenko für nahe Beziehungen der Präzipitogene des Meconiums zu denen der Darmschleimhaut. Diese machen vermutlich, nachdem die abgestoßenen zelligen Bestandteile und die Ausscheidungen der Schleimhaut sich zum Meconium zusammengeballt haben, einen teilweisen Veränderungsprozeß durch, der aber mit Rücksicht auf die total anderen Verhältnisse (Fehlen der Nahrung und der Bakterien) von den mit den gleichen Substanzen im Darm während des späteren Lebens vor sich gehenden Veränderungen vollkommen verschieden ist, so daß die Antigene des Meconiums einerseits, des Kotes andererseits, obwohl von ähnlichen Muttersubstanzen stammend, fast vollkommen verschieden sind.

Unsere Versuche mit verschiedenen normalen und pathologischen Menschenkotextrakten sind aus äußeren Gründen nicht zahlreich, bieten daher kaum sichere Ergebnisse. Bestätigt wird durch sie die bereits durch Versuche von Kraus und Wilenko beobachtete Tatsache, daß normaler Kot einer fremden Person aus einem Kotserum nicht alles Präzipitin ausfällt, ferner wird gezeigt, daß Serumimmunserum mit normalem Kotextrakt gar keine oder nur schwache Fällung gibt

Tabelle XV.

Fällungsversuche mit Menschenserum [a) Menschenkotserum; b) Dünndarmkotserum; c) Placentaserum] und normalen sowie pathologischen Koten.

	Fall	Fällung mit Kotserum	Nachfällung mit homolog. Kot	Fällung mit Dünndarmkotserum	Fällung mit Placentaserum
1	Institutsdiener a (gesund)	0,7	1,3	0,4	kl. Kuppe
2	" b "	1,1	0,8	1,2	0,0
3	" c "	1,5	0,6	.	0,0
4	Tbc.	Kuppe	.	0,5	Kuppe
5	Dickdarm-Katarrh	2,4	.	.	Spuren
6	Typhus abd.	2,6	.	2,2	1,8
7	Dünndarmkatarrh	0,8	.	.	0,0
8	Vitium cordis (Oedeme)	1,7	.	0,8	0,3
9	Tbc. pulm. et intestini	1,2	.	0,7	0,3
10	Tbc. pulm.	0,5	.	1,4	0,0
11	" "	0,8	.	.	1,1
12	Typhus abd.	0,4	.	0,7	0,4
13	Tbc. im Stuhl Blut	0,9	.	0,6	0,0
14	" " "	0,9	.	0,6	Kuppe
15	" " "	1,3	.	1,8	0,4
16	Nephritis	0,5	.	0,7	Kuppe
17	Magenblutung	1,0	.	0,8	0,3
6b	Typhus-Rekonval. = 6	0,7	.	1,0	Spur
18	Dickdarmkatarrh	0,3	.	0,5	"

(Fall 1, 2, 3). In pathologischen Fällen, die mit Darmgeschwüren einhergehen, können sich die Befunde ändern. So gaben z. B. zwei Fälle von Abdominaltyphus auf der Höhe der Erkrankung starke Kotserumfällung (Fall 6:1,8, Fall 12:0,4), der Kot des einen dieser Individuen in der Rekonvaleszenz reagierte mit Serumimmunserum nur noch spurenweise. Auch von denjenigen Individuen, bei denen auf anderem Wege Blut im Stuhl bzw. geschwürige Prozesse im Magendarmkanal nach-

gewiesen waren, gab ein Teil positive, quantitativ bestimmbare Serumreaktion, doch nicht alle, dagegen fand sich die gleiche Reaktion in gleicher Stärke auch bei klinisch gesundem Darm in Fällen von Lungentuberkulose und von Vitium cordis mit Oedemen. Positive Reaktion gab auch ein Fall von Magenblutung. Hier mußte das in den Magen gelangte Serum, falls die Reaktion von diesem stammt, sich zum Teil der denaturierenden Wirkung des Magensaftes entzogen haben. Gänzlich unverwertbar sind die Fällungszahlen mit Dünndarmkot. Insgesamt versprechen die Befunde also — vorläufig wenigstens — nicht, daß die Methode für den Diagnostiker wertvoll werden könnte. Zur Anstellung ausgedehnter Beobachtungsreihen wären wohl nebst den chirurgischen die internen Kliniken der richtige Ort, diese Meinung wird auch von Kraus und Wilenko auf Grund ihrer an einer Reihe von Patientenstühlen gemachten Untersuchungen ausgesprochen. Es erscheint mit Rücksicht auf unsere mit Hundeantigenen ausgeführten Versuche immerhin noch aussichtsvoller, auf rein empirischem Wege mittels Durchprüfen einer sehr großen Zahl pathologischer Stühle zu praktisch brauchbaren Resultaten zu gelangen, als auf dem nach unseren systematischen Untersuchungen nicht gangbaren Wege der exakten Kotanalyse.

VII.

Unsere Präzipitinversuche führten uns darauf, auch die gegenseitige, überempfindlich machende Wirkung der dort verwendeten Antigene zu prüfen. Es erschien uns interessant, zu erfahren, ob unsere Antigene überhaupt imstande waren, Anaphylaxie zu erzeugen, und wenn das der Fall war, ob diese Anaphylaxie auch für heterologe Antigene vorlag und ähnliche Unterschiede bei der sensibilisierenden Wirkung der Antigene zu beobachten waren, wie bei der fällenden.

Wir behandelten Meerschweinchen in entsprechender Anzahl durch eine subkutane Injektion von Dünndarmzellen, Dünndarmsekret, Dickdarmzellen, Dickdarmsekret, Galle, Kotextrakt und Blutserum des Hundes vor und ließen nach 18 bis 21 Tagen eine intravenöse Injektion des homologen oder

Tabelle XVI.
Anaphylaxieversuche an Meerschweinchen.

Vor- behand- lung	Nachinjektionen					
	Kotextrakt	Blutserum	Galle	Dünndarm- zellen	Dünndarm- sekret	Dickdarm- sekret
Kotextr.	1) †	2) 0, dann auf homol. Ant. † 3) 0, später †	4) 0, dann auf homol. Ant. †	6) 0	5) 0, dann auf homol. Ant. †	.
Blutser.	8) 0, dann auf ho- molog. Ant. † 9) wie 8)	7) †	10) 0, dann auf homol. Ant. † 11) 0	14) leichte Er- scheinung., später †	12) 0, dann auf homol. Ant. † 13) wie 12)	.
Galle	21) schwere Erschei- nungen †	20) 0, dann auf homol. Ant. 0	15) 0 16) 0, dann auf Serum schwere Erschei- nungen † 17) 0, dann auf Ser. 0 18) mittlere Erschei- nungen 19) leichte Er- scheinung., später †	.	22) 0, dann auf homol. Ant. 0	.
Dünndarm- zellen	33) schwere Erschei- nungen †	34) schwere Erschei- nungen †	.	29) schwere Erschei- nungen † 30) 0 31) wie 29)	32) schwere Erschei- nungen †	.
Dünndarm- sekret	26) schwere Erschei- nungen †	27) schwere Erschei- nungen †	.	28) mittlere Erschei- nungen	23) 0	25) leichte Er- scheinung., dann auf hom. Ant. schwere Erschei- nungen
Dickdarm- zellen	.	41) schwere Erschei- nungen †	.	.	.	40) mittlere Erschei- nungen
Dickdarm- sekret	.	35) 0, dann auf homol. Ant. † 38) schwere Erschei- nungen †	.	.	.	36) mittlere Erschei- nungen

Erklärung der Abkürzungen: 0 = keine Erscheinungen von Anaphylaxie.
Ant. = Antigen.

eines der heterologen Antigene folgen. In denjenigen Fällen, wo die Injektion eines heterologen Antigens keinerlei anaphylaktische Symptome auslöste, wurde, wenn möglich, $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde später eine Einspritzung des homologen Antigens vorgenommen, um zu sehen, ob das Tier etwa überhaupt refraktär war; letzteres war nicht häufig zu beobachten.

Die Versuche ergaben folgendes: Vorbehandlung mit Kotextrakt macht überempfindlich für diese Substanz, Nachinjektion anderer Antigene führte niemals zu Erscheinungen von Anaphylaxie.

Durch Injektion von Blutserum findet bloß Sensibilisierung für das homologe Antigen und nach einem nicht ganz überzeugenden Versuch auch für Dünndarmzellen statt. Injektion der übrigen Antigene — von Galle sei hier zunächst noch abgesehen — verursacht aber ziemlich regelmäßig Ueberempfindlichkeit für alle hier in Frage kommenden Substanzen. Diese Resultate lassen sich etwa in der Weise ausdrücken:

Nach der sensibilisierenden Wirkung beurteilt, stehen Kotextrakt und Blutserum an den beiden Enden einer Reihe, in deren Mitte sich die übrigen Antigene befinden. Diese Tatsachen sind, was die isolierte Stellung des Blutserums anlangt, im Einklang mit den Fällungsversuchen, nicht ganz so gut bezüglich der Stellung des Kotextraktes, der ja als Präzipitogen den Darmzellen und Sekreten näher steht. Es muß ferner darauf hingewiesen werden, daß zwischen der sensibilisierenden Wirkung unserer Antigene einerseits und ihrer Anaphylaxie auslösenden andererseits keine Reziprozität bestand.

So macht Vorbehandlung mit Kotextrakt oder Blutserum, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, nicht anaphylaktisch gegen Dünndarmsekret, umgekehrt aber macht Vorbehandlung mit letzterem überempfindlich gegen Kotextrakt und Blutserum. Vielleicht wäre es denkbar, daß die gegenüber den anderen Antigenen größere Giftigkeit des Blutserums und des Kotextraktes (wir konnten diese Giftwirkung durch intravenöse Injektion von Kontrolltieren mit etwas größeren Mengen dieser Stoffe beachten) Schuld an den auffallenden Befunden trägt,

derart etwa, daß die heterologe Sensibilisierung für das Auftreten merkbarer Symptome nicht genügt, daß aber solche durch Hinzutreten der an und für sich gleichfalls symptomlos verlaufenden Giftwirkung des Kotextraktes bezw. Serums manifest werden.

Es darf übrigens nicht vergessen werden, daß von einer exakten Dosierung unserer Darmantigene hier ebensowenig und aus denselben Gründen, wie bei den Fällungsversuchen, die Rede sein konnte. Genauere Aufschlüsse wären wohl nur durch Aufwendung eines weitaus größeren Tiermaterials zu erwarten und sollten, insoweit damit prinzipielle Fragen in der Lehre von der Anaphylaxie zu lösen sind, lieber unter Verwendung anderer Substanzen gesucht werden.

Hinsichtlich des Verhaltens der Galle geht aus den vorliegenden Versuchen nur hervor, daß Vorbehandlung mit dieser nicht so regelmäßig überempfindlich macht, in einem Falle reagierte ein mit Galle vorbehandeltes Tier typisch nicht auf Nachinjektion von Galle, wohl aber von Blutserum. Diese eigentümlichen Befunde veranlaßten uns, später ähnliche Versuche wieder aufzunehmen, welche gegenwärtig noch im Gange sind, und aus denen einstweilen hervorzugehen scheint, daß tatsächlich durch Galleninjektion nur ein Teil der Tiere überempfindlich wird, daß sich diese Ueberempfindlichkeit jedoch dann öfters nicht allein auf artgleiche, sondern auch auf artfremde Galle erstreckt, insoferne freilich keine typische ist, als nur hohe, den an sich auch auf frische Tiere toxisch wirkenden an Größe nahekommende Dosen die anaphylaktischen Symptome auslösen.

Falls sich die Befunde weiterhin bewahrheiten, könnte man in diesem Verhalten der Galle eine Aehnlichkeit mit dem der Linse erblicken, womit auch die gelegentlich von uns beobachtete Tatsache in Uebereinstimmung steht, daß Hundegallenserum (im Gegensatz zu Hundekotserum) mit Menschenkotextrakt (Gallenkomponente?) eine deutliche Fällung gibt. Weitere Untersuchungen dieser über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinausgehenden, jedoch prinzipiell nicht unwichtigen Frage behalten wir uns vor.

VIII.

Wir möchten noch auf einige gelegentliche Beobachtungen bei den Präzipitinversuchen zurückkommen, die mit dem eigentlichen Thema nichts zu tun haben, vielleicht aber sonst von Interesse sind. In Antigen-Antikörpergemischen (Serum-immunserum, noch mehr bei Kotextrakt) trat regelmäßig nach Abzentrifugieren des Niederschlages, Teilen der Flüssigkeit in zwei Hälften, Zusatz von Antigen zu der einen, von Immunserum zur anderen Hälfte, in beiden Fällen ein Niederschlag auf. Das Mengenverhältnis, in dem die beiden Lösungen ursprünglich gestanden hatten, war dabei innerhalb gewisser Grenzen gleichgültig, nur bei starkem Ueberschuß eines oder des anderen Stoffes trat das Phänomen nicht auf. Aehnliche Beobachtungen sind unter anderem von Hamburger und Arrhenius und von Eisenberg regelmäßig, von v. Dungern bei Octopusplasma ausnahmsweise gemacht, von P. Th. Müller bei Kasein vermißt worden. Diese Autoren erklären den Befund verschieden. Die einen nahmen an, daß die Verbindung der beiden Stoffe nur zum Teil ausfalle, die gelöst bleibende Partie zum Teil dissoziiert und daß daher bei Verschiebungen des Gleichgewichtes durch Zusatz des einen oder anderen Körpers zur abzentrifugierten Lösung eine neue Fällung durch Zurückdrängen der Dissoziation eintritt; andere, v. Dungern, glauben in solchen Fällen eine komplexe Zusammensetzung der reagierenden Substanzen aus Partialantigenen und Antikörpern annehmen zu müssen, deren Mengen in den Lösungen verschiedene sind, deren Fällungsoptima daher in einer und derselben Lösung nie zu gleicher Zeit erzielt werden können. Die bei obigem Versuche auftretenden Niederschläge bei Antigen- einerseits, Antikörperzusatz andererseits, wären demnach von verschiedener Zusammensetzung. Für letztere Auffassung würde sprechen, daß Müller bei seinen Versuchen mit dem im Gegensatz zu Serum eine einheitliche chemische Substanz darstellenden Kasein als Antikörper die beschriebenen Erscheinungen vermißte. In diesem Sinne spricht auch folgender von uns in einzelnen Fällen erhobener Befund. In einem Antigen-Antikörpergemische mit einem bereits zu spezifischer Lösung führenden Antigenüberschusse

tritt mitunter bei nachträglichem weiteren Antigenzusatz doch noch Fällung ein. Es liegt nahe, diese Erscheinung damit zu erklären, daß für die Hauptmasse der in dem Gemisch enthaltenen Antigene und Antikörper erstere in einer bereits zur Lösung des Niederschlages führenden Menge vorhanden sind, während ein Partialantikörper in der Lösung in so geringer Konzentration sich befindet, daß erst bei großem Antigenzusatz eine sichtbare Ausfällung eintritt, die dann natürlich, weil von den übrigen Antigenen spezifisch verschieden, nicht in Lösung geht.

Trotzdem glaube ich diesen gelegentlichen Befunden unbedingte Beweiskraft für die Komplexität der Präzipitogene und daher der Präzipitine nicht beimessen zu dürfen, wenigstens dort, wo Blutserum oder einfachere Substanzen das Antigen bilden. Pauli hat gefunden, daß beim Aussalzen von Eiweißkörpern bei bestimmten Salzkonzentrationen Fällungen auftraten, die bei weiteren Salzzusätzen wieder verschwinden, um bei fortgesetzten Salzzusätzen wieder aufzutreten. Es wäre nicht unmöglich, daß in den von uns besprochenen Fällungen analoge Verhältnisse vorliegen, daß also Präzipitogen und Präzipitin Bindungen in verschiedenen Mengenverhältnissen eingehen, die nicht in gleichem Maße unlöslich sind. Die Befunde sind natürlich zu spärlich, um eine Entscheidung der Frage zu ermöglichen.

Zusammenfassung.

1) Die zelligen und sezernierten Stoffe des Darmkanals, die zusammen mit den für unsere Fragen bedeutungslosen Nahrungsresten den Kot bilden, wirken sämtlich als Präzipitogen und sind als solche einander mehr oder weniger ähnlich, das ist in ihrer fällenden Wirkung auf Immunserum sich zum Teil deckend, nie vollkommen gleich.

2) Der Kot verleugnet diese Entstehungsweise nicht, indem ein Kotextraktserum mit allen diesen Stoffen vom Pylorus abwärts reagiert und umgekehrt.

3) Kotextraktserum reagiert auch, aber nur schwach, mit den im Kote reichlich vorkommenden Bakterien, und umgekehrt.

4) Die in den Kot gelangten Antigene werden daselbst stark verändert, so zwar, daß reichlich neue für den Kot spezifische Antigene entstehen.

5) Antigene, die oberhalb des Pylorus in den Verdauungskanal gelangen, werden nicht nur bezüglich der Art-, sondern auch bezüglich der Zustandsspezifität denaturiert.

6) Kotserum reagiert nur schwach mit Blutserum und umgekehrt.

7) Menschliches Meconium stammt, nach seiner Antigenwirkung beurteilt, hauptsächlich vom Dündarm und enthält eine die eigene Fällung, aber nur diese, durch homologes oder verwandtes Immuserum erheblich hemmende Substanz.

8) Nach den Versuchen mit Hunde- und Menschenkot ist zu vermuten, daß die exakte biologische Kotanalyse zu diagnostischen Zwecken nicht verwertbar ist, rein empirisch an großem Krankenmaterial versucht, könnte sie möglicherweise Resultate ergeben.

Literatur.

- 1) Brezina und Ranzi, Wien. klin. Wochenschr., 1908.
- 2) Kraus und Wilenko, ebenda, 1908.
- 3) Wilenko, ebenda, 1909.
- 4) Kraus und Wilenko, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie, Bd. 1, 1908.
- 5) Sohma und Wilenko, ebenda, Bd. 3, 1909.
- 6) Centanni, Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 1904; Bd. 43, 1907.
- 7) Hamburger und Arrhenius, Ref. Biochem. Centralbl., 1906.
- 8) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 1902.
- 9) v. Dungern, ebenda, Bd. 34, 1903.
- 10) Müller, P. Th., ebenda.
- 11) Pauli, Hofmeisters Beiträge, Bd. 6, 1907.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für gerichtliche Medizin der k. k. Universität
in Graz (Vorstand Prof. Dr. J. Kratter).]

Studien über Eiweiß-Anaphylaxie¹⁾.

Von Privatdozent Dr. **Hermann Pfeiffer** und Dr. **S. Mita**.

Mit 15 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. November 1909.)

In No. 1 der Wiener klinischen Wochenschrift, Jahrgang 1909, hat der eine von uns zuerst auf die Tatsache aufmerksam gemacht, daß nach erstmaliger Injektion von Eiweißkörpern bezw. nach einer 10 Tage später erfolgenden Reinjektion derselben Eiweißart Meerschweinchen insofern ein verschiedenes Verhalten zeigten, als dabei unvorbehandelte Tiere keine oder nur ganz minimale Schwankungen ihrer Körpertemperatur darboten, während die nach der genannten Zeit mit derselben Eiweißart neuerdings behandelten Meerschweinchen intensive Störungen ihres Wärmehaushaltes, und zwar als Teilerscheinung des anaphylaktischen Shocks Temperaturabnahmen oft um mehrere Grade Celsius erkennen lassen. In weiteren vorläufigen Mitteilungen konnten diese Beobachtungen bestätigt und erweitert, im Rahmen dieser Veröffentlichung aber die experimentellen Details nicht wiedergegeben werden. Die differenten Befunde, zu welchen auf Grund unkritischer und ungenauer Versuche kürzlich Ranzi gekommen ist, und eine kurze Mitteilung Neufelds, welche anscheinend seine Ansicht zu bestätigen scheint, bieten nunmehr die Veranlassung, in ausführlicherer Weise auf die hier aufgefundenen Verhältnisse zurückzukommen und zu zeigen, wie das Symptom des „anaphylaktischen Temperatursturzes“ besser als irgendein anderes der bekannten dazu geeignet ist, die Ueberempfindlichkeitserscheinung in einfachster und exakter Weise selbst unter Versuchsbedingungen zu analysieren, wo die anderen gebräuchlichen Techniken meist im Stiche

1) Ausgeführt mit Unterstützung der k. Akad. der Wissenschaften in Wien aus dem Legate Wedl.

lassen¹⁾. Diese von H. Pfeiffer immer vertretene Anschauung wurde übrigens erst kürzlich durch die unabhängigen Versuche von Braun bestätigt²⁾, welcher in seiner, dieses Thema behandelnden Arbeit zu dem Schlusse kommt, „daß der anaphylaktische Symptomenkomplex, wenn er nicht in kurzer Zeit mit dem Tode endet, regelmäßig von einem Temperatursturz begleitet ist; oft ist dieser das einzig sichere Symptom“.

I. Versuchstechnische Vorbemerkungen.

Da das Phänomen einer Temperaturerniedrigung nach intraperitonealer Injektion von Flüssigkeiten an sich nichts Charakteristisches darstellt und auf die verschiedenartigsten Agentien hin zustande kommen kann, so bedarf die Untersuchung einer bestehenden Ueberempfindlichkeit mit Hilfe des anaphylaktischen Temperatursturzes der Einhaltung einer bestimmten Versuchstechnik, welche es ermöglicht, diese Erscheinung diagnostisch zu verwerten. Das fortgesetzte Studium des in Rede stehenden Phänomens hat die Verfasser zur Aufdeckung einer Reihe von Fehlerquellen geführt, deren Außerachtlassung leicht die gewonnenen Resultate zweideutig gestalten muß.

Zur Injektion wurden, wo nicht besondere Anmerkungen sich finden, nur Meerschweinchen von über 300 g Gewicht, also fast erwachsene, jedoch nicht zu alte Tiere, womöglich der kurzhaarigen Rasse, verwendet, von denen wir sicher waren, daß sie mit irgendeinem Antigen noch nicht vorbehandelt waren. Ganz jugendliche Tiere dürfen, wie vielfältige Erfahrungen lehrten, deshalb nicht verwendet werden, weil sie gegen eine ganze Reihe von schädlichen Einflüssen, die weiter unten noch besprochen werden sollen, leicht mit unspezifischen, wenn auch geringgradigen Temperaturabnahmen reagieren. Unvorbehandelte Meerschweinchen mußten wir deshalb fordern,

1) Anmerkung bei der Korrektur: Mit den Aeußerungen von O. Thomsen (diese Zeitschrift, Bd. 3, Heft 6) haben wir uns nicht näher zu befassen, da sie, wie der Verfasser selbst schreibt, nicht das Ergebnis einer Nachprüfung sind.

2) Vergl. dazu auch die Arbeit von E. Friedberger, diese Zeitschrift, Bd. 3.

weil eine, wenn auch weit zurückliegende Vorbehandlung infolge des langen Fortbestehens einer Ueberempfindlichkeit so etwa gewonnene Resultate völlig illusorisch machen.

Das Antigen der Vorbehandlung, Serum- und Eiweißkörper verschiedenartiger Provenienz, wurde, wie näher ausgeführt werden soll, in verschiedenen Mengen und unter den differentesten Versuchsbedingungen den Versuchstieren intraperitoneal eingebracht. Um ein Rückfließen des Materials aus der Einstichöffnung zu verhüten, faßt man zweckentsprechend diese mit einem Péan und ligiert sie. Bis zur Reinjektion müssen die Tiere in entsprechenden Räumen bei reichlicher Nahrung gehalten werden. Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden sie dann auf das Vorhandensein oder Fehlen anaphylaktischer Erscheinungen in der in den Tabellen näher ausgeführten Weise geprüft. Hervorzuheben ist, daß in den hier mitzuteilenden Versuchen immer, wo nicht ausdrücklich andere Angaben sich finden, zur Reinjektion bei 57° völlig inaktivierte Seren verwendet wurden, welche zu Kontrollzwecken immer auch auf ihre Wirkung am unvorbehandelten oder andersartig vorbehandelten Tiere geprüft worden waren.

Gewisse, auf das Meerschweinchen stark toxisch wirkende Seren (Menschen-, Rinder-, Katzenserum in aktivem Zustande) vermögen, wie einer von uns schon im April dieses Jahres mitteilen konnte, in größeren Mengen (2—5 ccm) bei jugendlichen Meerschweinchen auch nach einer erstmaligen Injektion die Temperatur herabzusetzen, während kleinere Mengen wirkungslos sind. Diese für die Verwertbarkeit des anaphylaktischen Temperatursturzes wichtige Fehlerquelle ließ sich aber, wie einschlägige, weiter unten anzuführende Versuche gelehrt haben, dadurch ausschließen und gleichzeitig in ihrer prinzipiell von dem in Rede stehenden Phänomen verschiedenen Wesenheit erklären, daß wir das zu einer solchen Injektion zu verwendende Serum bei 57° inaktivierten. Solche inaktive Seren vermögen selbst in großen Mengen bei einer erstmaligen Injektion keine oder nur ganz geringfügige Temperaturabnahmen zu erzeugen, lösen aber bei vorbehandelten Tieren fast ebenso intensiv den spezifischen anaphylaktischen Temperatursturz aus, wie in aktivem Zustande. Es darf also der durch gewisse toxisch wirkende und aktive Seren in großer

Menge bei erstmaliger Injektion erzeugbare Temperaturabfall nicht, wie dies Ranzi getan hat, mit dem anaphylaktischen Temperatursturz verwechselt werden. Er ist auf die Wirkung der im normalen Serum enthaltenen Hämolysine zurückzuführen und kann, wie gesagt, durch Inaktivierung bei 57° und durch stete Kontrolle der zu verwendenden Eiweißkörper am unvorbehandelten Tiere als Fehlerquelle ausgeschaltet werden.

Da durch zu ausgiebiges Rasieren und Waschen namentlich bei jungen Tieren und in der kalten Jahreszeit gleichfalls nicht auf den anaphylaktischen Shock zurückzuführende, also unspezifische, wenn auch nur geringfügige Temperaturabnahmen herbeigeführt werden können, so müssen die nur an einer eben genügend großen Stelle der Bauchhaut rasierten und desinfizierten Tiere möglichst schonend injiziert und weiterhin in einem wohltemperierten Raume verwahrt werden, in welchen sie schon 12 Stunden vor Anstellung des Versuches gebracht wurden. Die Injektion darf nur mit Materialien vorgenommen werden, welche auf Körpertemperatur vorgewärmt wurden.

Weiterhin ist während des Versuches die rektal zu messende Normaltemperatur der Meerschweinchen von Tier zu Tier großen Schwankungen unterworfen, so konstant sie auch bei entsprechender Pflege für ein und dasselbe Tier ist. Bei ganz großen Tieren liegt sie im allgemeinen niedriger (38,8) als bei mittelgroßen (39,0), oder bei jungen Tieren (39,3 im Mittel). Es ist daher bei der Prüfung auf das Vorhandensein des anaphylaktischen Temperatursturzes nach der Reinjektion immer kurz vor der Einverleibung, jedoch nach der Desinfektion der Injektionsstelle die Temperatur genau rektal zu messen und nun von 15 zu 15 Minuten ihr weiteres Verhalten zu verfolgen, bis sie, bei einem positiven Ergebnis, wieder zur Norm zurückgekehrt ist. Um ein Ausfließen des einverleibten Antigens zu vermeiden, wird die Injektionsöffnung abermals mit einem Péan gefaßt und ligiert.

Zur Temperaturbestimmung bedienen wir uns eines nach den Angaben W. Weichardts konstruierten kleinen, rasch und exakt messenden Thermometers, welches tief in den Enddarm eingeführt wird. Es kann von Gustav Eger, Graz, Halbärthgasse, bezogen werden.

Um den Verlauf eines derartigen Versuches anschaulich zu machen, empfiehlt es sich, das Resultat in Form einer Kurve in der Weise auf einem Millimeterpapier einzuzichnen, daß man wie in den hier abgedruckten Kurven auf der Ordinate für je 10 mm 1° C, auf der Abszisse die seit der Injektion verflossene Zeit so markiert, daß 12 mm = 60 Minuten entsprechen. Es ist selbstverständlich, daß wir, abgesehen von den Temperaturverhältnissen, auch sonst die Tiere während der Versuchsdauer genau auf das Auftreten anderer anaphylaktischer Erscheinungen (Krämpfe, Lähmungen, Shockerscheinungen, Kotabgang usw.) untersucht und auch dies registriert haben ¹⁾.

Da aber in den nachfolgenden Versuchen gezeigt werden soll, wie sehr speziell das Symptom der Temperaturabnahme im anaphylaktischen Shock geeignet ist, Einblick in das Ueberempfindlichkeitsphänomen zu erlangen, so wurde von einer genauen Registrierung in den Tabellen Abstand genommen und ausschließlich ein tödlicher Ausgang durch das †-Zeichen angemerkt.

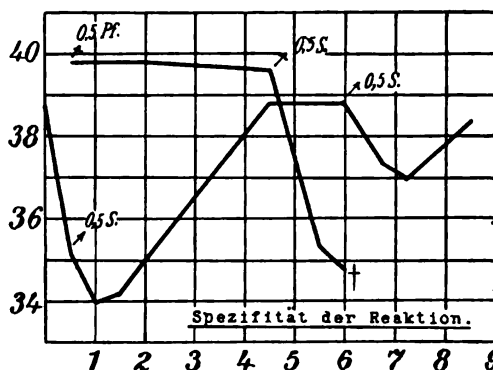
II. Die Spezifität des anaphylaktischen Temperatursturzes.

Der Nachweis des Bestehens eines anaphylaktischen Temperatursturzes gelang unter vielen anderen gleichsinnig ausgefallenen Versuchen zunächst durch die folgenden Beobachtungen:

Versuch. Drei unvorbehandelte Meerschweinchen erhielten je 1,5 ccm gelagerten, spontan inaktiv gewordenen Rinder-, Schweine- und Menschenserums intraperitoneal. Die Temperaturen befanden sich zu Beginn des Versuches innerhalb der normalen Temperaturgrenzen und blieben es während der 4-stündigen Dauer des Versuches. Keine Krankheitserscheinungen.

1) Der Einwand O. Thomsens (l. c.), man dürfe nicht aus einem vereinzelt Symptom (Temperaturabnahme) in praxi Schlüsse ziehen, übersieht, daß H. Pfeiffer nur in solchen Fällen auf Grund der Temperaturmessung allein die Diagnose gestellt wissen will, wo die anderen, weniger empfindlichen Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks im Stiche lassen. Daß man sie bei deutlichem Vorhandensein mit registriert, wurde von H. Pfeiffer (Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 36, Naturforscherversammlung in Salzburg) wiederholt betont.

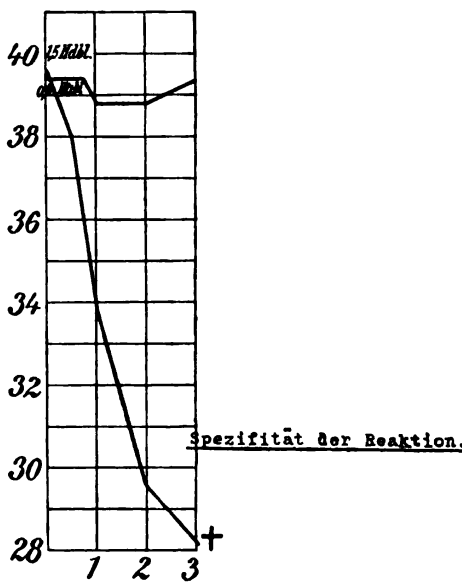
Zwei Meerschweinchen erhielten je 0,000002 ccm Schweineserum intra-peritoneal, nach 16 Tagen ein Tier abermals 0,5 ccm inaktiven Schweineserums, ein zweites aber 0,5 ccm Pferdeserum. Während nun bei dem ersten Tiere, wie aus Kurve 1 hervorgeht, vom Momente der Injektion an bis 1 Stunde nachher die Temperatur rapid abfiel und 34,0° C erreichte, dann aber im weiteren Verlaufe innerhalb der drei weiteren Stunden wieder zur Norm zurückkehrte, behielt das zweite mit Pferdeserum geimpfte Tier seine Anfangstemperatur von 39,8° C unverrückt bei.



Kurve 1.

Das Ausbleiben des Temperaturabsturzes bei diesem Tiere konnte möglicherweise nicht darauf zurückgeführt werden, daß an Stelle des zur Vorbehandlung verwendeten Schweineserums Pferdeserum reinjiziert worden war, sondern

darauf, daß das Tier überhaupt nicht in diesem Sinne zu reagieren vermochte. Um dies zu entscheiden, erhielt nach Ablauf von 4 Stunden, innerhalb welcher Zeit, wie Versuche gelehrt hatten, der Temperaturabsturz bei vorbehandelten Tieren und bei Reinjektion der zur Vorbehandlung verwendeten Eiweißarten immer längst schon sein Maximum überschritten hatte, dieses selbe Tier 0,5 ccm inaktiven Schweineserums und reagierte darauf prompt mit einem sofort einsetzenden Temperaturabfalle bis auf 34,8°. Das Tier starb im anaphylaktischen Shock.



Kurve 2.

Dasselbe Gesetz der Spezifität, daß bei entsprechend gewählten Serumdosen der Reinjektion nur bei Einverleibung der zur Vorbehandlung verwendeten Eiweißart ein intensiver Temperatursturz im Ablaufe eines anaphylaktischen Shocks in die Erscheinung tritt, konnte auch durch den in Kurve 2 wiedergegebenen, mit Hunde- und Katzenblut vorbehandelten Tierversuch in gleicher Weise erhoben werden.

Versuch. Beide Versuchstiere erhielten am 16. VIII. 1909 intraperitoneal 0,001 Hundeblut injiziert. Tier 1 wurde 19 Tage darauf mit 1,5 ccm inaktiven Hundeserums nachbehandelt, mit einer Menge, welche bei unvorbehandelten Tieren als völlig unwirksam sich erwiesen hatte; Tier 2 mit derselben Menge inaktiven Katzenserums, welches bei unvorbehandelten Tieren von demselben Gewicht in der genannten Menge eine Temperaturabnahme von $0,5^{\circ}\text{C}$ hervorzurufen vermag. Während nun Tier 1, wie der in den Kurven wiedergegebene Verlauf dieses Versuches zeigt, unter einer Temperaturabnahme von $11,4^{\circ}\text{C}$ in 3 Stunden zugrunde ging, zeigte Tier 2 keine Krankheitserscheinungen. Seine Temperatur erfuhr nur eine Abnahme von $0,6^{\circ}\text{C}$, überschritt also jene von normalen Tieren nicht.

Die allgemeine Gültigkeit der hier aufgefundenen Verhältnisse illustriert auch Tabelle I. Die hier wiedergegebenen, durch Vorbehandlung und Reinjektion verschiedenartiger inaktiver Serumarten gewonnenen Resultate könnten wir leicht aus unseren Versuchsprotokollen vermehren. Doch mögen die hier angeführten Beispiele genügen, die Tatsachen festzustellen:

1) daß nach intraperitonealer Vorbehandlung mit einer bestimmten, an sich die Temperatur nicht herabsetzenden Serumart und Serummenge bei intraperitonealer Reinjektion derselben Art, auch ohne daß sonstwie anaphylaktische Symptome zu beobachten sind, ein intensiver Temperaturabfall regelmäßig in der Bauchhöhle zu konstatieren ist;

2) daß diese Reaktion bei Einhaltung der angegebenen Versuchstechnik spezifisch ist, d. h. nur dann beobachtet werden kann, wenn zur Reinjektion ceteris paribus die zur Vorbehandlung benützte Serumart eingebracht wird.

Nun konnte freilich der eine von uns, als er seine ersten Versuche mit lange gelagerten, also spontan inaktiv gewordenen

Tabelle I.

Tag der Vorbehandlung	Art der intraperitonealen Vorbehandlung	Intervall	Art der intraperitonealen Reinjektion	Temperaturabnahme in Zehnteilgraden C	Nach 2 Stunden intraperitoneal	Temperaturabnahme in Zehnteilgraden C
	ccm	Tage	ccm		ccm	
28. XI. 08	5 Schweines.	24	5 Schweineserum	44	—	—
28. XI. 08	5	24	5 Rinderserum	0	5 Schweineser.	42
12. VII. 09	0,001 Hundeser.	19	1,5 Hundeserum	114 †	—	—
12. VII. 09	0,001	19	1,5 Katzenserum	6	—	—
12. VII. 09	0,001	19	1,5	50 †	—	—
12. VII. 09	0,001	19	1,5 Hundeserum	4	—	—
28. XI. 08	5 Schweines.	23	5 Rinderserum	6	—	—
28. XI. 08	0,00002 Rinderser.	14	0,5	44	—	—
28. XI. 08	5 Schweines.	23	5	6	—	—
28. XI. 08	5	23	5 Schweineserum	30	—	—
28. XI. 08	5	23	5	50	—	—
28. XI. 08	5	23	2,5	36	—	—
25. XII. 08	0,002 Schweines.	16	0,5	44	—	—
25. XII. 08	0,002	16	0,5	18	—	—
25. XII. 08	0,002	16	0,5 Pferdeserum	0	0,5 Schweineser.	20
25. XII. 08	0,0002	16	0,5 Schweineserum	44	—	—
25. XII. 08	0,0002	16	0,5	14	—	—
25. XII. 08	0,0002	16	0,5 Pferdeserum	0	0,5 Schweineser.	46 †
25. XII. 08	0,00002	16	0,5 Schweineserum	24	—	—
25. XII. 08	0,00002	16	0,5	24	—	—
25. XII. 08	0,00002	16	0,5 Pferdeserum	0	0,5 Schweineser.	20
25. XII. 08	0,000002	16	0,5 Schweineserum	8	—	—
25. XII. 08	0,000002	16	0,5	30	—	—
25. XII. 08	0,000002	16	0,5 Pferdeserum	0	1,5 Schweineser.	24
25. XII. 08	0,002 Menschens.	13	1,0 Menschenser.	24	—	—
25. XII. 08	0,002	13	0,5	42	—	—
25. XII. 08	0,0002	13	1,0	30	—	—
25. XII. 08	0,0002	13	0,5	24	—	—
25. XII. 08	0,00002	13	1,0	0	—	—
25. XII. 08	0,00002	13	0,5	36	—	—
25. XII. 08	0,000002	13	1,0	4	—	—
25. XII. 08	0,000002	13	0,5	12	—	—
25. XII. 08	0,000002	13	1,0 Pferdeserum	0	0,5 Menschenser.	24

Seren bei Reinjektion von frischen Seren und an jungen Tieren wiederholte, beobachten, daß bei diesen jugendlichen und unvorbehandelten Tieren solche Seren, in größerer, aus Tabelle II ersichtlicher Menge intraperitoneal eingebracht, auch einen Temperaturabfall hervorrufen, welcher aber keineswegs spezifisch war und offenbar mit den eben beschriebenen Phänomenen nicht zu verwechseln war.

Tabelle II.

Vorbehandlung intraperitoneal	Inter- vall	Reinjektion intraperitoneal	Zustand des Serums	Gewicht des Tieres	Reaktion i. Zehntelgraden
—	—	5 ccm vom Rind	aktiv	—	40
—	—	2,5 " " "	"	—	20
—	—	2,5 " " "	"	—	0
—	—	5 " " "	inaktiviert	250—300 g	12
—	—	2,5 " " "	"	—	9
—	—	1,5 " " "	"	—	6
—	—	1,0 " " "	"	—	5
—	—	0,5 " " "	"	—	0
—	—	5,0 " " "	"	350—400 g	0
0,1 ccm Rinderser.	20	2,0 " " "	"	ca. 350 g	50 (+)
0,1 " "	20	2,0 " " "	"	ca. 350 "	63 (+)
0,1 " "	20	2,0 " " "	"	ca. 350 "	55 (+)
—	—	2,5 " vom Pferd	aktiv	250—300 g	9
—	—	1,0 " " "	"	250—300 "	0
—	—	2,5 " " "	inaktiv	250—300 "	1
—	—	2,0 " " "	"	250—300 "	0
—	—	1,0 " " "	"	250—300 "	0
0,01 ccm Pferdeser.	21	1,0 " " "	"	250—300 "	39 (+)
0,01 " "	21	1,0 " " "	"	250—300 "	35 (+)
0,01 " "	21	2,0 " " "	"	250—300 "	58 (+)
0,01 " "	21	2,0 " " "	"	250—300 "	75 (+)
0,002 " Hundeser.	20	1,5 " vom Hund	"	250—300 "	114 (+)
0,002 " Katzenser.	20	1,5 " " "	"	350—300 "	4
0,002 " " "	20	1,5 " v. d. Katze	"	250—300 "	50 (+)
0,002 " Hundeser.	20	1,5 " " "	"	250—300 "	6

Es zeigte sich, ohne daß wir hier neuerdings auf die Einzelheiten dieser Versuche eingehen möchten, ganz allgemein, daß artfremde Normalseren, welche auf Meerschweinchen eine starke allgemeine Toxizität und auf die Subcutis der Versuchstiere eine nekrotisierende Wirkung zu äußern vermochten, in den angegebenen Versuchsmengen ganz beträchtliche Temperaturabfälle von der Bauchhöhle aus erzeugen. Wie dies vor Jahren von einem von uns nachgewiesen werden konnte und wie sich an den Temperaturverhältnissen wieder bestätigte, gehen diese giftigen Eigenschaften heterologer Normalseren parallel mit ihrem hämolytischen Vermögen den Erythrocyten des Meerschweinchens gegenüber¹⁾. H. Pfeiffer

1) Es hat vor kurzem G. Lefmann Versuche über die Giftsubstanzen des artfremden Blutes angestellt und dabei ganz außer Acht gelassen, daß der wesentlichste Faktor dieser Wirkung nicht in den Erythrocyten, sondern im Serum bzw. dem Plasma gelegen ist (vgl. dazu auch die jüngsten Versuche Uhlenhuths und Haendels, Zeitschr. f.

gelaug es damals, derartig giftige Seren vollständig oder fast vollständig ihrer giftigen Eigenschaften dadurch zu berauben, daß er ihr Komplement teils durch Inaktivierung bei 57° C, teils durch Absättigungsversuche eliminierte, eine Erfahrung, die im Zusammenhalte mit anderweitigen, experimentell erhobenen Befunden dafür sprach, daß das Wesentliche in der Giftwirkung solcher artfremder Eiweißkörper im hämolytischen Komplement zu suchen sei. Da es für die praktische Verwertbarkeit des anaphylaktischen Temperatursturzes von Wichtigkeit war, diese sicherlich nicht unwesentliche Fehlerquelle auszuschalten, andererseits aber auch prinzipiell die wesentliche Differenz zwischen dieser unspezifischen Temperaturabnahme und jener im anaphylaktischen Shock festzustellen und zu erklären, so wurden, wie aus Tabelle II ersichtlich ist, teils mit aktiven, teils mit inaktiven Seren, und zwar sowohl bei unvorbehandelten als bei sensibilisierten Tieren Parallelversuche vorgenommen und ihre Resultate durch Hämolyseversuche kontrolliert. Dabei zeigte es sich, daß ganz parallel mit der Zerstörung des hämolytischen Komplementes bei 57° C und parallel mit der allgemeinen Giftigkeit und dem nekrotisierenden Vermögen, auch die temperaturherabsetzende Eigenschaft derartiger toxisch wirkender Seren entweder auf ein Minimum herabgesetzt oder ganz zerstört wird und das in Versuchsmengen, welche bei anaphylaktischen Tieren noch intensive Temperaturabnahmen bewirkten. Auf Grund dieser hier mitgeteilten und anderer einschlägiger Versuche konnte also der eine von uns, und das lange vor Ranzis und Neufelds Angaben, darauf hinweisen, daß eine Spezifität des anaphylaktischen Temperatursturzes auch gegenüber der temperaturherabsetzenden Wirkung stark toxisch wirkender artfremder Seren in aktivem Zustande insofern besteht, als die

Immunitätsf., Bd. 3, No. 2, wo die einschlägige Literatur genau angeführt ist). Wir haben diese Angaben Lefmanns mit artfremden Erythrocyten (Rind) durch in Meerschweinchen-Normal- und Meerschweinchen-Immunsorum gelöste Blutkörperchen derselben Species wiederholt, mußten aber neuerdings, wie der eine von uns schon vor Jahren angegeben hat, zu dem Resultate kommen, daß jedenfalls gegenüber der Toxizität des Serumteiles fremden Blutes die Einverleibung der Erythrocyten fast oder ganz belanglos ist. Wir wollen an anderer Stelle auf diese Versuche näher eingehen.

letzterwähnte mit dem hämolytischen Vermögen zumindestens innig zusammenhängt und durch die Ausschaltung dieses toxischen Faktors bei entsprechend gewählter Dosierung der Reinjektion völlig ausgeschaltet werden kann, während der anaphylaktische Temperatursturz mit ihr in keine Verbindung gebracht werden darf. Er tritt, wie dies ja von anderen Autoren schon wiederholt für den allgemeinen anaphylaktischen Symptomenkomplex beschrieben wurde, auch dann, und das in fast unverminderter Intensität, in die Erscheinung, wenn man mit Dosen inaktiver Seren arbeitet, die bei unvorbehandelten oder mit einem anderen Antigen als jenem bei der Reinjektion verwendeten vorbehandelten Tier eine temperaturherabsetzende Wirkung nicht auszulösen imstande sind ¹⁾).

Zu beachten sind in dieser Tabelle auch die Gewichtsverhältnisse der verwendeten Tiere, aus welchen hervorgeht, daß gegen die unspezifische Hämolyseeinwirkung jugendliche Tiere viel empfindlicher sind als ausgewachsene, während die letztgenannten, wenn Ueberempfindlichkeit besteht, in gleich intensiver Weise die Erscheinung des anaphylaktischen Temperatursturzes darbieten.

Einen weiteren stringenten Beweis für die wesentliche Verschiedenheit beider Wirkungen, und zugleich neben den weiter unten anzuführenden Tatsachen einen Beweis für die Zugehörigkeit des spezifischen Temperatursturzes zum anaphylaktischen Symptomenkomplex, lieferten die durch Versuche der Tabelle III erhärteten Beobachtungen. Die Versuche wurden mit inaktivem Pferdeserum in Versuchsmengen durchgeführt, welche, wie ersichtlich ist, bei unvorbehandelten Tieren nicht toxisch, nicht temperaturherabsetzend zu wirken vermögen. Es wurden nun eine Reihe von Meerschweinchen mit 0,01 ccm Pferdeserum vorbehandelt und ihnen dann in Zeiträumen von je 5 Tagen je 1,0 ccm Pferdeserum intraperitoneal eingebracht. Dabei zeigte es sich, daß die vorbehandelten Tiere

1) Anmerkung bei der Korrektur: Man könnte demnach mit demselben Sinne das Arthus'sche Phänomen zurückweisen, weil manche normale Seren nekrotisierend zu wirken vermögen (Uhlenhuth, H. Pfeiffer), oder das Smith'sche Phänomen, weil gewisse Normalseren in genügender Menge den Tod herbeiführen können!

Tabelle III.

Tag der Vorbehandlung	Menge der Vorbehandlung intraperitoneal	Intervall	Reinjektion intraperitoneal	Reaktion in Zehntelgraden	Mittelwert in Zehntelgraden
—	—	—	1,0 ccm Pferdeser.	0	0
—	—	—	1,0 „ „	0	
16. VII.	0,01 ccm Pferdeser.	5 Tag.	1,0 „ „	0	0
16. VII.	0,01 „ „	5 „	1,0 „ „	0	
16. VII.	0,01 „ „	10 „	1,0 „ „	14	12,5
16. VII.	0,01 „ „	10 „	1,0 „ „	11	
16. VII.	0,01 „ „	15 „	1,0 „ „	18	15
16. VII.	0,01 „ „	15 „	1,0 „ „	12	
16. VII.	0,01 „ „	20 „	1,0 „ „	25	30
16. VII.	0,01 „ „	20 „	1,0 „ „	36	
16. VII.	0,01 „ „	20 „	1,0 „ Rinderser.	0	0

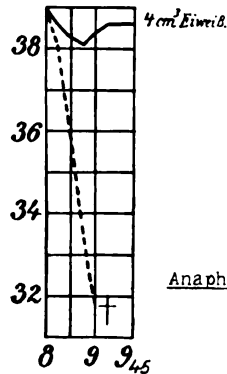
zu einem Zeitpunkte gegen die Reinjektion nicht reagierten, wo erfahrungsgemäß die Tiere das Inkubationsstadium der Ueberempfindlichkeit durchmachen, daß aber erst dann ein Temperatursturz bei sonst gleichen Versuchsbedingungen in Erscheinung tritt, wenn die Anaphylaxie sich geltend zu machen anfängt und weiter, daß das volle Optimum der Reaktion innerhalb der Versuchszeiten auf den 20. Tag nach der Vorbehandlung fällt, auf einen Zeitpunkt also, in welchem auch unter ausschließlicher Beobachtung der allgemeinen anaphylaktischen Erscheinungen das Phänomen auf der Höhe seiner Entwicklung angelangt ist. Schon dieses Verhalten allein würde genügen, beide in Rede stehenden Erscheinungen strikte voneinander zu unterscheiden.

Dasselbe für die Anaphylaxie schon von anderen Seiten festgestellte Ansteigen der Empfindlichkeit gibt sich unter anderem durch den Temperatursturz dann zu erkennen, wenn

Tabelle IV.

Vorbehandlung intraperitoneal	Intervall	Reinjektion intraperitoneal	Reaktion
0,1 ccm Hühnereiklar	14	4 ccm Hühnereiklar	71 (†)
0,1 „ „	14	4 „ „	12
0,1 „ „	14	4 „ „	6
0,1 „ „	21	4 „ „	29 (†)
0,1 „ „	21	4 „ „	47 (†)
—	—	2 „ „	6
—	—	4 „ „	8

man zur Sensibilisierung andere Eiweißkörper verwendet. Diese spezifische Reaktion konnte z. B. auch nach Vorbehandlung und bei Reinjektion verschiedener anderer Eiweißkörper, so z. B. von Eiklar des Hühnereies festgestellt werden (vergl. die Versuche von Vaughan und Wheeler), welches bei unvorbehandelten Tieren selbst in der enormen Menge von



Kurve 3.

4 ccm bei intraperitonealer Einbringung, wie aus Tabelle IV und Kurve 3 hervorgeht, nur ganz unwesentliche Temperaturerniedrigungen auszulösen vermag. Vorbehandelte Tiere hingegen zeigen dann, wenn sie nicht ganz plötzlich nach der 2. Injektion zugrunde

gehen, immer enorme Temperaturabnahmen mit und ohne anderweitige Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks¹⁾. In dieser Hinsicht möchten wir auch auf unsere im IV. Abschnitte in den Tabellen XVII und XVIII mitgeteilten Erfahrungen mit Kuhmilch und Rindfleisch verweisen, die wir deshalb an der genannten Stelle bringen, weil sie, mit durch Hitze veränderten Eiweißkörpern gewonnen, besser in anderem Zusammenhange verwertet zu werden vermögen.

In demselben Sinne für die strenge Spezifität der in Rede stehenden Reaktion sprachen Versuche, die wir zu dem Zwecke anstellten, die in Versuchen von A. Kraus, R. Doerr und Sohma, Andrejew und Uhlenhuth festgestellte Anaphylaxie gegen arteigenes Linseneiweiß auch auf diesem experimentellen Wege noch weiter zu erhärten. Diese Versuche, welche weiterhin noch fortgesetzt werden, wurden in der folgenden Weise, wie aus Tabelle V hervorgeht, angestellt.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Mittlerweile ist es uns auf diesem Wege auch gelungen, das Eiweiß vom Eiklar und Dotter des Hühnereies auseinanderzuhalten.

Tabelle V.

Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion intraperitoneal	Reaktion
Preßsaft $\frac{1}{2}$, Meerschweinchenleber	14 Tage	Preßsaft $\frac{1}{2}$, Meerschweinchenleber	0
dgl.	14 „	dgl.	0
—	—	Eiweiß von 2 Meerschweinchenlinsen	10
2mal Injektion d. Eiweißes von 2 Meerschweinchenlinsen	14 Tage	dgl.	28
dgl.	14 „	dgl.	17
dgl.	14 „	dgl.	6
dgl.	14 „	dgl.	12

Versuch: 4 Meerschweinchen wurden in zwei Intervallen von je 14 Tagen mit den Extrakten von je 2 Meerschweinchenlinsen intraperitoneal vorbehandelt. Während die Tiere, wie mehrere zu Kontrollzwecken injizierte, unvorbehandelte und gleich schwere Tiere auf die ersten beiden Injektionen mit Temperaturniedrigungen von höchstens $1,0^{\circ}$ C reagierten, zeigten jene nach einem neuerlichen Intervall von 14 Tagen wieder mit derselben arteigenen Linsensubstanz in derselben Menge zum dritten Male behandelten Tiere, wie aus der obenstehenden Tabelle hervorgeht, Temperaturabnahmen, welche die Reaktion unvorbehandelter Tiere um mehr als das Doppelte überstiegen. Zu diesen Versuchen ist zu bemerken, daß für die Reinjektionen die im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten und pulverisierten Meerschweinchenlinsen, in Kochsalzlösung aufgenommenen, verwendet wurden.

Während also diese Versuche, die zur Erzielung stärkerer Anaphylaxiegrade und ihrer Prüfung an andersartigem Linseneiweiß derzeit noch fortgesetzt werden ¹⁾, unzweifelhaft positiv ausfielen, kamen wir bei 2 Tieren, welche mit dem Preßsaft von Meerschweinchenleber intraperitoneal vorbehandelt waren, noch zu keinem positiven Resultate. Daraus bindende Schlüsse im negativen Sinne ziehen zu wollen, möchten wir aber in dieser Hinsicht heute noch vermeiden.

Wie aus Tabelle Va ersichtlich ist, erhielten wir nach Sensibilisierung mit dem Eiweiß von Rinderlinsen die nachfolgenden Resultate:

1) Anmerkung bei der Korrektur: Wir haben diese Versuche mittlerweile fortgesetzt. Bei neuerlicher Injektion der Tiere reagierten sie in spezifischer Weise beinahe doppelt so stark als hier verzeichnet steht.

Tabelle Va.

Vor- behandlung	Inter- vall Tage	Reinjektion g	Ergebnis in Zehntel- graden	Mittelwerte in Graden C
$\frac{1}{2}$ Rinderlinse	21	0,08 Rinderlinsenextrakt	14	} 4,8
$\frac{1}{2}$ "	21	0,08 "	81	
$\frac{1}{2}$ "	21	0,08 "	42	
$\frac{1}{2}$ "	21	0,08 "	53	
—	—	0,08 "	8	0,8
$\frac{1}{2}$ Rinderlinse	21	0,06 Meerschweinchenlinse	4	} 2,1
$\frac{1}{2}$ "	21	0,06 "	20	
$\frac{1}{2}$ "	21	0,06 "	34	
$\frac{1}{2}$ "	21	0,06 "	26	
—	—	0,06 "	8	0,8
$\frac{1}{2}$ Rinderlinse	21	2,0 Rinderserum inaktiv	4	} 0,8
$\frac{1}{2}$ "	21	2,0 " "	0	
$\frac{1}{2}$ "	21	2,0 " "	14	
$\frac{1}{2}$ "	21	2,0 " "	15	
—	—	2,0 " "	9	0,9

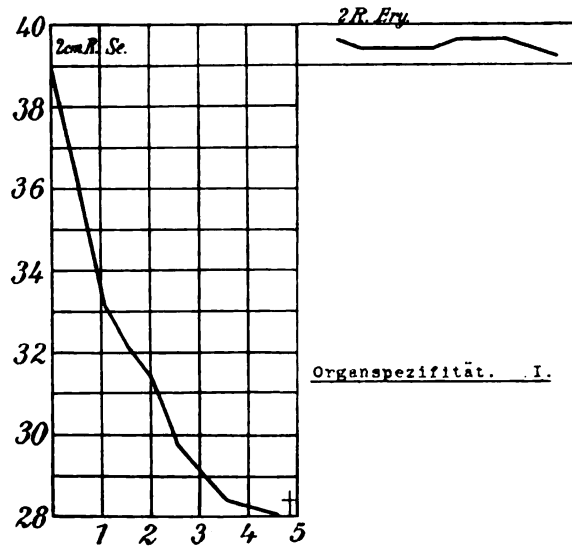
12 Meerschweinchen wurden je mit dem Eiweiß $\frac{1}{2}$ Rinderlinse vorbehandelt. 4 dieser Tiere wurden nach 21 Tagen mit einer Menge von Rinderlinseneiweiß nachbehandelt, welche an sich eine nur ganz geringfügige Temperaturabnahme (vergl. Kontrolltier 5 = $0,8^{\circ}$ C) erzeugte. Die vorbehandelten Tiere reagierten darauf unter auch andersartigen anaphylaktischen Erscheinungen mit intensiven Temperaturabnahmen (bis $8,1^{\circ}$ C), welche einen Durchschnitt von $4,8^{\circ}$ C lieferten. 4 andere Tiere wurden mit je 0,06 Linseneiweiß vom Meerschweinchen reinjiziert. Während diese Menge arteigenen Eiweißes im unvorbehandelten Tiere gleichfalls Temperaturabnahmen von weniger als 1° C lieferte, zeigten 3 mit Rinderlinse vorbehandelte Tiere auch hier intensive anaphylaktische Reaktionen (bis $3,4^{\circ}$ C) mit einem Mittelwerte von $2,1^{\circ}$ C, während ein Tier als unempfindlich sich erwies. Endlich wurden 4 Tiere mit Rinderserum nachbehandelt. Wenn auch 2 dieser Tiere auf die Reaktion etwas stärker reagierten ($1,4$, $1,5^{\circ}$ C) als vorbehandelte ($0,9^{\circ}$), so war doch die Empfindlichkeit gegen diesen Eiweißkörper nur sehr undeutlich gesteigert und lieferte in dieser Gruppe Durchschnittswerte von $0,8^{\circ}$ C.

Wir können uns auf Grund dieser Versuchsergebnisse den Angaben der früher erwähnten Autoren anschließen und sagen:

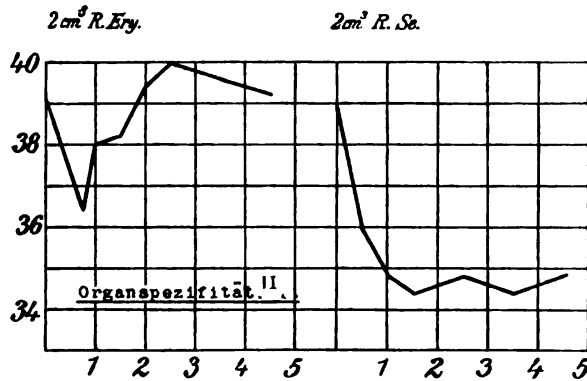
1) daß durch Vorbehandlung mit artfremdem Linseneiweiß (Rinderlinse) eine Ueberempfindlichkeit geschaffen wird, welche für dieses Eiweiß, im Gegensatze zum artgleichen Serumeiweiß, spezifisch ist;

2) daß diese Anaphylaxie auch bei der Reinjektion von andersartigem Linseneiweiß (dem körpereigenen) manifest wird, also hier auf Kosten einer Organspezifität die Artspezifität verloren gegangen ist.

Hinsichtlich der strengen Spezifität der Reaktion und der anaphylaktischen Erscheinungen überhaupt machten wir noch



Kurve 4.



Kurve 5.

folgende Beobachtung, welche auf dem Wege der Präzipitine gemachte Erfahrungen von A. Klein für das Ueberempfindlichkeitsphänomen in gewissem Sinne bestätigt und gleichzeitig einen Einblick in die Organspezifität des Hämoglobins

28*

gewährt¹⁾. A. Klein konnte seinerzeit die Beobachtung machen, daß nach Immunisierung mit den Extrakten gewaschener Erythrocyten verschiedener Tierarten das Kaninchen wohl Erythropräzipitine, aber keine Serumpräzipitine zu bilden vermag, während nach Vorbehandlung mit dem reinen Serum der betreffenden Tierarten beide Arten von Präzipitinen nachgewiesen werden konnten. Diese mittlerweile in eigenen unveröffentlichten Versuchen vollauf bestätigte Beobachtung dieses Autors hatte, mit dem Ueberempfindlichkeitsphänomen in der nachfolgenden Weise untersucht, das in Tabelle VI und in den Kurven 5 und 6 angeführte Ergebnis:

Tabelle VI.

Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion mit	Reaktion in Zehntelgrad.
0,1 ccm reiner Hämoglobinlösung vom Rind	16 Tage	2,0 ccm reiner Hämoglobinlösung vom Rind	28
dgl.	16 "	dgl.	14
dgl.	16 "	2,0 ccm reinen inaktiven Rinderserums	46
0,1 ccm reinen Rinderserums	16 "	dgl.	110 (+)
dgl.	16 "	dgl.	46
dgl.	16 "	2,0 ccm reiner Hämoglobinlösung vom Rind	2

Versuch: Von je 6 Meerschweinchen wurden 3 Tiere (Gruppe A) mit je 0,1 ccm einer ca. 10-proz. Lösung von viermal gewaschenem und gelöstem reinen Rinderserum vorbehandelt. 16 Tage nach dieser Injektion bekamen, wie aus der Tabelle hervorgeht, zwei Tiere der Gruppe A je 2,0 ccm einer Hämoglobinlösung, welche auf unvorbehandelte Tiere derselben Größe nicht temperaturherabsetzend zu wirken vermochte, das dritte jedoch dieselbe Menge inaktivierten Rinderserums von denselben Eigenschaften. Während die ersten beiden Tiere auf die auch zur Vorbehandlung verwendete Hämoglobinlösung mit Temperaturstürzen von 2,8, bzw. 1,4° C reagierten, zeigte das dritte Tier auf die Injektion des Serums eine Temperaturabnahme von 4,6° C, eine Erfahrung, die bewies, daß die mit serumfreier Hämoglobinlösung vorbehandelten Tiere sowohl auf diese als auch auf die Reinjektion derselben Serumart mit Ueberempfindlichkeits-

1) Anmerkung bei der Korrektur: O. Thomsen hat in seiner jüngst erschienenen Arbeit über Blutanaphylaxie (l. c.) offenbar übersehen, darauf hinzuweisen, daß der eine von uns die Tatsache einer organspezifischen Anaphylaxie nach Vorbehandlung mit reinen Erythrocytenlösungen schon im März dieses Jahres in seinem Bericht an die k. Akademie der Wissenschaften in Wien angegeben hat. So interessant also diese Versuche sind, so stellen sie kein Novum dar.

erscheinungen zu reagieren vermochten. Von den Tieren der Gruppe B reagierten die beiden mit Serum vorbehandelten auf die Einbringung derselben Serummengende mit Temperaturabnahmen von 4,6, bzw. von 11,06° C, das dritte Tier auf die Injektion von Hämoglobinlösung hingegen zum Unterschiede von den Tieren der ersten Gruppe nicht.

Diese Erfahrungen, welche in einem gewissen Gegensatze zu den Präzipitinversuchen von A. Klein stehen, wenn auch auf diesem Wege eine Organspezifität von Hämoglobinlösungen erhärtet werden konnte, beweisen:

1) daß nach einer einmaligen intraperitonealen Vorbehandlung mit reinen artfremden Hämoglobinlösungen (Rindererythrocyten) eine Ueberempfindlichkeit sich entwickelt, welche, wenn auch schwächer, sowohl durch die Reinjektion derselben Serumart wie derselben Hämoglobinlösung durch den anaphylaktischen Temperatursturz nachweisbar ist; daß hingegen

2) nach einmaliger intraperitonealer Vorbehandlung mit einem artfremden Serum (Rinderserum) in kleinen Mengen die Tiere ausschließlich gegen die Wiedereinbringung desselben Serums, nicht aber derselben Erythrocytenlösung überempfindlich werden. Dies beweist

3) die auch aus den Präzipitinversuchen Kleins sich ergebende Tatsache, daß in den Erythrocyten organspezifische Körper — vermutlich das Hämoglobin — sich finden, die lediglich mit dem durch Injektion von Hämoglobin erzeugten, nicht aber durch Injektion von reinem Serumeiweiß erzeugten anaphylaktischen Reaktionskörper zu wirken vermögen.

4) Die Möglichkeit, mit Hilfe jener Serumart einen anaphylaktischen Shock auslösen zu können, deren Erythrocyten zur Vorbehandlung gedient haben, spricht dafür, daß neben dem organspezifischen Antigen in den Erythrocyten auch noch ein artspezifisches, demnach nicht nach dem Organ differenziertes Eiweiß vorhanden sein muß.

5) Aus den hier wiedergegebenen Differenzen gegenüber den Ergebnissen der Präzipitinprobe etwa Schlüsse im Sinne einer Nichtidentität des anaphylaktischen Reaktionskörpers und der Präzipitine ziehen zu wollen, geht aber deshalb nicht an, weil sie vielleicht auf wesentliche Unterschiede in der Versuchsanordnung (hier Tierkörper als Reagens, dort der Versuch *in vitro*!) zurückgeführt werden muß.

Am Schlusse dieses ersten, die Spezifität des in Rede stehenden Phänomens behandelnden Abschnittes unserer Ausführungen möchten wir, und das namentlich gegenüber den Angaben Ranzis und Neufelds, unsere bisherigen Ergebnisse in folgender Weise zusammenfassen:

1) Das nach Entwicklung einer Anaphylaxie bei der Reinjektion und bei entsprechend gewählter Versuchsanordnung nachweisbare Phänomen des Temperatursturzes ist in der Weise spezifisch, als es nur dann nachgewiesen werden kann, wenn das zur Vorbehandlung verwendete Eiweiß reinjiziert wird.

2) Es ist ein konstantes Begleitsymptom des anaphylaktischen Shocks und gestattet sehr häufig noch unter Versuchsbedingungen diesen am Meerschweinchen nachzuweisen, wo die anderen Symptome im Stiche lassen.

3) Dieses Phänomen ist prinzipiell von den Temperaturerniedrigungen zu trennen, die auch bei unvorbehandelten Tieren und bei Anwendung entsprechender größerer Dosen artfremder Seren, und zwar entsprechend ihrer auf ihr hämolytisches Vermögen zurückzuführenden allgemeinen Giftigkeit, beobachtet werden können.

4) Schon die Tatsache, daß eine Inaktivierung der zur Reinjektion verwendeten Seren das unspezifische temperaturherabsetzende Vermögen artfremder Seren auf ein Minimum herabsetzt oder aber ganz ausschaltet, während der Temperatursturz vorbehandelter Tiere in fast unveränderter Weise auf diesem Wege auslösbar bleibt, sowie der Umstand, daß diese Temperaturherabsetzung nur nach der Inkubationsperiode einer sich entwickelnden Ueberempfindlichkeit erzeugt werden kann, diese beiden Tatsachen allein beweisen schon die prinzipielle Wesenheit beider Erscheinungen.

5) Mit Hilfe dieses spezifischen anaphylaktischen Temperatursturzes ist es gelungen, das Auftreten einer organspezifischen Anaphylaxie gegen das artgleiche und artfremde Linseneiweiß (K r a u s, U h l e n h u t h), als auch das Vorkommen organspezifischer Eiweißkörper in Hämoglobinlösungen gegenüber dem Serumeiweiß zu erweisen.

III. Die Zugehörigkeit des Temperatursturzes zum Symptomenbild des anaphylaktischen Shocks.

Wenn durch die bisher mitgeteilten Tatsachen allein wohl schon bewiesen war, daß die bei der Reinjektion von Eiweißlösungen in die Bauchhöhle vorbehandelter Meerschweinchen in die Erscheinung tretende Temperaturherabsetzung ein im mehrfachen Sinne spezifisches Phänomen genannt werden muß und daß sie bei entsprechend gewählter Versuchsanordnung ausschließlich in Begleitung des anaphylaktischen Shocks beobachtet werden kann, so war damit doch der zwingende Beweis eines inneren Zusammenhanges mit diesem noch nicht erbracht. Wenn auch die Tatsache des Auftretens einer Temperaturerniedrigung erst zu einer Zeit, wo das Inkubationsstadium einer Anaphylaxie überwunden ist, in diesem Sinne gedeutet werden mußte, so war es doch wünschenswert, auch noch andere, noch schlagendere Beweise in dieser Richtung zu erbringen.

Diesbezüglich konnte die Beantwortung der folgenden Fragen volle Klarheit schaffen:

1) Tritt der Temperatursturz wie bei der aktiven Ueberempfindlichkeit, so auch bei der passiven Anaphylaxie, und zwar als Begleitsymptom des auf diesem Wege erzeugbaren anaphylaktischen Shocks auf?

2) Wie verhalten sich die Temperaturverhältnisse von Tieren, denen im Stadium einer sogenannten „Antianaphylaxie“ der zur Reinjektion verwendete Eiweißkörper eingebracht wird?

3) Wie liegen die Verhältnisse bei der intravenösen Reinjektion vorbehandelter und bei der erstmaligen Injektion unvorbehandelter Meerschweinchen?

4) Wie gestalten sich die Temperaturverhältnisse bei der von Biedl und Kraus nachgewiesenen Aufhebung einer bestehenden Anaphylaxie durch Peptongaben und der Peptonimmunität nach dem Ueberstehen des anaphylaktischen Shocks im Meerschweinchenversuch?

In dieser Hinsicht haben wir über die nachfolgenden Erfahrungen zu berichten:

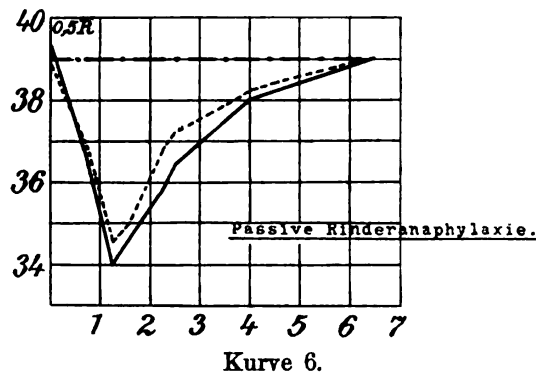
1. Die passive Anaphylaxie.

Die von Nicolle zuerst nachgewiesene Möglichkeit, durch das Serum des anaphylaktischen Tieres unvorbehandelte gegen die Einverleibung des zur Vorbehandlung des ersten Individuums verwendeten Eiweißkörpers überempfindlich zu machen, wurde namentlich auch durch die Versuche von Gay und Southard, Otto, Friedemann u. a. m., in jüngster Zeit durch die eingehenden Studien von R. Doerr und Raubitscheck und R. Doerr und K. Russ studiert. Eine solche nachzuweisen gelingt auch mit Hilfe des anaphylaktischen Temperatursturzes, wie aus der nebenstehenden Tabelle VII und Kurve 6 hervorgeht:

Tabelle VII.

Vorbehandlung des aktiv anaphylakt. Tieres	Entblutet nach Tagen	Anaphylaxieserum intraperitoneal in unvorbehandelte Tiere	Intervall in Stunden	Eiweiß der Reinjektion	Temperaturabnahme
0,5 ccm Schweineserum	18	8 ccm	24	0,1 ccm Schweineserum intravenös	42(+)
0,5 „ dgl.	18	8 „	24	0,1 „ dgl.	30
0,5 „ Rinderserum	18	4 ccm	24	0,1 „ dgl.	0
0,5 „ dgl.	18	4 „	24	0,5 „ Rinderserum intraperitoneal	54
—	—	—	—	0,5 „ dgl.	44
—	—	—	—	0,5 „ dgl.	0

Die Versuche wurden in der Weise vorgenommen, daß Meerschweinchen teils mit Rinder-, teils mit Menschenserum in der Menge von je 0,5 ccm intraperitoneal vorbehandelt, die



Tiere nach Entwicklung der aktiven Anaphylaxie am 18. Tage getötet und nun ihr Serum teils in der Menge von 8, teils von 4 ccm auf unvorbehandelte Meerschweinchen übertragen wurde. Die Reinjektion dieser er-

folgte nun unter den sub 3 dieses Abschnittes wiederzugebenden Kautelen intravenös mit 0,1 ccm des entsprechenden Serums in 0,4 ccm Kochsalzlösung, oder aber intraperitoneal mit 0,5 ccm Rinderserum. Nach mehreren negativen Ergebnissen konnten die in der Tabelle und Kurve wiedergegebenen positiven Resultate gewonnen werden. Die Tiere, welche in den Kurven den intensiven Temperatursturz erkennen lassen, entsprechen den Tieren 4 und 5 der Tabelle, jenes unvorbehandelte Kontrolltier, dessen Temperatur unverändert blieb, entspricht No. 6.

Diese Versuche lehren ganz eindeutig, daß auch dann, wenn eine passive Uebertragung der Anaphylaxie und somit die Auslösung eines Shocks gelingt, ein intensiver Temperatursturz eintritt, welcher bei unvorbehandelten Kontrolltieren ausbleibt.

2. Die Antianaphylaxie.

Weiterhin erschien es uns wichtig, festzustellen, wie dann die Temperaturverhältnisse bei einer neuerlichen Reinjektion der zur Sensibilisierung verwendeten Eiweißart bei Tieren sich gestalten, die kurz vorher einen anaphylaktischen Shock überstanden hatten. Hatten doch zuerst Otto, Rosenau und Anderson, Besredka und nach ihnen zahlreiche Autoren festzustellen vermocht, daß derartige Tiere gegen eine kurz auf den anaphylaktischen Shock erfolgende Wiedereinbringung jener Eiweißart, gegen welche Anaphylaxie bestand, unempfindlich sind. Otto konnte feststellen, daß dieser sogenannte Zustand der Antianaphylaxie spontan und allmählich wieder in jenen der Ueberempfindlichkeit sich verwandelt, und zwar nach Maßgabe der allmählichen Ausscheidung des Eiweißkörpers, welcher den Shock ausgelöst hat.

Bestand nun die Annahme einer Zugehörigkeit des Temperaturabsturzes bei vorbehandelten Tieren zum Symptomenkomplex des anaphylaktischen Shocks zu Recht, was schon in Anbetracht der früher erwähnten Umstände bewiesen war, so mußte es sich experimentell erhärten lassen, daß 1) durch eine neuerliche Einverleibung jenes Eiweißkörpers, gegen welchen Ueberempfindlichkeit bestand und durch den kurze Zeit vorher ein Shock ausgelöst worden war, nunmehr eine

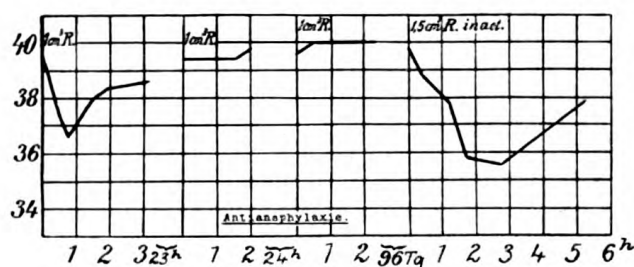
Temperaturabnahme nicht mehr erzielt werden kann, und daß 2) nach dem Wiederauftreten der Anaphylaxie dieselben Tiere dann in gleicher Weise reagierten wie früher.

Aus den sehr zahlreichen einschlägigen und immer wieder in derselben Weise verlaufenen Versuchen genügt es, die folgenden anzuführen, um von den hier vorgefundenen Verhältnissen ein klares Bild zu geben.

Tabelle VIII.

Tag der Vorbehandlung	Art der Vorbehandlung ccm	Inter- vall	Art der Reinjektion ccm	Temperatur- abnahme	Inter- vall	Neuerliche In- jektion mit ccm	Temperatur- abnahme
20. II.	0,2 Rinderserum	14 Tage	1,0 Rinderserum	28	1 Tag	1,0 Rinderserum	0
20. II.	0,2 „	14 „	1,0 „	36	2 Tage	1,0 „	0
9. II.	0,5 Schweineser.	14 „	5,0 Schweineser.	42	1 Tag	5,0 Schweineser.	6
1. XII.	5 „	23 „	5,0 Rinderserum	4	2 Tage	5,0 „	4
20. II.	0,01 Pferdeserum	14 „	2,0 Pferdeserum	36	—	—	—
20. II.	0,01 „	14 „	2,0 Schweineser.	—	1 Tag	2,0 Pferdeserum	0
20. II.	0,01 „	14 „	2,0 „	—	2 Tage	2,0 „	0
20. II.	0,01 „	14 „	2,0 „	—	4 „	2,0 „	0
20. II.	0,01 „	14 „	2,0 „	—	5 „	2,0 „	0
20. II.	0,01 „	14 „	2,0 „	—	12 „	2,0 „	0

Die Versuchstiere 1 und 2 der Tabelle VIII, welche mit Rinderserum vorbehandelt worden waren und auf die Reinjektion dieses inaktivierten Materiales in der Menge von 1,0 ccm nach 14 Tagen mit Temperaturabnahmen von 2,8 bzw. 3,6° C reagiert hatten, zeigten, als sie 1 und 2 Tage später



Kurve 7.

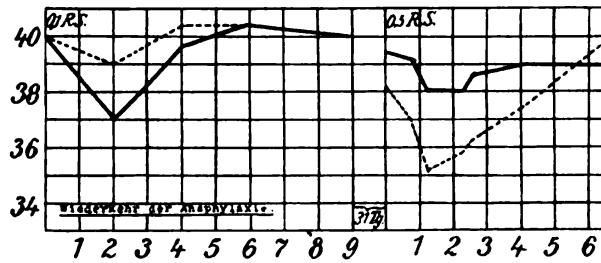
neuerlich in derselben Weise behandelt wurden, gar keine Temperaturabnahmen. Das Versuchstier 3 derselben Tabelle bot dieselben Verhältnisse dem Schweineserum gegenüber dar.

Das Versuchstier der Kurve 7, welches gleichfalls gegen Rinderserum anaphylaktisch war, wie die erste Temperaturmessung nach der Reinjektion erkennen läßt, reagierte weder gegen eine 24 noch gegen eine 48 Stunden später erfolgende ebenso große Serumdosis, läßt aber, als 96 Tage später neuerlich das Auftreten des anaphylaktischen Temperatursturzes durch eine entsprechende Injektion von Rinderserum geprüft wird, wiederum eine intensive Temperaturerniedrigung erkennen, und das unter Versuchsbedingungen, unter welchen

Tabelle IX.

Tag der Vorbehandlung	Art der intraperitonealen Vorbehandlung ccm	Intervall Tage	I. Reinjektion intraperitoneal ccm	Reaktion in Zehntelgraden	Intervall Tage	II. Reinjektion intraperitoneal ccm	Reaktion in Zehntelgraden
2. XII. 08	0,0002 Rinderserum	14	0,1 Rinderserum	30	31	0,5 Rinderserum	14
2. XII. 08	0,0002 "	14	0,1 "	38	31	0,5 "	18
2. XII. 08	0,0002 "	14	0,1 "	20	31	0,5 "	30
2. XII. 08	0,0002 "	14	0,5 "	58	31	0,5 "	38

unvorbehandelte Tiere keine Abnahme zeigen. Diese Wiederkehr der Anaphylaxie und mit ihr die Wiederkehr des anaphylaktischen Temperatursturzes ergibt sich in gleicher Weise aus den Kurven 8, die von zwei Tieren nach einem Intervall von 31 Tagen gewonnen wurden, und aus Tabelle IX, nach Zeiträumen von 20—58 Tagen.



Kurve 8.

Was die Schnelligkeit des Auftretens der Unempfindlichkeit nach Ueberstehen eines anaphylaktischen Shocks anlangt, so konnte dies z. B. Besredka, am allgemeinen Symptomenkomplexe gemessen, schon nach 1½ Stunden feststellen.

Unsere durch Beobachtung der Temperaturverhältnisse gewonnenen Resultate zeigten, wie dies unter anderem auch aus Kurve 1 hervorgeht, daß sehr rasch (schon 1 Stunde nach vollkommener Erholung vom Shock) eine beträchtliche Verminderung, wenn auch noch keine gänzliche Aufhebung, der spezifischen Reaktionsfähigkeit zu erkennen ist, daß diese aber ausnahmslos 24 Stunden später vollständig geworden ist¹⁾.

Wie aus Tabelle VIII weiterhin zur Evidenz hervorgeht, tritt aber auch die Aufhebung des anaphylaktischen Zustandes häufig dann ein, wenn nach Entwicklung einer Ueberempfindlichkeit nicht das zur Vorbehandlung verwendete Eiweiß, sondern irgendein anderer Eiweißkörper in großen Dosen verwendet wurde.

Dies lehren die Versuchstiere 4—10 dieser Zusammenstellung.

Die Tiere waren teils gegen Schweine-, teils gegen Pferdeserum sensibilisiert. Nach Entwicklung der Anaphylaxie bekamen sie teils Rinder-, teils Schweineserum in kompakten Dosen, also Eiweißkörper, gegen welche sie nicht überempfindlich waren und auf die sie auch nicht mit anaphylaktischen Erscheinungen reagierten. Als nun zu verschiedenen Zeitpunkten (1—12 Tage) den Tieren das Eiweiß der ersten Vorbehandlung in Versuchsmengen eingebracht wurde, auf das die sensiblen Kontrolltiere intensiv reagierten, blieb diese Injektion sowohl hinsichtlich der Temperaturverhältnisse, als auch hinsichtlich anderer anaphylaktischer Erscheinungen völlig wirkungslos. Diese Versuche lehrten übrigens auch, daß dieser durch andersartiges Serum als das zur Vorbehandlung verwendete hervorgerufene Zustand der Unempfindlichkeit lange Zeit, sicherlich länger als 12 Tage, anhält.

Diese Erfahrungen, zusammengefaßt, beweisen, daß im Zustande der Antianaphylaxie, und zwar gleichzeitig mit der Unmöglichkeit andere anaphylaktische Symptome auszulösen, auch die spezifische Temperaturabnahme verschwunden ist, um dann

1) Anmerkung bei der Korrektur: Es muß betont werden, daß die Aufhebung der Anaphylaxie nach der ersten Reinjektion manchmal keine ganz komplette ist, sondern erst durch die zweite oder dritte Injektion erreicht wird. (Allmähliche Absättigung des „anaphylaktischen Reaktionskörpers“.)

wiederzukehren, wenn dieser Zustand allmählich und spontan wieder in jenen der Ueberempfindlichkeit sich verwandelt hat. Dies ist eine Tatsache, welche wohl besser wie jede andere die wesentliche Zusammengehörigkeit von Temperatursturz und anaphylaktischem Symptomenkomplex ebenso sicher beweist, wie sie dieses Phänomen von jener unspezifischen Hämolysewirkung zu unterscheiden gestattet¹⁾.

Als weiteres wesentliches Ergebnis dieser Versuche hat sich aber auch herausgestellt, daß nicht nur durch das Ueberstehen eines anaphylaktischen Shocks, sondern schon allein durch die unschädliche Einverleibung eines anderen Eiweißkörpers als des zur Sensibilisierung verwendeten in großer Menge die Aufhebung einer vollentwickelten Ueberempfindlichkeit auf lange Zeit hinaus möglich ist. Diese Beobachtung gibt uns ein Mittel an die Hand, auf unschädlichem Wege eine Anaphylaxie aufzuheben und schafft zugleich Differenzen gegenüber der im IV. Teile dieses Abschnittes näher studierten Wirkung von Pepton auf den Ablauf einer Ueberempfindlichkeit.

Endlich möchten wir hier noch darauf hinweisen, daß eine derartige Interferenz eines andersartigen Eiweißkörpers bei einer vollentwickelten Anaphylaxie mehrere unserer Versuchstiere auf Monate hinaus der Fähigkeit beraubte, gegen eine Reinjektion des zur ersten Injektion verwendeten Eiweißkörpers zu reagieren. Bei anderen Versuchstieren aber kehrte diese Empfindlichkeit doch bald wieder zurück.

3. Die intravenöse Reinjektion.

Ein Beweis dafür, daß der intraperitoneal ausgelöste anaphylaktische Temperatursturz nicht der Effekt eines lokal in der Bauchhöhle sich abspielenden Vorganges, sondern eines allgemeinen Symptomes ist, konnte durch die intravenöse Reinjektion erbracht werden, unter Versuchsbedingungen also, welche nur eine indirekte Beeinflussung der Temperatur als möglich erscheinen lassen.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Während der Drucklegung konnten insofern Beziehungen zu den Hämolysewirkungen aufgefunden werden, als antianaphylaktische Tiere gegen die temperaturherabsetzende Wirkung aktiver Seren viel unempfindlicher sind als normale. Diese Befunde werden weiter verfolgt.

Bei diesen Versuchen machten sich zuerst zwei Fehlerquellen geltend, von denen die eine in der weitaus größeren Wirkungsintensität so einverleibter Eiweißgaben, die andere in unspezifischen Temperaturabnahmen dann liegt, wenn man am gefesselten Tier von der Jugularvene aus arbeitet.

So hatte unser erster Versuch folgendes Resultat:

Versuch. Zwei Meerschweinchen wurden durch 0,01 ccm Pferdeserum sensibilisiert und ihnen 18 Tage später, dem einen 0,5, dem anderen 0,25 ccm desselben Materiales von der Jugularvene aus injiziert. Die Tiere gingen nach 5—10 Minuten unter schwersten anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde und zeigten dabei nur Temperaturabnahmen von 0,8 und 1,5° C.

Aehnliche Verhältnisse hatten wir manchmal, wenn auch selten, bei intraperitonealer Einverleibung dann angetroffen, wenn wir mit sehr großen Dosen arbeiteten, so daß die Tiere innerhalb weniger Minuten zugrunde gingen. Der anaphylaktische Temperatursturz kam, was ja aus einfachen Ueberlegungen verständlich erscheint, nur dann voll zur Entwicklung, wenn entweder die Tiere gar nicht starben, oder der Tod erst nach 1—2 Stunden eintrat. Es war naheliegend, zu vermuten, daß infolge des allzu raschen tödlichen Ausganges der Körper unter den gestörten Zirkulationsverhältnissen einfach nicht Zeit hatte abzukühlen und daß dieses Phänomen bei intravenöser Injektion erst unter Versuchsbedingungen in gewohnter Weise sich darbot, wenn eine so unerwünscht intensive Schädigung vermieden wurde. Es zeigte sich nun auch tatsächlich, als wir mit verdünntem Serum bei der Reinjektion arbeiteten (vergl. Tabelle X), daß unter diesen Versuchsbedingungen ebenso wie bei intraperitonealer Einverleibung der anaphylaktische Temperatursturz auszulösen ist.

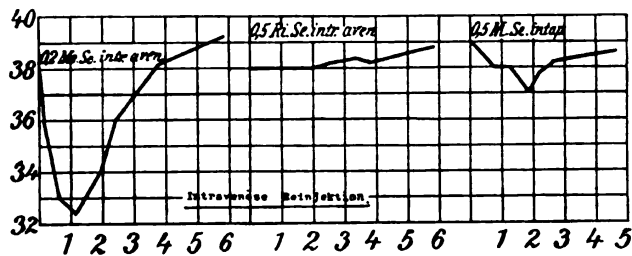
Die zweite Fehlerquelle, welche wir oben erwähnt haben, betrifft unspezifische Temperaturabnahmen, welche bei jugularer Injektion durch die damit verbundene kleine Operation und die Fesselung des Tieres bedingt wird. Wir machten nämlich die Beobachtung, daß durch eine längere Fesselung des Tieres auf dem Spannbrette offenbar durch den damit verbundenen Shock allein schon Temperaturerniedrigungen recht ausgiebiger Art selbst dann verzeichnet werden mußten, wenn Injektionen überhaupt nicht vorgenommen worden waren. Um die dadurch bedingten Fehlerquellen zu vermeiden, genügt es, entweder

rasch zu operieren oder aber, was vorteilhaft ist, am un- gefesselten Tiere die Schenkelvene aufzusuchen und von ihr aus das Serum einzuverleiben. Auf diese Weise konnten wir außer den bei der passiven Anaphylaxie mitgeteilten zu den Resultaten der Tabelle X und der Kurve 9 kommen.

Tabelle X.

Tag der Vorbe- handlung	Eiweiß der Vorbehandlung intraperitoneal ccm	Intervall	Eiweiß der Reinjektion ccm	Art der Reinjektion	Tem- peraturab- nahme
16. II. 09	0,002 Menschens.	31	0,2 Menschenserum + 0,8 NaCl 0,86%	intravenös	38 (+)
16. II. 09	0,002 „	31	0,2 Menschenserum + 0,8 NaCl 0,86%	„	58
16. II. 09	0,002 „	31	0,5 Rinderserum + 0,5 NaCl 0,86%	„	0
16. II. 09	0,002 „	31	0,5 Menschenserum	intraperiton.	20
16. II. 09	0,002 „	31	0,5 „	„	10
16. II. 09	0,5 Schweines.	18	0,3 Schweineserum + 0,7 NaCl 0,86%	intravenös	32 (+)
16. II. 09	0,5 „	18	0,3 Schweineserum + 0,7 NaCl 0,86%	„	22 (+)
16. II. 09	0,5 „	18	0,05 Schweineserum + 0,95 NaCl 0,86%	„	40
16. II. 09	0,5 „	18	0,5 Schweineserum	intraperiton.	30

Die drei in diesen Kurven untersuchten Tiere waren in gleicher Weise gegen Serumeiweiß vom Menschen sensibilisiert worden. Zwei von ihnen erhielten nach Entwicklung der Ueberempfindlichkeit 0,2 ccm Menschen-, bzw. 0,2 ccm Rinder-



Kurve 9.

serum inaktiv auf 0,8 ccm einer 0,86-proz. Kochsalzlösung intravenös. Während das mit Menschenserum reinjizierte Tier eine ganz enorme Temperaturabnahme erkennen läßt, blieb der Wärmehaushalt des mit Rinderserum nachbehandelten

Tieres unverändert. Das dritte dieser Tiere wurde mit 0,5 ccm gleichfalls verdünnten inaktiven Menschenserums intraperitoneal nachbehandelt. Dieses Tier reagierte gleichfalls mit einer ausgiebigen Temperaturerniedrigung, doch war die durch eine mehr als doppelt so große und konzentrierte Serumdosis hervorgerufene Reaktion bedeutend geringer als bei intravenöser Anwendung. Diese, übrigens auch durch Beobachtung des Anaphylaxietodes schon von anderen Autoren festgestellte Differenz in der Wirkungsintensität beider Applikationsarten erhellt außerdem auch noch zur Genüge aus den in Tabelle X mitgeteilten Versuchen. Sie beweisen auch die früher angeführte Tatsache, daß selbst bei tödlichem Ausgange dann immer eine intensive und diagnostisch verwertbare Abnahme der Körpertemperatur im anaphylaktischen Shock eintritt, wenn dafür gesorgt ist, daß der Exitus nicht allzu rasch erfolgt.

Diese Tatsache, die übrigens kürzlich durch unabhängig gewonnene Erfahrungen Brauns bestätigt wurde, macht es auch begreiflich, warum bei seinen beiden einschlägigen Versuchen E. Ranzì zu negativen Resultaten kam. Seine gegen Pferdeserum sensibilisierten Tiere erhielten nach 14 Tagen je 1,0 ccm Pferdeserum intravenös, verendeten, wie der Autor angibt, „einige Minuten“ nach der Injektion und wiesen Temperaturabnahmen von 0,5°, bzw. von 1,3° C auf. Es sind dies Erfahrungen, welche sich vollkommen mit den eingangs hier mitgeteilten decken. Wie unsere mit verdünnten Seren erhaltenen Ergebnisse jedoch lehrten, wäre es völlig gefehlt, daraus Rückschlüsse im Sinne dieses Autors zu ziehen. Der Tod trat eben in seinen Versuchen infolge der enormen Dosen wirksamen Eiweißes so plötzlich ein, daß eine Temperaturerniedrigung sich nicht entwickeln konnte. Es muß demgegenüber mit Nachdruck betont werden, daß bei einer entsprechend gewählten, oben genau beschriebenen Versuchsanordnung auch bei intravenöser Einverleibung des betreffenden Eiweißkörpers der anaphylaktische Temperatursturz regelmäßig hervorgerufen werden kann. Damit ist für dieses Phänomen auch mit Sicherheit dargetan, daß es sich dabei nicht um einen lokal in der Bauchhöhle sich abspielenden Vorgang, sondern um den Ausdruck einer den Gesamtorganismus betreffenden Zirkulationsstörung handelt.

4. Die Beziehung zwischen der Anaphylaxie und Peptonwirkung.

In No. 11 der Wiener klinischen Wochenschrift des Jahres 1909 haben in einer vorläufigen Mitteilung A. Biedl und R. Kraus in Versuchen an Hunden den Nachweis erbracht, daß im Zentrum des ganzen, als „anaphylaktischer Shock“ anzusprechenden Vergiftungsbildes das Phänomen einer Blutdrucksenkung, die Leukopenie und die Aufhebung der Gerinnbarkeit des Blutes steht. Die sonstigen Erscheinungen bei Hunden, der Aufregungszustand mit der nachfolgenden Depression, das Erbrechen und die Stuhlentleerung, sowie die Anurie sind nur sekundäre Folgen der im niedrigen Druck sich manifestierenden Kreislaufsänderung. Sie konnten weiter zeigen, daß die Wirkung einer intravenösen Peptoninjektion bei Hunden in allen wesentlichen Punkten übereinstimmt mit dem Bilde des anaphylaktischen Shocks, daß sensibilisierte Tiere durch Einverleibung von Pepton eine Aufhebung ihrer gegen die entsprechende Serumart gerichteten Anaphylaxie erfuhren, und endlich, daß das Ueberstehen eines anaphylaktischen Shocks die Tiere gegen eine darauffolgende Peptonwirkung immun machte. Sie kommen auf Grund dieser Tatsachen zu dem Schlusse, daß die anaphylaktische Intoxikation durch ein Gift hervorgerufen wird, welches physiologisch als identisch zu betrachten ist mit dem des Wittepepton.

Es schien uns schon aus prinzipiellen Gründen wichtig, diese von den genannten Autoren für den Hund erhobenen Befunde mit Hilfe des anaphylaktischen Temperatursturzes zu untersuchen.

Wenn auch nach den Versuchen von Gley und Pesaro unser Versuchstier, das Meerschweinchen, infolge seiner natürlichen und hohen Resistenz gegen die Peptonwirkung für solche Versuche weniger geeignet schien und auch die übliche Technik der intraperitonealen Einverleibung, die ja nach den Versuchen von Schmidt-Mühlheim, Contejean u. a. m. viel weniger wirksam ist, als die intravaskuläre, diesen Versuchsweg erschweren mußte, so blieben wir doch, um unter denselben Versuchsbedingungen arbeiten zu können, bei der bisher von uns benützten Tierspecies und bei der Prüfung

des toxischen Effektes nach Einverleibung des Peptons in die Bauchhöhle.

Sollte sich die von Biedl und Kraus auf dem Wege anderer Versuchstechniken gewonnenen Erfahrungen mit Hilfe der Temperaturmessung auf das Meerschweinchen übertragen lassen, so mußte experimentell gezeigt werden können, daß:

1) neben den von anderer Seite bereits studierten Peptonwirkungen nach intraperitonealer Einverleibung wie im anaphylaktischen Shock ein Temperaturabfall, bei subkutaner Applikation entsprechend dem Arthusschen Phänomen Nekrosenbildungen auftreten; und daß

2) unter der Voraussetzung, daß die sub 1 genannten Bedingungen sich erfüllen, der anaphylaktische Temperatursturz bei sensibilisierten und dann mit Pepton vorbehandelten Tieren ausbleibt, andererseits aber auf dem Wege der Temperaturmessung auch die nach dem anaphylaktischen Shock eintretende Peptonimmunität sich erweisen lassen muß.

Es war zunächst wichtig, die Wirkung von Peptonlösungen auf das unvorbehandelte Meerschweinchen zu studieren.

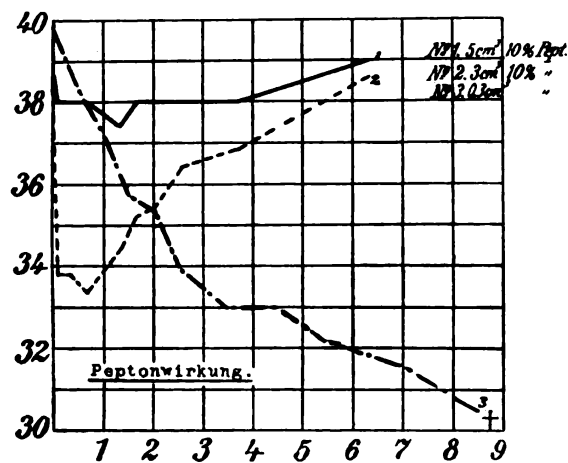
Versuch: Die in Kurve 10 abgebildeten Versuchsergebnisse wurden an drei 300–350 g schweren unvorbehandelten Meerschweinchen erhalten, von denen No. 1: 5 ccm einer 10-proz. (= 0,5 g), No. 2: 3 ccm einer 10-proz. (= 0,3 g), und No. 3: 0,3 ccm einer 10-proz. (= 0,03 g) Lösung Wittepepton in 0,86-proz. Kochsalzlösung erhalten hatte. Während Tier 1 eine nur unwesentliche Temperaturabnahme aufwies, stürzte bei Tier 2 und 3 die Körpertemperatur rasch nach der Injektion um 4,5 bzw. um 9,3° C ab; das letzte Tier starb 9 Stunden nach der Einverleibung.

Bei drei unvorbehandelten Versuchstieren, welche subkutan 3 ccm einer 10- bzw. 5-proz. sterilisierten Lösung von Wittepepton erhalten hatten, konnte man bald nach der Injektion das Auftreten eines teigigen Oedems bei auffallender Blässe der Haut erkennen, welches bald zunderartig morsch und leicht zerreiblich wurde, nach 48 Stunden zu einem braunroten Schorfe vertrocknet war und sich im weiteren Verlaufe unter Entwicklung eines, wie mit dem Locheisen ausgestanzten Geschwüres abstieß. Spätere Ausheilung unter Bildung einer strahligen Narbe.

Schon durch diese ersten Versuche war die früher geforderte Bedingung, temperaturherabsetzende und nekrotisierende Wirkung für Wittepepton, erfüllt. Gleichzeitig hatten wir aber auch Gelegenheit gehabt, ein Phänomen auf diesem Wege zu beobachten, auf welches seinerzeit bei Hunden

Thompson hingewiesen hat: die Resistenz mancher Individuen gegen Peptongaben.

Um zu sehen, ob dieses Verhalten ein häufiges sei und für unsere Versuche bei intraperitonealer Verabreichung von 0,3 g Pepton dieses als störender Faktor in Betracht käme, injizierten wir 11 annähernd gleich schweren unvorbehandelten Meerschweinchen (300—350 g) je 0,3 g Pepton Witte und erhielten dabei die nachfolgend wiedergegebenen Temperaturabnahmen in Celsiusgraden: 4,6, 2,2, 2,6, 4,0, 3,2, 3,4, 2,6, 3,9, 3,4, 9,4 und 3,0, was einem Mittelwerte von $3,8^{\circ}$ C pro



Kurve 10.

Tier entspricht. Es zeigte sich, daß keines der Tiere, wenn auch gewisse individuelle Schwankungen unverkennbar waren, sich gegen die verwendete Dosis refraktär verhielt. In den so gewonnenen Temperaturkurven konnten wir aber, wie auch aus der Kurve 10, No. 2, hervorgeht, die Tatsache feststellen, daß im allgemeinen eine durch Pepton erzeugte Temperaturabnahme in annähernd derselben Weise verläuft, wie wir sie vom anaphylaktischen Temperatursturz her zu sehen gewöhnt waren.

An der Aufhebung der Blutgerinnung hatten zuerst Schmidt-Mühlheim gezeigt, daß es nach einer einmaligen Peptongabe innerhalb der nächsten 24 Stunden nicht mehr gelingt, das Blut wieder gerinnungsfähig zu machen. Es

29*

interessierte uns, festzustellen, ob sich dieses auf dem genannten Wege festgestellte Symptom der Peptonimmunität am Meerschweinchen mit Hilfe der Temperaturmessung bestätigen läßt. Zu diesem Zwecke führten wir die in Tabelle XI kurz wiedergegebenen Versuche an 6 Meerschweinchen aus, welche erkennen ließen, daß bei kurz aufeinanderfolgenden intraperitonealen Injektionen von Pepton wenn auch keine vollständige Aufhebung, so doch eine ganz wesentliche Verringerung

Tabelle XI.

Tier	Temperaturabnahmen in Zehntelgraden nach intraperitonealer Injektion von je 0,3 Pepton Witte am					
	24. VI.	25. VI.	27. VI.	1) 29. VI.	2) 29. VI.	30. VI.
1	22	12	36	20	28	14
2	26	16	34	18	36	14
3	40	28	44	22	32	20
4	32	4	38	12	30	10
5	34	18	6	8	12	10
6	26	10	30	18	22	10
Summen	180	88	188	88	160	78
Mittelwerte	30	15	32	15	27	13

der Wirksamkeit (beiläufig um die Hälfte) eintritt, die allerdings nach 48 Stunden in 5 von 6 Fällen wieder einer vollen Empfindlichkeit der Tiere Platz machte. Es sei hier nur nebenbei erwähnt, daß uns einige Versuche, die von E. Pick und Yamanouchi nachgewiesene Erzeugung einer Anaphylaxie gegen Pepton nach einmaliger intraperitonealer Vorbehandlung von 3 Meerschweinchen mit je 0,1 g Pepton nicht gelangen. Aus diesen wenigen Versuchen Schlußfolgerungen zu ziehen, möchten wir vermeiden.

Daß tatsächlich auch bei Meerschweinchen, entsprechend den von Biedl und Kraus für den Hund gewonnenen Erfahrungen, eine Aufhebung einer voll entwickelten Anaphylaxie durch Peptongaben und der Nachweis dieser Aufhebung mit Hilfe des anaphylaktischen Temperatursturzes gelingt, konnten wir aus dem in Tabelle XII und Kurve 11 dabei festgestellten Verhalten der Körpertemperatur erkennen:

Tabelle XII.

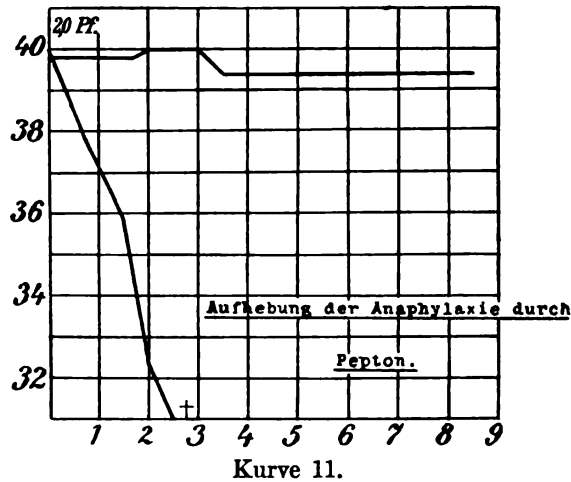
Intraperitoneale Vorbehandlung mit		Nach Tagen	Peptonlösung 10-proz. intraperitoneal	Nach Stund.	Nachbehandlung mit	Temperaturabnahme in Zehntelgrad.
Pferdeser.	0,02 ccm	14	3,0 ccm (=0,3 g)	24	Pferdeser. 2,0 ccm	40
"	0,02 "	14	3,0 " (=0,3 g)	48	" 2,0 "	40
"	0,02 "	14	0,5 " (=0,3 g)	48	" 2,0 "	36
"	0,02 "	14	0,5 " (=0,3 g)	48	" 2,0 "	32
"	0,02 "	14	3,0 " (=0,3 g)	96	" 2,0 "	0
"	0,02 "	14	3,0 " (=0,3 g)	96	" 2,0 "	0
"	0,02 "	14	3,0 " (=0,3 g)	288	" 2,0 "	0
"	0,02 "	14	3,0 " (=0,3 g)	288	" 2,0 "	0
"	0,02 "	14	0	96	" 2,0 "	72 (†)
"	0,02 "	14	0	96	" 2,0 "	90 (†)
"	0,02 "	17	0,5 ccm (=0,05 g)	96	" 2,0 "	10
"	0,02 "	17	0,5 " (=0,05 g)	96	" 2,0 "	12
"	0,02 "	17	0,5 " (=0,05 g)	168	" 2,0 "	4
"	0,02 "	17	0,5 " (=0,05 g)	168	" 2,0 "	20
"	0,02 "	17	0	168	" 2,0 "	† in 5'
Hundeser.	0,001 "	19	0,5 ccm (=0,05 g)	96	Hundeser. 1,5 "	22
"	0,001 "	19	0,5 " (=0,05 g)	96	" 1,5 "	26
"	0,001 "	19	0	96	" 1,5 "	114 (†)
Katzenser.	0,001 "	19	0,5 ccm (=0,05 g)	96	Katzenser. 1,5 "	0
"	0,001 "	19	0,5 " (=0,05 g)	96	" 1,5 "	42
"	0,001 "	19	0	96	" 1,5 "	50 (†)

Versuch: 15 Meerschweinchen wurden gegen Pferdeserum sensibilisiert und nach Entwicklung der Ueberempfindlichkeit (am 14. bzw. am 17. Tage) mit verschiedenen, aus den Tabellen ersichtlichen Mengen von Pepton behandelt. Nach 1, 2, 4, 8 und 12 Tagen erhielten die Tiere Dosen von Pferdeeiweiß, welche die Temperatur von unvorbehandelten Tieren nicht, wohl aber jene der sensiblen, jedoch mit Pepton nicht injizierten Tiere, in ganz intensiver Weise zu schädigen vermochte ($-7,2, 9,0^{\circ} \text{C}$).

Wie aus diesen Versuchen ersichtlich ist, ist 24, ja selbst 48 Stunden nach der Peptongabe noch immer ein recht beträchtlicher Temperatursturz zu erkennen. Die Anaphylaxie war mit Sicherheit erst 4 Tage nach der Einverleibung des Peptons vollständig aufgehoben und blieb es auch innerhalb der Versuchszeiten, d. h. bis zum 12. Tage. Zeitlich von der Peptongabe weiter abliegende Versuche haben wir in dieser Hinsicht nicht unternommen.

Eine kurvenmäßige Darstellung eines dieser Versuche der Aufhebung einer Pferdeserum-Anaphylaxie durch eine 4 Tage

vor dem Versuche injizierte Peptonmenge von 0,3 g ist aus Kurve 11 ersichtlich. Beide Tiere waren mit 0,01 ccm Pferdeserum sensibilisiert worden. Das Tier, welches auf die Einverleibung des Pferdeserums nicht reagierte, hatte 4 Tage vorher 0,3 ccm Pepton bekommen, das Tier, dessen Kurve



abfällt, nicht. Beide waren zur selben Zeit mit 2,0 ccm Pferdeserum reinjiziert worden.

Was die Peptonmenge anbetrifft, welche unter sonst gleichen Versuchsbedingungen eine Ueberempfindlichkeit aufzuheben vermag, so konnte festgestellt werden (vgl. die Hunde- und Katzenserumversuche der einschlägigen Tabelle), daß 4 Tage nach der Peptoninjektion 0,05 g pro 350 g Meerschweinchen wohl manchmal zu schützen vermögen, daß aber dieser Schutz keineswegs ein sicherer und vollständiger genannt werden darf. In allen Versuchen mit diesen kleinen Peptonmengen konnte aber eine deutliche Herabsetzung der Ueberempfindlichkeit beobachtet werden.

Wie zu erwarten stand, konnte unter ausschließlicher Beobachtung der Temperaturverhältnisse andererseits auch die von A. Biedl und R. Kraus für den Hund festgestellte Unwirksamkeit von Peptongaben nach überstandenen anaphylaktischen Shock festgestellt werden.

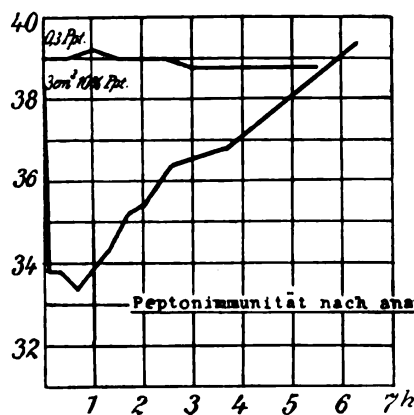
Es geht dies aus unserer Tabelle XIII und der Kurve 12 hervor.

Tabelle XIII.

Tag der 1. Injektion	Art der intraperitonealen Vorbehandlung	Intervall	Art der intraperitonealen Reinjektion	Anaphylakt. Temperatursturz in $\frac{1}{10}^{\circ}$	Intervall	Intraperiton. Peptongabe	Reaktion in Zehntelgraden
16. IV.	0,02 ccm Menschenserum	2 Mon.	2,0 ccm Menschenserum	34	3 Tage	0,3 g	4
16. IV.	dgl.	2 "	dgl.	40	3 "	0,3 "	4
4. V.	Rinderserum	1 "	1,5 ccm Rinderserum	48	3 "	0,3 "	0
4. V.	"	1 "	dgl.	38	3 "	0,3 "	0
—	—	—	—	—	—	0,3 "	38
16. VI.	0,0001 ccm gekochtes Schweineblut	24 Tage	2,0 ccm Schweineserum	20	4 Tage	0,3 "	0
16. VI.	dgl.	24 "	dgl.	46	4 "	0,3 "	16
16. VI.	dgl.	24 "	dgl.	6	4 "	0,3 "	30
16. VI.	dgl.	24 "	dgl.	2	4 "	0,3 "	36
15. VI.	0,25 ccm gekochte Kuhmilch	16 "	2,0 ccm Kuhmilch	36	1 Tag	0,3 "	16
—	—	—	—	38	1 "	0,3 "	0
—	—	—	—	30	1 "	0,3 "	34

Die in den Kurven wiedergegebenen Resultate wurden auf folgende Weise gewonnen:

Jenes Meerschweinchen, welches, wie ersichtlich ist, auf 0,3 ccm Pepton mit einer Temperaturabnahme nicht zu reagieren vermochte, war Monate



Kurve 12.

vorher gegen Rinderserum sensibilisiert worden und hatte 3 Tage vor der Peptoninjektion nach Einspritzung von 1,5 ccm inaktiven Rinderserums einen intensiven anaphylaktischen Shock bei einer Temperaturabnahme von 4,8° C durchgemacht. Es zeigte sich gegen dieselbe Peptonosis refraktär, welche ein unvorbehandeltes Kontrolltier intensiv zu schädigen vermochte.

Gleichsinnig fielen die in der Tabelle XIII zusammengestellten Versuche aus. Sie wurden bei Tieren durchgeführt, welche gegen Menschen- und Rinderserum, gegen Schweineblut und Kuhmilch überempfindlich waren und durch Reinjektionen auch einen anaphylaktischen Shock durchgemacht hatten. In den beiden ersten Versuchsgruppen (5 Tiere) konnte ein, an der Temperaturkurve ersichtliches, vollständiges Versagen von Peptonmengen festgestellt werden, welche bei unvorbehandelten Tieren eine intensive Herabsetzung der Körpertemperatur regelmäßig erzeugten. In gewisser Hinsicht interessant sind die Ergebnisse der 4. Versuchsgruppen (Kuhmilch), welche zeigen, daß eine sichere Unempfindlichkeit gegenüber Pepton 1 Tag nach Ueberstehen der anaphylaktischen Schädigung noch nicht sicher vorhanden ist, während dies am 3. Tage ausnahmslos dann der Fall war, wenn ein kräftiger anaphylaktischer Shock überstanden war. Daß die Intensität dieser Erkrankung gerade proportioniert ist zu der sich im Anschlusse daran entwickelnden Peptonimmunität, erhellt die 3. Versuchsgruppe.

Diese Tiere waren mit so kleinen Mengen gekochten Schweineblutes sensibilisiert worden, daß bei ihnen durch eine 24 Tage später erfolgende Reinjektion inaktiven Schweineserums nur in 2 Fällen ein ausgiebiger anaphylaktischer Temperatursturz erzeugt werden konnte. Bei diesen war 4 Tage nachher eine vollständige Aufhebung bzw. eine sehr deutlich ausgesprochene Herabsetzung der Peptonwirkung nachgewiesen worden, während die beiden anderen Tiere, die nur schwach oder gar nicht anaphylaktisch reagiert hatten, ebenso intensive Temperaturabfälle auf dieselben Pepton Dosen darboten, wie wenn sie unvorbehandelt gewesen wären.

Es haben sich also bisher lediglich unter Beobachtung der Temperaturverhältnisse die Angaben von A. Biedl und

R. Kraus für das Meerschweinchen bestätigen lassen: die große Aehnlichkeit des Vergiftungsbildes der Serumüberempfindlichkeit, die Aufhebung dieser Empfindlichkeit durch Peptoninjektionen und das Auftreten einer Peptonimmunität nach Ueberstehen eines anaphylaktischen Shocks.

Wenn wir dennoch nicht so ohne weiteres der von diesen Autoren an ihre Beobachtungen geknüpften Schlußfolgerung, der anaphylaktische Shock sei nichts anderes, als eine Peptonvergiftung, zustimmen möchten, geschah dies unter anderem auch auf Grund der folgenden Erfahrungen und Ueberlegungen:

So konnten wir in gleich zu erwähnenden Versuchen feststellen, daß durch Peptoninjektionen zur Zeit einer vollentwickelten Serumanaphylaxie diese Ueberempfindlichkeit wohl aufgehoben wird (wie wir dies etwa auch nach Einverleibung von kompakten Serummengen eines andersartigen Eiweißkörpers beobachten konnten, als zur Vorbehandlung gedient hatte), daß aber dieser Zustand nicht schlechtweg, wie die beiden Autoren es tun, als „Antianaphylaxie“ bezeichnet werden darf.

Wie wir gezeigt haben, charakterisiert sich dieser Zustand dadurch, daß nach Ueberstehung eines anaphylaktischen Shocks sowohl die Wirksamkeit des Serums der Vorbehandlung, als auch jene einer 4 Tage später erfolgenden Peptoninjektion aufgehoben ist.

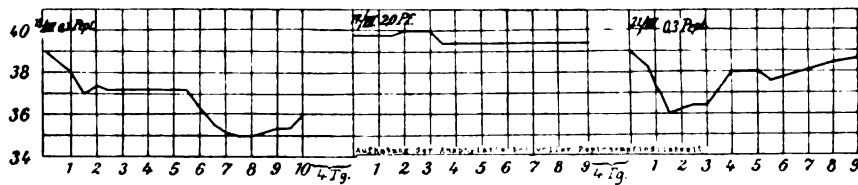
Es ist dies ein Befund, welcher sicherlich für die Identität beider Vergiftungsbilder herangezogen werden kann. Nun konnten wir aber die Beobachtung machen, daß die Aufhebung einer bestehenden Anaphylaxie durch Pepton, also eine Unempfindlichkeit gegen die Reinjektion der betreffenden Serumart sehr wohl, und zwar im Gegensatz zur Antianaphylaxie im engeren Sinne, ohne Peptonimmunität bestehen kann. Aus unseren Protokollen möchten wir die in Tabelle XIV und Kurve 13 ersichtlichen Versuche mitteilen.

Die Versuchstiere waren mit Pferdeserum sensibilisiert worden und hatten 23 Tage nachher, also nach voller Ent-

Tabelle XIV.

Tag der 1. Injektion	Art der 1. Injektion	Intervall	Intraperitoneale Peptonosis	Reaktion in Zehntelgraden C	Intervall	Art der 2. Injektion	Anaphylakt. Temperatursturz in Zehntelgraden	Intervall	Intraperitoneale Peptonosis	Reaktion in Zehntelgraden
20. VI.	0,02 ccm Pferdeser. intraperit.	23Tg.	0,3 g	40	4Tg.	2,0 ccm Pferdeser. intraperit.	0	4Tg.	0,3 g	30
20. VI.	dgl.	23 „	0,3 „	26	4 „	dgl.	0	4 „	0,3 „	34

wicklung der Ueberempfindlichkeit, je 0,3 g Pepton erhalten und auf dieses mit intensiven Temperaturabnahmen reagiert. Diese Erfahrung, welche wir in zahlreichen anderen, gleichgerichteten Versuchen bestätigen konnten, bewies zunächst, daß im Zustande einer Serumanaphylaxie weder Pepton-



Kurve 13.

immunität, noch Peptonanaphylaxie besteht. Eine 4 Tage darauf erfolgende Einverleibung einer wirksamen Dosis von Pferdeserum hatte, wie ersichtlich ist, gar keinen Effekt. Die Anaphylaxie war aufgehoben, nicht aber die Peptonempfindlichkeit. Denn 4 Tage nachher reagierten beide Tiere auf die Einverleibung von 0,3 ccm Pepton ebenso intensiv, wie normale Tiere. Daß sie auch 4 Tage nach der ersten Peptonosis in ungeschwächtem Maße auf die zweite Peptongabe reagiert hätten, geht aus den Versuchen mit wiederholten Peptoninjektionen (Tabelle XI) hervor. Würde es sich bei der durch die erste Peptoninjektion tatsächlich erzeugten Aufhebung der Anaphylaxie um „Antianaphylaxie“ in dem oben angedeuteten Sinne gehandelt haben, so hätte, wie unsere früher mitgeteilten Versuche gelehrt haben, auch eine voll-

ständige Aufhebung der Peptonempfindlichkeit vorhanden sein müssen. Daraus geht weiter hervor, daß zwar die eine durch den anaphylaktischen Shock bedingte „Antianaphylaxie“ mit Peptonimmunität von der durch Peptoninjektion erzeugten Ueberempfindlichkeit gegen die zweite Seruminjektion unterschieden werden muß. Denn antianaphylaktische Tiere verhalten sich gegen eine später folgende Peptongabe anders (d. h. refraktär) als solche, deren bestehende Ueberempfindlichkeit durch Pepton aufgehoben wurde. Sie reagieren auf eine 4 Tage später folgende Einverleibung dieses Körpers. Wir möchten daher zwischen einer durch den anaphylaktischen Shock geschaffenen, von Besredka sogenannten „Anti-anaphylaxie“ mit tatsächlich bestehender Peptonimmunität und einer durch Peptongaben und die Injektion anderer Körper (andersartiges Eiweiß als bei der 1. Injektion) erzeugbaren „Aufhebung der Anaphylaxie“ bei Fortbestehen der Peptonempfindlichkeit unterschieden wissen. Es muß zwar auf Grund unserer Versuche zugegeben werden, daß die Vergiftungsbilder bei Anaphylaxie und Peptonwirkung auch beim Meerschweinchen tatsächlich vollständig übereinstimmen, daß aber in ihren weiteren Konsequenzen doch Unterschiede sich ergeben, welche uns derzeit von einer strikten Folgerung im Sinne von A. Biedl und R. Kraus abhalten.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zusammenfassend, möchten wir sagen:

1) Auch nach Peptoninjektionen in die Bauchhöhle des Meerschweinchens können Temperaturabnahmen, von der Subcutis aus Nekrosen erzeugt werden.

2) Durch Peptongaben kann eine bestehende Anaphylaxie aufgehoben, durch das Ueberstehen eines anaphylaktischen Shocks Peptonimmunität erzeugt werden.

3) Nach Aufhebung einer Anaphylaxie durch entsprechend gewählte Peptongaben ist nach 4 Tagen, und das im Gegensatz zu der durch das Ueberstehen des anaphylaktischen Shocks erzielten Unempfindlichkeit, eine Aufhebung der Peptonwirkung nicht zu beobachten.

Die in den Versuchen des II. und III. Abschnittes der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Resultate haben in ihrer Gesamtheit den unzweifelhaften Beweis dafür erbracht, daß der anaphylaktische Temperatursturz nicht nur ein Begleitsymptom, sondern ein integrierender Bestandteil des Vergiftungsbildes bei Serumüberempfindlichkeit ist, und daß wir in ihm ein empfindlicheres und konstanteres Reagens auf das Vorliegen dieser Erkrankung bei Meerschweinchen besitzen, als die so oft im Stiche lassenden anderen Erscheinungen wie Krämpfe, Lähmungen, Dyspnöen und den Tod im anaphylaktischen Anfall. Wir haben weiterhin in der Temperaturabnahme ein Symptom vor uns, welches die Erscheinung des anaphylaktischen Shocks und damit die Größe einer bestehenden Anaphylaxie in exakter, objektiver Weise zu messen gestattet. Daß ein solcher bei Einhaltung gewisser oben geschilderter Kautelen besonders geeignet ist, in dieses Phänomen einzudringen und die Anaphylaxie für die Diagnostik der Art-spezifität von Eiweißkörpern nutzbar zu machen, ergibt sich schon aus den mitgeteilten Resultaten, wie aus jenen des folgenden Abschnittes.

Was aber nun die Ursache dieser spezifischen Temperaturerniedrigung im anaphylaktischen Shock anlangt, so stehen uns dafür bis heute mangels selbst gewonnener experimenteller Tatsachen nur Vermutungen zu Gebote, welche auf den Ergebnissen anderer Untersuchungen basieren.

Dabei können wir namentlich auf die von A. Biedl und R. Kraus später bei Hunden gemachten Beobachtungen uns stützen, welche im Mittelpunkte der Krankheitserscheinungen des anaphylaktischen Shocks eine konstante und insofern spezifische Blutdrucksenkung nachweisen konnten, wenn nur zur Reinjektion der zur Vorbehandlung verwendete Eiweißkörper benützt wurde. Erfahrungsgemäß ist nun jede Blutdrucksenkung von Temperaturabnahmen gefolgt und es liegt die Folgerung nahe, daß der anaphylaktische Temperatursturz bei Meerschweinchen nichts anderes sei, als eine leicht und exakt nachweisbare und meßbare Aeußerung dieses Symptomes. Diese Ansicht vertritt in jüngster Zeit auch H. Braun, der gleich uns die Spezifität des Temperatursturzes und die Tat-

sache erwies, daß dieser sehr häufig das einzig sichere Symptom sei ¹⁾).

IV. Die Diagnostik der Artzugehörigkeit von Eiweißkörpern mit Hilfe der Ueberempfindlichkeit.

Darauf hat der eine von uns schon wiederholt hingewiesen, speziell für die Verhältnisse des forensischen Blutnachweises versuchstechnische Angaben gemacht und zuletzt wieder auf dem Naturforschertage in Salzburg ausgeführt, unter welchen Voraussetzungen und innerhalb welcher Grenzen von dem Phänomen der Serumüberempfindlichkeit in dieser Hinsicht etwas zu erhoffen steht. Aehnliche, wenn auch auf anderen Versuchswegen gewonnene Erfahrungen haben Uhlenhuth und Weidanz, Oluf Thomsen und Sleeswijk mitgeteilt. Wir verweisen demnach auf diese Veröffentlichungen sowie auf H. Pfeiffers im Archiv für Kriminalanthropologie erscheinende Arbeit und wollen hier nur einige Beispiele dafür geben, wie die Anaphylaxie und ganz besonders der anaphylaktische Temperatursturz unter Versuchsbedingungen noch die Diagnose der Artzugehörigkeit von Eiweißkörpern und Blutspuren ermöglicht, unter denen die Präzipitine vollständig im Stiche lassen. Es sei hier nochmals betont, daß H. Pfeiffer für eine praktische Verwertbarkeit der Ueberempfindlichkeit, wie erst kürzlich wieder auf dem Naturforschertage in Salzburg hervorgehoben wurde, nicht ausschließlich das Phänomen des anaphylaktischen Temperatursturzes, sondern neben diesem möglichst alle in die Erscheinung tretenden anaphylaktischen Erscheinungen verwertet wissen will. Die Tatsache freilich, daß das Phänomen der Temperaturerniedrigung das konstanteste und außer dem anaphylaktischen Tode das einzige objektiv wiederzugebende ist, wird uns häufig in die Lage versetzen, ausschließlich auf dieses zu rekurrieren.

Einige Versuche mit altem Menschenblute aus der Institutssammlung sind in Tabelle XV zusammengestellt. Es

1) Anmerkung bei der Korrektur: Diese Tatsachen werden auch durch die Arbeit von E. Friedberger (l. c.) für das Kaninchen bestätigt. Wie wir privaten Mitteilungen E. Friedbergers entnehmen, bewährt sich auch ihm die Methode der Temperaturmessung für die Diagnose „anaphylaktischer Shock“ aufs beste.

Tabelle XV.

Eiweiß der intraperitonealen Vorbehandlung	Präzipitinprobe	Intervall Tage	Reinjektion mit ccm	Reaktion in Zehntelgraden
5 Jahre altes verfaultes Menschenblut, 1 ccm eines farblosen Extraktes desgl.	negativ	14	2,5 Menschenser.	16
—	„	14	2,5 „	22
—	—	—	2,5 „	4
4 Jahre alter, vom Sonnenlicht grau gefärbter, fast unlöslicher Fleck von Menschenblut, 1 ccm d. Extraktes	negativ	14	2,5 „	32
6 Jahre altes Menschenblut, in stinkender Fäulnis, 1 ccm des Extraktes	„	14	2,5 „	14
dgl.	„	14	2,5 „	52
„	„	14	2,5 „	138 (†)
5 Jahre alte, durch Sonnenlicht unlöslich gewordene Spur, 0,1-proz. Sodaextrakt 1 ccm dgl.	NaCl-Extrakt: negativ	14	1,5 „	14
„	negativ	14	1,5 „	30
„	—	14	1,5 „	14
„	—	—	1,5 „	0
4 Jahre altes Schweineblut, 30' bei 100° C, 0,1-proz. Soda-lösung 1 ccm dgl.	NaCl-Extrakt: negativ	14	1,5 Schweineser.	46
„	dgl.	14	1,5 „	24
„ 90' bei 100° C	„	14	1,5 „	6
„ 90' „ 100° „	„	14	1,5 „	2
Rinderserum, 15' bei 100° C	—	14	1,5 Rinderserum	98
„ 30' „ 100° „	—	14	1,5 „	14
„ 60' „ 100° „	—	14	1,5 „	20
„ 60' „ 100° „	—	—	1,5 „	0

handelte sich dabei um Blutspuren, welche teils durch weitgehende Fäulnis zersetzt, teils durch Sonnenlicht so weit unlöslich geworden waren, daß mit der Präzipitinprobe sichere positive Ergebnisse nicht gewonnen werden konnten. Die daraus gewonnenen Extrakte, die nur geringste Spuren von Eiweiß enthalten konnten, lieferten, mit dem anaphylaktischen Temperatursturz untersucht, unzweifelhaft positive Ergebnisse, wie auch Kurve 14 lehrt. Ebenso gelang es noch, wie die zweite und dritte Versuchsgruppe dieser Tabelle erkennen läßt und was bekannten Tatsachen entspricht, mit 30—60 Minuten lang gekochtem dreifach verdünntem Rinderserum Meerschweinchen zu sensibilisieren und die spezifische Ueberempfindlichkeit durch eine 14 Tage später erfolgende Rinderseruminjektion

nachzuweisen. Auch 4 Jahre altes, trocken aufbewahrtes Schweineblut lieferte nach halbstündigem Kochen noch positive Resultate, während nach 1½-stündigem Erwärmen eine Sensibilisierung nicht mehr gelang. Aus Tabelle XVI kann man die schon von anderen Autoren (Arthus, R. Kraus und Volk, R. Doerr und V. K. Russ, Uhlenhuth u. a. mehr) auf anderen Versuchswegen festgestellte Tatsache entnehmen, daß es zwar mit Hilfe stark erhitzter Eiweißkörper noch gelingt zu sensibilisieren, daß aber mit ihrer Hilfe die Auslösung eines anaphylaktischen Temperatursturzes mindestens in der Regel nicht gelingt. Eine 1—2-stündige Inaktivierung bei 57° schädigt, wie alle unsere bisher mitgeteilten Versuche beweisen, die fast ausschließlich mit solchen Seren und Eiweißkörpern gewonnen worden waren, nur unbedeutend dieses Vermögen.

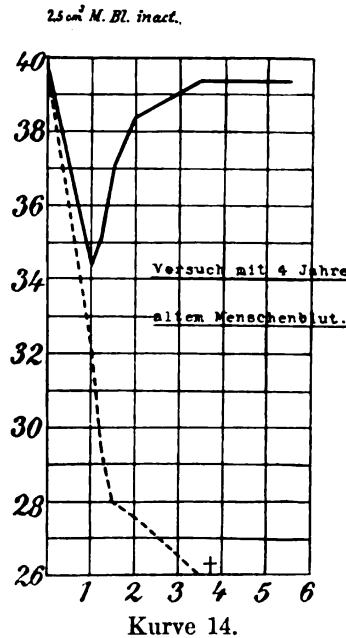


Tabelle XVI.

Vorbehandlung ccm	Inter- vall	Reinjektion ccm	Reak- tion
0,25 Rinderserum 15' 100° C	14 Tage	1,5 Rinderserum inaktiv	98
0,25 " 10' 100° "	14 "	1,5 " 60' 100° C	6
0,25 " 30' 100° "	14 "	1,5 " inaktiv	14
0,25 " 30' 100° "	14 "	1,5 " 60' 100° C	12
0,25 " 60' 100° "	14 "	1,5 " inaktiv	20
0,25 " 60' 100° "	14 "	1,5 " 60' 100° C	0

Die in Tabelle XVII und XVIII sowie in Kurve 15 zusammengestellten Versuche lehren endlich, daß auch noch gekochtes Fleisch und gekochte Milch (Arthus) eine Anaphylaxie auslösen und damit eine Diagnostik des Vorliegens dieser Eiweißarten ermöglichen¹⁾.

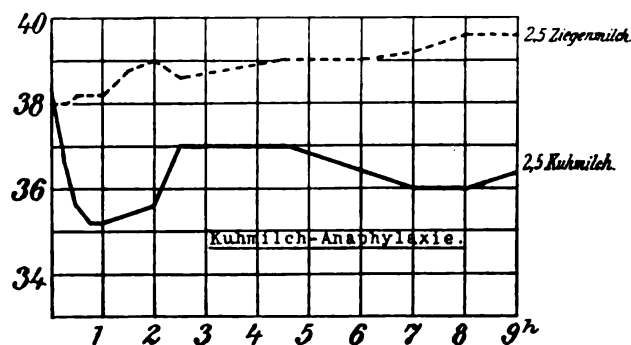
1) Anmerkung: Eine praktische Verwertung des anaphylaktischen Temperatursturzes ist, wenn zur Diagnosestellung reichliche Antigenmengen

Tabelle XVII.

Vorbehandlung intraperitoneal	Intervall	Reinjektion intraperitoneal	Reaktion
0,25 ccm Kuhmilch roh	16 Tage	2,5 ccm Kuhmilch roh	106 (+)
0,25 " " "	16 "	2,5 " " "	32
0,25 " " "	16 "	2,5 " Ziegenmilch "	10
0,25 " " 15' 100°	16 "	2,5 " Kuhmilch roh	36
0,25 " " 15' 100°	16 "	2,5 " " "	38
0,25 " " 15' 100°	16 "	2,5 " Ziegenmilch "	12
0,25 " " 30' 100°	16 "	2,5 " Kuhmilch roh	20
0,25 " " 30' 100°	16 "	2,5 " " "	30
0,25 " " 30' 100°	16 "	2,5 " Ziegenmilch "	0
—	—	2,5 " Kuhmilch roh	0
—	—	2,5 " Ziegenmilch	0

Tabelle XVIII.

Vorbehandlung intraperitoneal	Intervall	Reinjektion intraperitoneal	Reaktion
1 ccm Rindfleischextr. ungekocht	14 Tage	1,5 ccm Rinderserum	18
1 " " "	14 "	1,5 " " "	12
1 " " "	14 "	1,5 " " "	0
1 ccm Rindfleischextr. 15' 100° C	14 Tage	1,5 " " "	10
1 " " 15' 100° C	14 "	1,5 " " "	0
1 " " 30' 100° C	14 "	1,5 " " "	0
1 " " 30' 100° C	14 "	1,5 " " "	0
1 " Extrakt aus 10 g Rindfleisch 15' 100°	14 "	2,0 " " "	56 (+)
dgl.	14 "	2,0 " " "	0



Kurve 15.

zur Verfügung stehen (Nahrungsmittelprüfung), auch noch auf anderem Wege möglich: Injektion der auf das Vorliegen einer Eiweißart (auch in Gemischen!) zu untersuchenden Präparate in Meerschweinchen, welche zu diesem Zweck sensibilisiert sind und vorrätig gehalten werden. Entfallen der Inkubationsperiode! Noch konstantere Resultate!

Zusammenfassung.

Die hier in extenso mitgeteilten wesentlichsten Versuchsergebnisse lassen sich in der folgenden Weise zusammenfassen:

1) Das Phänomen des spezifischen anaphylaktischen Temperatursturzes muß streng getrennt werden von unspezifischen und in der Praxis vermeidbaren Temperaturabnahmen durch an sich toxisch wirkende artfremde, Seren.

2) Der Beweis seiner Zugehörigkeit zum Symptomenbilde des anaphylaktischen Shocks ergibt sich aus folgenden Tatsachen:

- a) aus der strengen Spezifität der Reaktion sowohl bei aktiv als passiv überempfindlich gemachten Meerschweinchen;
- b) aus dem Umstande, daß er erst nach der Entwicklung einer Anaphylaxie nachweisbar ist;
- c) aus der Möglichkeit, ihn nicht nur durch intraperitoneale, sondern auch durch intravenöse Injektion auszulösen;
- d) aus der Tatsache einer mit seiner Hilfe nachweisbaren Antianaphylaxie und Aufhebung der Anaphylaxie durch Injektion von anderen Eiweißarten, als der zur Vorbehandlung verwendeten; endlich
- e) aus der Beobachtung, daß auf diesem Wege die Aufhebung der Anaphylaxie durch Peptoninjektionen, die Peptonimmunität im Zustande der Antianaphylaxie erhärtet werden kann.

3) Durch diese Methodik gelingt es noch feinste anaphylaktische Krankheitserscheinungen selbst dann exakt nachzuweisen, wenn alle anderen Beobachtungsmethoden im Stiche lassen.

4) Er bildet ein objektiv meßbares Symptom für einen anaphylaktischen Shock und damit auch für die Bestimmung einer bestehenden Anaphylaxie.

5) Auf diesem Versuchswege gelang es bisher noch kleinste Mengen hochgradig veränderter Eiweißkörper (Serum, Blut, Milch, Fleisch, Eiklar) nach ihrer Artzugehörigkeit, das Auf-

treten einer organspezifischen Ueberempfindlichkeit nach Vorbehandlung mit Erythrocytenlösungen, das Auftreten einer Linseneiweiß-Anaphylaxie gegen das arteigene Linseneiweiß zu bestimmen.

Literaturverzeichnis.

- Andrejew, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 30, 1909, No. 2.
- Besredka, A., und Steinhardt, Edna, Du mécanisme de l'antianaphylaxie. Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 21, 1907, p. 384.
- — De l'anaphylaxie et de l'antianaphylaxie etc. Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 21, 1907.
- Contejean, Comptes rend. de la Soc. Biol., T. 46, 1895.
- Archive de Physiologie, T. 27, 1895.
- Biedl, A., und Kraus, R., Experimentelle Studien über Anaphylaxie. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11.
- Doerr, R., und Raubitschek, Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 33.
- Doerr, R., und Russ, V. K., Studien über Anaphylaxie. II. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 2, No. 1.
- — Studien über Anaphylaxie. III. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, No. 2.
- Friedemann, Münchener med. Wochenschr., 1907.
- Gay and Southard, Journ. of Med. Res., Vol. 16, 1907.
- Gley, Comptes rend. de la Soc. Biol., T. 48, 1896.
- Klein, A., Ueber die Spezifität der Erythropräzipitine. Wiener klin. Wochenschr., 1905, No. 41.
- Ueber Erythropräzipitine und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes. Centralbl. f. Bakt. etc., I. Abt., Bd. 39, 1905, No. 3.
- Kraus, R., Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 3, No. 2.
- Kraus, R., Doerr, R., Sohma, Ueber Anaphylaxie, hervorgerufen durch Organextrakte. Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 30.
- Kraus, R., und Volk, R., Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 1, No. 5.
- Lefmann, G., Hofmeisters Beiträge etc., Bd. 11, No. 7—9.
- Neuffeld (Versuche mit Wedemann), Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Wien, 1909. Referat Zeitschr. f. Immunitätsforschung etc., II. Teil, Bd. 1, 1909, Heft 8.
- Nicolle, M., Annales de l'Institut Pasteur, T. 21, 1907, No. 2.
- Comptes rend. de la Soc. Biol., 1907, No. 25.
- Otto, v. Leutholdsche Gedenkschr., Bd. 1, 1906.
- Pesaro, Lo Sperimentale, Vol. 56, 1902, No. 3.
- Pfeiffer, H., Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 51, 1905 und Bd. 54, 1906.
- Wiener klin. Wochenschr., 1905, No. 18.
- Ueber das verschiedene Verhalten der Körpertemperatur nach Injektion und nach Reinjektion von artfremdem Serum. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 1.

- Pfeiffer, H., Ueber den anaphylaktischen Temperatursturz und seine praktische Bedeutung. Sitzungsbericht d. k. Akad. d. Wissenschaften in Wien, mathem.-naturwissenschaftl. Klasse, Abt. III, Bd. 118, März 1909.
- Versuchstechnische Bemerkungen zum Nachweise des anaphylaktischen Temperatursturzes. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 36.
 - und Finsterer, J., Ueber den Nachweis eines, gegen das eigene Carcinoma gerichteten anaphylaktischen Antikörpers im Serum von Krebskranken, nebst vorläufigen Bemerkungen zu diesem Befunde. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 28.
 - Zur Frage des Nachweises eines spezifischen anaphylaktischen Reaktionskörpers im Blute von Tumorkranken. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 40.
- Pick und Yamanouchi, Zeitschr. f. Immunitätsforschung etc., Bd. 2, No. 5.
- Ranzi, E., Zur Frage des Nachweises eines spezifischen anaphylaktischen Reaktionskörpers im Blute von Tumorkranken. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 40.
- Schmidt-Mühlheim, Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., 1880.
- Sleeswijk, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 2, No. 1.
- Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 2, No. 2.
- Thompson, Journal of Physiol., 1899.
- Thomsen, O., Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 1, No. 6.
- Uhlenhuth, P., Diskussionsbemerkungen zu dem Vortrage von Haendel in der Berliner militärärztlichen Gesellschaft, Sitzung vom 14. Dezbr. 1908. Deutsche militärärztliche Zeitschr., 1909, No. 2.
- Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens etc., Jena (Fischer) 1909.
- Uhlenhuth, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 1, No. 6.
- Vaughan and Wheeler, Journ. of Am. med. Assoc., 1906.
- — Am. Meeting of Assoc. Am. Phys., Washington 1907.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der k. k. Universität
Graz (Vorstand: Prof. Dr. J. Kratter).]

Zur Frage des Nachweises eines anaphylaktischen Reaktionskörpers im Blute von Tumorkranken¹⁾.

Von Privatdozenten Dr. Hermann Pfeiffer.

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. November 1909.)

In mehreren kurzen Mitteilungen, soeben erst in der vorstehenden ausführlichen Darstellung im Vereine mit S. Mita, habe ich dargetan, wie sowohl im Gefolge einer aktiven, als auch einer passiv übertragenen Anaphylaxie das Phänomen des anaphylaktischen Temperatursturzes bei Einhaltung einer genauen Versuchsanordnung ein außerordentlich empfindliches und objektiv meßbares Symptom im Krankheitsbilde des anaphylaktischen Shocks ist.

Weiterhin habe ich in Gemeinschaft mit H. Finsterer in früheren Mitteilungen über Bestrebungen berichtet, mit Hilfe derartiger Temperaturmessungen die Frage zu entscheiden, ob bei autochthonen Geschwülsten maligner Natur gegen das Geschwulstgewebe Ueberempfindlichkeit besteht oder nicht.

An einschlägigen, andere Versuchstechniken benützendes Mitteilungen lagen damals solche von v. D u n g e r n vor, welcher zeigen konnte, daß eine bei Kaninchen sich entwickelnde Immunität gegen transplantable Hasensarkome begleitet sei von einer Verstärkung der lokalen Gewebsreaktion. Diese sei auf Ueberempfindlichkeit der Gewebe zurückzuführen. Ferner hat Y a m a n o u c h i angegeben, daß bei tumortragenden Mäusen eine ausgesprochene Ueberempfindlichkeit gegen eine intra-peritoneale Reinjektion des gleichen Tumormateriales besteht, eine Angabe, die später H. A p o l a n t auf Grund seiner Nachprüfung bestritt. Weiterhin hatte E. R a n z i die Frage zu entscheiden versucht, ob durch Vorbehandlung von Meer-

1) Ausgeführt mit Unterstützung der k. Akad. der Wissenschaften aus dem Legate Wedl.

schweinchchen mit malignen Geschwülsten eine Ueberempfindlichkeit sich entwickle, welche zell- oder gewebsspezifisch genannt werden muß.

Der Autor ist hier zu negativen Ergebnissen gelangt, zu denen wir allerdings bemerken möchten, daß sie die Frage nach einer derartigen Spezifität deshalb nicht zu entscheiden gestatteten, da E. Ranzi, wie aus seinen Angaben zu entnehmen ist, mit Kochsalzextrakten von nicht weiter vorbehandelten, d. h. gereinigten Organen sensibilisiert hat. Wie ich aus Anlaß meiner Studien über Spermapräzipitine beobachten konnte, Befunde, die sich nach dem heutigen Stande unseres Wissens sehr wohl auf die Verhältnisse beim Ueberempfindlichkeits-Phänomen übertragen lassen, gelang es damals bei Verwendung von Geweben nur dann zu deutlich organspezifischen Immunprodukten zu gelangen, wenn die zur Vorbehandlung verwendeten Organe zuerst von Blut und Serum, also von nicht organspezifischen Eiweißkörpern möglichst durch Durchspülung oder Waschen in der Zentrifuge befreit wurden. Neben der weitgehenden funktionellen Sonderstellung der Linse, der roten Blutkörperchen und der Spermatozoen gelingt der Nachweis der Organspezifität ihres Eiweißes (Uhlenhuth, A. Klein, H. Pfeiffer) sicherlich auch deshalb so leicht, weil man hier in die Lage versetzt ist, mit ganz reinen, von Serum und anderen Beimengungen freien Eiweißpräparaten zu experimentieren. Ich möchte aus den hier angeführten Gründen den an die Ergebnisse geknüpften Schlußfolgerungen des Autors, mit Tumorextrakten sei eine spezifische Ueberempfindlichkeit nicht auszulösen, so ohne weiteres nicht zustimmen. Darüber müssen erst Sensibilisierungsversuche mit gereinigten und möglichst von bindewebigen Bestandteilen befreiten Zellelementen entscheiden.

Weiter berichtet E. Ranzi über einige Versuche, in denen er auf dem Wege der passiven Anaphylaxie, und zwar durch Vorbehandlung mit Patientenserum und Reinjektion von Tumorextrakten, die Frage nach dem Vorliegen eines gegen die Geschwulst gerichteten anaphylaktischen Reaktionskörpers im Serum von Tumorträgern zu entscheiden sucht. Die Versuche fielen negativ aus, desgleichen seine Versuche, welche unsere früheren Mitteilungen zum Gegenstande einer

Nachprüfung machten. Die Richtigkeit jenes Teiles seiner Befunde, welche den anaphylaktischen Temperatursturz bei aktiver Serumüberempfindlichkeit betreffen, habe ich im Vereine mit S. Mita in dieser Zeitschrift in der vorher stehenden Arbeit experimentell und kritisch beleuchtet. Inwieferne des Autors Versuche mit Tumoren Gültigkeit haben, wird sich aus den weiter unten mitzuteilenden Versuchsprotokollen ergeben.

Endlich berichtete v. Dungern vor kurzem über Beobachtungen, welche er gemeinsam mit Gorowitz machen konnte: Wurden Carcinomkranken exstirpierte und bei 56° abgetötete Stückchen ihres Tumors subkutan eingebracht, so entstand eine hochgradige lokale Reaktion (Oedem, Rötung, Schmerzhaftigkeit), welche bei Gesunden fehlte und auch dann ausblieb, wenn Carcinomkranke mit einem anderen Tumor als ihrem eigenen behandelt wurden, eine Erfahrung, die im Sinne einer allergetischen Gewebsreaktion gedeutet werden muß.

Soweit die heute vorliegenden Erfahrungen, von denen namentlich die Befunde v. Dungenrs im Sinne der früheren und der nun folgenden Ausführungen sprechen.

Da ich schon an anderem Orte (H. Pfeiffer, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 36) ausführlich über die bei solchen Versuchen eingeschlagene Versuchstechnik und ihre theoretische Begründung sowie über zu vermeidende Fehlerquellen berichtet habe, so genügt hier die einfache Anführung der Versuchsergebnisse. Sie wurden ausgeführt mit dem klinischen Materiale der Universitätsklinik für Chirurgie des Herrn Prof. Hacker, dem ich an dieser Stelle für dieses sein Entgegenkommen meinen Dank aussprechen möchte. Die hier mitgeteilten Versuchsreihen, die zum Teil unter Mitwirkung von H. Finsterer ausgeführt wurden, gemeinsam noch weiter fortzusetzen, ist durch seine Uebersiedlung unmöglich geworden. Doch sollen die Versuche in kurzer Zeit wieder aufgenommen werden.

Wie aus der Uebersichtstabelle ersichtlich ist, wurden bisher 23 Seren von Carcinomträgern, 7 Seren von Sarkomkranken, 3 Seren von Patienten, welche benigne Tumoren trugen und 14 Seren von sicher tumorfreien Menschen untersucht. Sie dienten sämtlich in der Menge von 3 und 4 ccm zur intraperitonealen Vorbehandlung. Die Reinjektionen wurden

nach 48 Stunden gleichfalls intraperitoneal vorgenommen mit 4—1,5 ccm von Preßsäften, 1) aus 11 Carcinomen, 2) aus 6 Sarkomen, 3) aus 2 benignen Tumoren. Die Resultate sind nach Temperaturabnahmen und allgemeinen Erscheinungen (Mattigkeit, Dyspnoe, Krämpfe, event. Exitus) geordnet, die in den Tabellen ersichtlich sind.

Betrachtet man zunächst, indem man von den einzelnen Fällen absieht, die Durchschnittswerte der Temperaturabnahmen, die sich bei den einzelnen Versuchsgruppen unter Berücksichtigung der Zahl der Versuchstiere berechnen lassen, so ergibt sich das Folgende:

23 Tiere wurden mit Carcinomseren vorbehandelt und mit Carcinompreßsäften reinjiziert. Die durchschnittliche Temperaturabnahme betrug in dieser Versuchsgruppe $4,3^{\circ}$ C. Fast alle Tiere boten schwere oder deutlich anderweitige anaphylaktische Symptome dar, ein Tier ging unter diesen Erscheinungen zugrunde. 9 mit Normalseren in denselben Mengen vorbehandelte und mit Carcinompreßsäften reinjizierte Tiere gaben eine Reaktionsgröße von $0,6^{\circ}$ C, also beiläufig $\frac{1}{7}$ jener der ersten Gruppe. Anderweitige Krankheitsercheinungen fehlten hier überhaupt.

4 mit dem Serum Sarkomkranker injizierte und mit Carcinompreßsäften in denselben Mengen reinjizierte Meerschweinchen gaben einen Durchschnittswert von $0,6^{\circ}$ C, zeigten also Reaktionen, welche jener der Normalserumtiere entsprechen. 4 weitere Tiere, die, ohne vorbehandelt zu sein, lediglich mit Carcinompreßsäften behandelt wurden, reagierten darauf mit Temperaturabnahmen von $0,5^{\circ}$ C.

Die zweite Versuchsgruppe betrifft die mit Sarkompreßsäften gewonnenen Resultate: 8 mit Sarkomseren vorbehandelte Tiere reagierten auf die Reinjektion der zugehörigen Preßsäfte mit durchschnittlichen Abnahmen von $1,5^{\circ}$ C, 3 mit normalen Seren und 6 mit Carcinomseren vorbehandelte mit mittleren Temperaturabnahmen von $2,0$ und $1,8^{\circ}$ C, also in einer Weise, welche sich von jener der Sarkomserumtiere nicht unterschied.

3 Tiere endlich, welche mit Seren von Trägern benigner Tumoren vorbehandelt waren, lieferten nach der Injektion von Preßsäften desselben Tumors Temperaturabnahmen von $0,5^{\circ}$ C.

Übersichtstabelle.

Fall No.	Serum von Fall	Klinisch-histologische Daten	Preßsaft von Fall	Klinisch-histolog. Daten	Temperaturabfall	In Verhältniszahlen zu den Kontrollen	Anderweitige Erscheinungen	Ergebnis
1	1: 4 cem	Scirrhus mammae	1: 4 cem	Scirrhus mammae	5,0	12	schwere Allg. Ersch.	—
2	2: 4 cem Normalser.	—	1: 4 "	—	0,4	1	keine Erscheinung.	positiv
3	3: 4 cem	Ca. mammae medull.	2: 4 "	Ca. mammae medull.	3,4	17	deutl.	—
4	4: 4 cem Normalser.	—	2: 4 "	—	0,2	1	keine	—
5	—	—	2: 4 "	—	0,0	—	—	—
6	3: 4 cem	Ca. mammae medull.	3: 4 "	Ca. mammae medull.	4,6	11	schwere Allg. Ersch.	positiv
7	3: 4 "	—	3: 4 "	—	2,4	6	deutliche	—
8	4: 4 cem Normalser.	—	3: 4 "	—	0,4	1	keine	—
9	—	—	3: 4 "	—	0,0	—	—	—
10	4: 4 cem	Ca. mandibulae	3: 4 "	Ca. mandibulae	7,0	17	schwere	positiv
11	6: 4 "	—	3: 4 "	—	3,4	8	deutliche	"
12	8: 4 "	Ca. mandibulae	3: 4 "	Ca. mandibulae	3,4	8	deutliche	"
13	8: 4 "	—	4: 3 "	—	8,2	20	schwerste	"
14	—	—	4: 3 "	—	0,4	—	—	—
15	9: 4 cem	Ca. maxillae rezidiv.	4: 3 "	Ca. maxillae rezidiv.	8,4	—	Exitus nach 2 Std.	positiv
16	10: 4 "	—	4: 3 "	—	9,8	—	—	"
17	13: 4 "	Neurofibromatosis	13: 4 "	Neurofibromatosis	0,6	—	keine Erscheinung.	negativ
18	15: 4 "	Melanosarkom	15: 3 "	Melanosarkom	3,0	—	—	negativ
19	4 cem Normalser.	—	15: 3 "	—	3,0	—	—	negativ
20	14: 4 cem	Ca. colli	15: 3 "	Ca. colli	3,4	—	—	"
21	16: 4 "	labii	15: 3 "	labii	2,6	—	—	"
22	17: 4 "	Benigner Tumor d. Pankreas	15: 3 "	Benigner Tumor d. Pankreas	1,8	—	—	"
23	16: 4 "	Ca. labii inferioris	16: 1,5 "	Ca. labii inferioris	2,6	6	—	positiv?
24	16: 4 "	maxillae rezidivfrei	16: 1,5 "	maxillae rezidivfrei	0,4	1	—	negativ
25	19: 4 "	Fibrosarkom	20: 1,5 "	Fibrosarkom	1,4	—	—	negativ
26	20: 4 "	—	20: 1,5 "	—	0,6	—	—	negativ
27	21: 4 cem	Fibrosarkom	21: 1,5 "	Fibrosarkom	1,5	—	—	negativ
28	—	—	21: 1,5 "	—	0,5	—	—	negativ
29	20: 4 cem	Fibrosarkom	22: 1,5 "	Ca. labii inferioris	1,5	1	—	negativ
30	—	—	22: 1,5 "	—	1,0	—	—	—
31	22: 4 cem	Ca. labii infer.	22: 1,5 "	Ca. labii infer.	4,8	3	schwere Ersch.	positiv
32	23: 4 "	maxillae	22: 1,5 "	maxillae	4,4	3	"	"
33	—	—	—	—	—	—	—	"

Anaphylaktische Reaktionskörper im Blute von Tumorkranken. 463

Case No.	Age	Sex	Diagnosis	Time of blood draw	Amount	Reaction	Notes	Reaction	Amount	Reaction	Notes
23	33	♂	Ca. maxillae	23	4 ccm	positiv		keine	5,4	11	
24	34	♀	Fibrosarkom	20	4 "	negativ		"	0,4	1	
24	35	♀	Sa. thyreoidea	24	4 "	"		"	0,4	1	
24	36	♀	"	24	4 "	"		"	0,0	0,5	
24	36	♀	"	24	4 "	"		"	0,0	1	
25	37	♀	"	23	1,5 "	"		"	0,6	1	
25	38	♀	Ca. mammae, Fall 1 vor 4 Wochen operiert	23	1,5 "	"		deutliche	1,5	3	
26	39	♀	Ca. mammae, Fall 2 vor 4 Wochen operiert	23	1,5 "	"		keine	2,0	4	
29	40	♀	Sarkom der Haut	24	1,5 "	"	Sa. der Thyreoidea	"	1,2	1	
41	4	♂	Normalser.	24	1,5 "	"	"	"	1,2	1	
31	42	♂	Ca. mamillae	24	1,5 "	"	"	"	1,6	1	
32	43	♀	" thyreoideae	24	1,5 "	"	"	"	0,8	1	
33	44	♀	" malae	24	1,5 "	"	"	"	1,0	1	
27	45	♀	Fibrosarkom	24	1,5 "	"	Fibrosarkom	"	1,4	1	
27	46	♀	"	27	1,5 "	"	"	"	1,8	1	
47	47	♀	"	27	1,5 "	"	"	"	0,2	1	
29	48	♀	Sarkom der Haut	27	1,5 "	"	"	keine Erscheinung.	1,0	1	
49	4	♂	Normalser.	27	1,5 "	"	"	"	1,2	1	
29	50	♀	Sarkom der Haut	29	1,5 "	"	Sarkom der Haut	"	1,0	1	
30	51	♀	Ca. tonsillae	29	1,5 "	"	"	"	1,2	1	
33	52	♀	malae rezidiv. (Verdacht auf Drüsenrezidiv)	33	1,5 "	"	" Drüsenrezidiv?"	"	2,4	1	
34	53	♀	Ca. nasi	33	1,5 "	"	"	"	2,4	1	
54	4	♂	Normalser.	33	1,5 "	"	"	"	1,0	1	
34	55	♀	Ca. nasi (?) auf lupöser Basis	34	1,5 "	"	Ca. nasi (?)	keine Erscheinung.	1,8	1	
56	4	♂	Normalser.	34	1,5 "	"	"	"	2,0	1	
35	57	♀	Myoma uteri	35	1,5 "	"	Myoma uteri	"	1,0	1	
35	58	♀	"	35	1,5 "	"	"	"	0,0	1	
35	59	♀	"	35	1,5 "	"	"	"	1,2	1	
35	60	♀	Ca. mammae	35	1,5 "	"	"	"	1,4	1	
36	61	♀	"	35	1,5 "	"	Ca. mammae	"	3,0	4	
62	4	♂	Normalser.	35	3 ccm	"	"	deutliche	0,8	1	
63	4	♀	"	36	1,5 "	"	"	keine	0,6	1	
64	4	♀	"	36	1,5 "	"	"	"	0,0	1	
37	65	♀	Ca. mammae operatum, Fall 3 v. 7 Woch. operiert	36	1,5 "	"	"	"	2,2	3	
37	66	♀	dgl.	36	1,5 "	"	"	" ?	2,2	3	
37	66	♀	"	36	1,5 "	"	"	"	1,8	2,5	

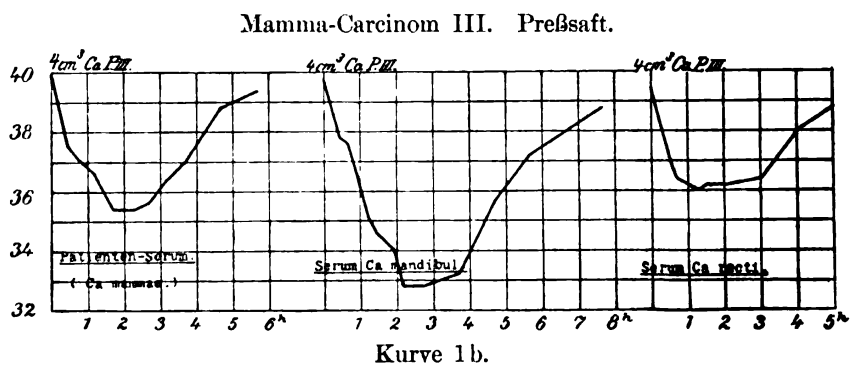
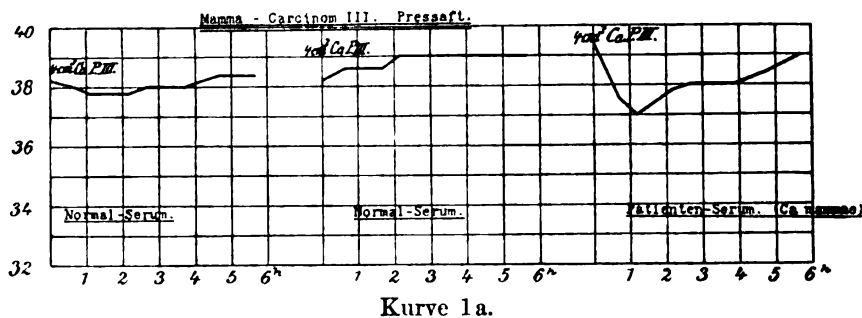
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/umn.31951002688015q
 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schon aus diesen Durchschnittszahlen ergibt sich insofern eine Spezifität der Wechselwirkung zwischen Carcinomserum und Carcinompreßsaft, als lediglich beim Zusammentreffen dieser beiden Materialien im Meerschweinchenkörper Reaktionsgrößen beobachtet wurden, welche die Durchschnittswerte aller anderen Kombinationen um ein Vielfaches übertreffen, so zwar, daß weder beim Aufeinanderwirken von Carcinom- oder Sarkomseren auf Sarkompreßsäfte, noch von Sarkomseren auf Carcinompreßsäfte Resultate gewonnen werden konnten, welche die bei Vorbehandlung mit normalen oder benignen Tumorseren verzeichneten übertrafen.

Die Spezifität der Wirkung von Carcinompreßsäften gegenüber Meerschweinchen, welche mit Carcinomseren vorbehandelt wurden, geht insbesondere neben den anderen aus der Beobachtung der folgenden Einzelfälle hervor, die ich unter Wiedergabe der Temperaturkurven etwas genauer anführen möchte:

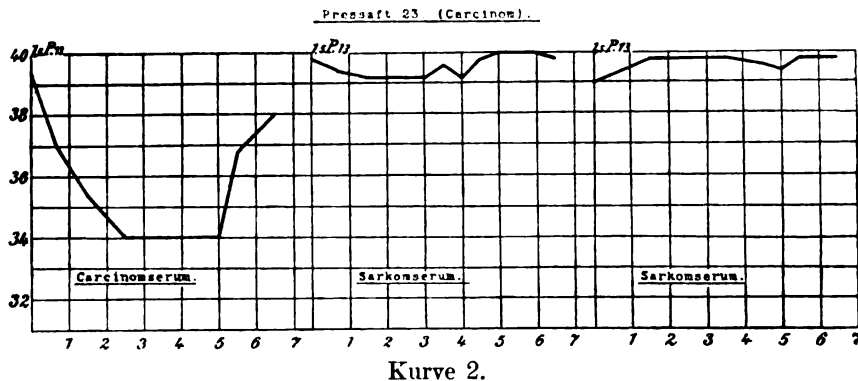
I. (Kurve 1.) Preßsaft des Mammacarcinoms No. 3.

Dieses Material wurde an 6 Meerschweinchen ausgeprobt, von denen 2 Tiere mit dem Serum von Normalen, die übrigen



mit den Seren verschiedener, in der Kurve angegebener Carcinomfälle in derselben Menge vorbehandelt worden waren. Während diese ersten Tiere mit einer Temperaturabnahme von 0,4, bzw. 0,0° C auf 4 ccm Preßsaft reagierten, lieferten die mit dem Patientenserum vorbehandelten Tiere eine Temperaturabnahme von 4,6 bzw. 2,4° C, ein mit einem Serum von Ca. mandibulae vorinjiziertes Meerschweinchen einen Absturz von 7,0°, ein mit Serum von Ca. recti vorbehandeltes Tier eine Abnahme von 3,4° C. Alle diese Tiere zeigten schwere anaphylaktische Allgemeinerscheinungen.

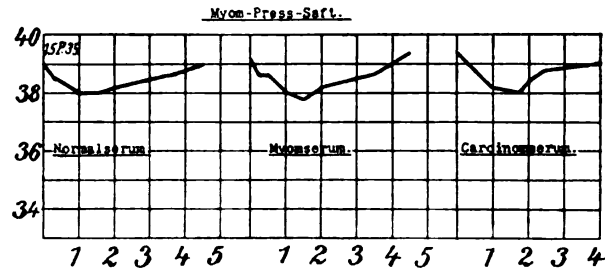
II. (Kurve 2.) Preßsaft von Fall 23, Ca. maxillae. Ein mit dem Patientenserum vorbehandeltes Tier reagierte mit



einer Temperaturabnahme von 5,4° C, ein mit dem Serum eines Sarkoms der Thyreidea vorbehandeltes bot eine Reaktion von 0,0°, ein mit dem Serum von einem Fibrosarkom zuerst injiziertes eine Temperaturabnahme von 0,6° C. Das erstgenannte Tier erkrankte schwer unter Allgemeinerscheinungen, die beiden anderen blieben vollkommen gesund und munter.

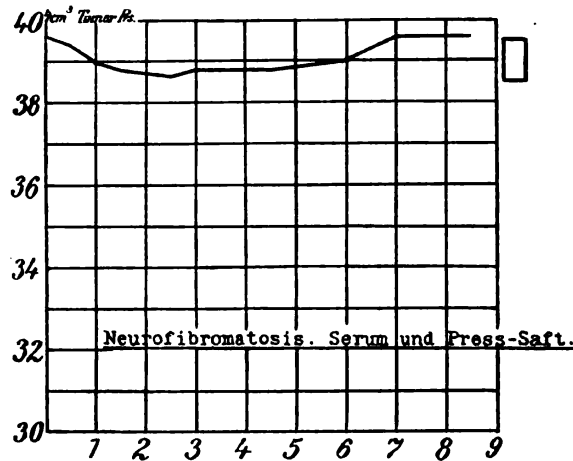
III. Im Gegensatz dazu lieferte der Myompreßsaft mit dem Serum seiner Patientin (1,0, 0,0° C), mit jenem eines Carcinomfalles (1,4) und mit einem Normalserumtier (1,0) Reaktionen, die an sich weit hinter den sub I und II angeführten zurückstehen und auch untereinander kaum abweichen (Kurve 3). Ebenso negativ verlief ein Fall von Neurofibromatosis, den ich in Kurve 4 wiedergebe.

Ganz ähnliche immer negative Ergebnisse erhielt ich, wie aus den Sarkomfällen hervorgeht, mit Tieren, welche durch



Kurve 3.

Seren solcher Patienten oder Carcinomkranker vorbehandelt und mit Sarkomsäften nachbehandelt worden waren. Zwar vermochte der Preßsaft von einem sehr malignen Melanosarkom auf die mit dem Serum seines Patienten Vorbehandelten



Kurve 4.

stark temperaturherabsetzend und giftig zu wirken. Bei genauer Analyse dieser Wirkung an Carcinomserum- und Normalserumtieren hingegen erwies es sich, daß diese Wirkung keineswegs eine spezifische war. Denn alle Tiere reagierten, und das im Gegensatz zu den eben erwähnten und anderen in den Tabellen angeführten Carcinomfällen, in annähernd derselben Art und Intensität auf den Preßsaft. Wenn man von diesem scheinbar positiven, in Wirklichkeit aber negativen

Ergebnis absteht, so zeigten die übrigen Sarkompreßsäfte im Vergleiche zu den Carcinomen eine nur ganz geringfügige und unspezifische Wirkung, die es z. B. in den folgenden näher auszuführenden Fällen ermöglichte, trotz klinischer Diagnose die Annahme eines Carcinoms zurückzuweisen und Sarkom zu diagnostizieren, eine Annahme, welche durch die spätere histologische Untersuchung im pathologisch-anatomischen Institute bestätigt wurde:

Fall 24. J. A., 60-jähriger Knecht, trägt seit Jahren eine rechtsseitige mächtige Struma, die seit einigen Wochen alle Zeichen von Malignität darbot. Klinische Diagnose: Carcinom. Der serologische Befund war der folgende: Patientenserum gab mit einem unter sonst ähnlichen Versuchsbedingungen gegen Carcinom äußerst wirksamen Preßsaft eines *Ca. maxillae* ($5,4^{\circ}$ C Temperatur, schwere Erkrankungssymptome) in zwei Versuchen Reaktionen von 0,4 und 0,0 C. Der Preßsaft der Struma erwies sich, gegen drei Carcinomseren geprüft, gleichfalls unwirksam ($1,6$, $0,8$, $1,0^{\circ}$ C), ebenso gegen ein Serum von Sarkom der Haut ($1,2^{\circ}$ C) bei einer Wirksamkeit gegen ein mit normalem Serum vorbehandeltes Tier von $1,2^{\circ}$ C Temperaturabnahme. Das Ergebnis war also in jeder Hinsicht ein negatives. Auf Grund der bis dahin vorliegenden Erfahrungen mußten wir die Diagnose Carcinom zurückweisen und Sarkom annehmen. Diese Annahme bestätigte die histologische Untersuchung.

Fall 29. L. B., 55-jährige Bäuerin, erkrankte vor 3 Jahreu an einer langsam wachsenden Geschwulst an der Stirnhaut, die bald exulzerierte. Klinisch wurde vermutungsweise die Diagnose *Ulcus rodens* gestellt. Das Serum der Patientin reagierte mit dem Preßsaft ihres Tumors ($1,0^{\circ}$), mit einem Preßsaft von Fibrosarkom ($1,0$, $1,2^{\circ}$ C) und von Sarkom der Thyroidea ($1,2$) nicht ausgiebig. Der Preßsaft ihres Tumors ergab mit dem Serum eines *Ca. tonsillae* keine positive Reaktion ($1,2^{\circ}$ C). Es mußte Sarkom angenommen werden. Auch dies bestätigte sich durch die histologische Untersuchung.

In anderer Hinsicht interessant ist auch Fall 16 und 19. Während der Preßsaft des Lippenkarzinoms 16 mit seinem Patientenserum eine Reaktion von $2,6^{\circ}$ C lieferte, reagierte ein Tier, welches mit dem Serum eines seit Monaten operierten rezidivfreien Carcinoms des Oberkiefers behandelt worden war, nicht. (Temperaturabnahme von $0,4^{\circ}$.)

Aus der Uebersichtstabelle ergibt es sich endlich, daß von den 18 unter entsprechender Kontrolle mit Carcinompreßsäften untersuchten Carcinomseren ein positives Ergebnis hatten 13; zwei Fälle waren negativ und zwar ein *Ca. nasi* auf lupöser Basis (No. 34), vielleicht auch Fall 16, ein Lippen-

carcinom ohne Drüsenmetastasen. Drei weitere Fälle eines seit Monaten rezidivfreien Carcinoms des Oberkiefers und zwei 6 Wochen früher positive und operierte Fälle von Mammacarcinom lieferten dann ein negatives oder fragliches Ergebnis. 7 Fälle von Sarkomseren und 3 Fälle von benignen Tumoren reagierten nur innerhalb des Ausmaßes von mit normalen Seren vorbehandelten Tieren teils mit ihren eigenen, teils mit den wirksam gefundenen Preßsäften, fielen also durchwegs negativ aus. In Anbetracht dieser Versuchsergebnisse, die sich wohl nicht anders als durch die Anwesenheit eines gegen das Tumorgewebe gerichteten anaphylaktischen Reaktionskörpers im Serum von Carcinomkranken erklären lassen, sehe ich mich genötigt, gegenüber den Angaben E. Ranzis an den schon früher mit H. Finsterer präzisierten Schlußfolgerungen festzuhalten und die bisherigen Resultate in folgender Weise zusammenzufassen:

1) Auf dem Wege der Uebertragung von Patientenserum und einer 48 Stunden später erfolgenden Reinjektion von Tumorpresseäften auf Meerschweinchen gelingt es, bei mit Carcinomseren vorbehandelten Tieren insofern ein spezifisches Verhalten festzustellen, als diese gegenüber der Reinjektion von Carcinompresseäften, und das im Gegensatze zu Normalserum- und Sarkomserumtieren, überempfindlich sind. Sie reagieren auf diese Reinjektion mit einem bei entsprechend gewählter Versuchsanordnung nachweisbaren spezifischen Temperatursturz und schweren anaphylaktischen Allgemeinerscheinungen.

2) Mit Sarkomseren, mit den Seren von Trägern benigner Tumoren vorbehandelte Tiere reagieren weder gegen Carcinompresseäfte, noch gegen die Preßsäfte ihrer eigenen Tumoren über das Ausmaß von Tieren, welche mit Normalseren erstmalig injiziert wurden.

3) Zur Erhärtung der in der ersten Mitteilung ange deuteten hypothetischen Schlußfolgerungen sind weitere Versuche im Gange.

Es ist mir ein Bedürfnis, meinem Freunde H. Finsterer an dieser Stelle nochmals für seine Mitarbeit und Unterstützung herzlichst zu danken.

Literatur.

- 1) Apolant, H., Ueber die Empfindlichkeit von Krebsmäusen gegen intraperitoneale Tumoringjektionen. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, 1. Teil, Bd. 3, 1909, Heft 1.
- 2) v. Dungern u. Coca, Ueber Hasensarkome, die in Kaninchen wachsen und über das Wesen der Geschwulstimmunität. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, 1. Teil, Bd. 2, 1909, Heft 4.
- 3) v. Dungern, Einige Beobachtungen von Ueberempfindlichkeit. *Naturhist.-med. Verein Heidelberg*, 18. Mai 1909. *Münch. med. Wochenschr.*, 1909, No. 35.
- 4) Pfeiffer, H., Unterscheidung von Spermaeiweiß gegenüber den anderen Eiweißarten. *Wiener klin. Wochenschr.*, 18. Jahrg., 1905, No. 24.
- 5) — Ueber Organspezifität der Präzipitinreaktion. *Vierteljahresschr. für gerichtl. Med.*, 3. Folge, Bd. 31, No. 2.
- 6) — Ueber den Entwicklungsgang, über neue Ergebnisse und Bestrebungen der Präzipitinforschung. *Archiv f. Kriminalanthropologie*, Bd. 22.
- 7) — Ueber das verschiedene Verhalten der Körpertemperatur nach Injektion und nach Reinjektion von artfremdem Serum. *Wien. klin. Wochenschr.*, 22. Jahrg., No. 1.
- 8) — Ueber den anaphylaktischen Temperatursturz und seine praktische Bedeutung. *Sitzungsbericht d. kaiserl. Akademie d. Wissensch. Wien*, III. Abt., Bd. 118, März 1909.
- 9) — u. Finsterer H., Ueber den Nachweis eines gegen das eigene Carcinom gerichteten anaphylaktischen Antikörpers im Serum von Krebskranken nebst vorläufigen Bemerkungen zu diesem Befunde. *Wiener klin. Wochenschr.*, 22. Jahrg., No. 28.
- 10) — Versuchstechnische Bemerkungen um Nachweis des anaphylaktischen Temperatursturzes. *Wiener klin. Wochenschrift*, 22. Jahrg., No. 36.
- 11) — Bemerkungen zu E. Ranzi's Artikel: Zur Frage des Nachweises eines spezifischen anaphylaktischen Reaktionskörpers im Blute von Tumorkranken. *Wiener klin. Wochenschr.*, 22. Jahrg., No. 40.
- 12) Ranzi, E., Ueber Anaphylaxie durch Organ- und Tumorextrakte. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung*, Bd. 2, Heft 1.
- 13) Zur Frage des Nachweises des spezifischen anaphylaktischen Reaktionskörpers im Blute von Tumorkranken. *Wiener klin. Wochenschr.* 1909, No. 40.
- 14) Yamanouchi, *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1909, No. 16.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.
Vorstand: Prof. F. Hueppe.]

Uebertragung der Tuberkulnempfindlichkeit.

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

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. November 1909.)

Der Gedankengang, welcher die folgenden Versuche veranlaßte und leitete, war folgender. Durch die Versuche von Christian und Rosenblatt und Schenk, die in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen, ist nachgewiesen, daß tuberkulöse Tiere unter einer Vorbehandlung mit Bakterien-substanz gewisse Antikörper (Agglutinine, komplementbindende Stoffe) bilden, normale Tiere hingegen gar nicht oder doch in ungleich geringerem Grade. Für das normale Tier hat somit die Substanz der Tuberkelbacillen gar nicht den Charakter eines Antigens, sie erlangt ihn erst, wenn sich infolge einer Infektion tuberkulöses Gewebe ausgebildet hat.

Daraus läßt sich schließen, daß z. B. das Alttuberkulin im normalen Tiere keine Angriffspunkte findet, daß solche erst durch die tiefgreifende Veränderung des Gewebes nach einer Infektion sich bilden. Sind sie erst vorhanden, dann kann das Gift des Tuberkulins im Körper zur Wirkung gelangen. Mit anderen Worten heißt das, daß das Tuberkulin an sich für alle Tiere, der Potenz nach, giftig ist, daß es aber in normalen Tieren nicht verankert wird, daß diesen nach der Ausdrucksweise der Ehrlichschen Theorie die Rezeptoren fehlen. Wie Ehrlich die Immunität gewisser Kaltblüter gegen Gifte durch Rezeptorenmangel erklärt, so bestände hier die gleiche Immunität gegen die Giftwirkung der Bacillensubstanz, und wenn Vergiftung ein wesentlicher Bestandteil der Infektionskrankheit ist, so ist das normale Meerschweinchen gegen die Tuberkulosekrankheit immun.

Widerstandskraft gegen Infektion und Unempfindlichkeit gegen Infektionskrankheit sind aber zwei verschiedene Begriffe. Trotz der Unempfindlichkeit gegen die Giftstoffe, welche das Meerschweinchen von Natur aus hat, vermag es

der Ansiedlung der Infektionserreger, also der Tuberkelbacillen, so gut wie keinen Widerstand entgegenzusetzen, zumal der Tuberkelbacillus nicht, wie die Mehrzahl der genauer studierten Bakterien, im wesentlichen ein Säfteparasit ist, sondern ins Gewebe übertritt. Unter dem Einflusse seiner Ansiedlung entsteht das tuberkulöse Gewebe, und dieses ist der Giftwirkung des Tuberkulins zugänglich, in ihm finden sich die Rezeptoren der Ehrlichschen Theorie, welche Tuberkulin festhalten. Wird dieses zugegeben, so ist nachher zweierlei möglich. Entweder das im tuberkulösen Herde festgehaltene Tuberkulin wird zu einer sehr giftigen Modifikation umgewandelt, welche als solche in den Kreislauf gelangt und die schweren Allgemeinerscheinungen der Reaktion bewirkt, oder das Tuberkulin bleibt als solches ungeändert, findet aber eine sehr große Angriffsfläche, nicht nur im erkrankten Gewebe, sondern weit über dasselbe hinaus. Denn ähnlich wie bei der Bildung von Antikörpern, kann man sich vorstellen, daß ein Teil der im Tuberkel gebildeten Rezeptoren abgestoßen wird und schließlich den ganzen Organismus überschwemmt. Von allen diesen wird aber das injizierte Tuberkulin aufgenommen und festgehalten, wodurch eine intensivste Wirkung möglich wird. Nur kann man sich dabei nicht vorstellen, daß die abgestoßenen Tuberkelrezeptoren als eine Art von Antitoxin, wie bei anderen bakteriellen Giften, wirken.

Auf diese theoretischen Fragen der Auffassung soll weiter unten noch eingegangen werden. Jedenfalls schien es bei einem derartigen Gedankengange möglich, die Tuberkulinempfindlichkeit auf gesunde Tiere zu übertragen. Es handelte sich ja nur darum, die supponierten Tuberkulinrezeptoren einem normalen Meeerschweinchen beizubringen. Sie stehen aber im tuberkulösen Gewebe infizierter Tiere zur Verfügung, während das Blut nach dem oben Gesagten sie vielleicht auch, jedenfalls aber in geringerem Grade, enthält. Wenn also tuberkulöses Gewebe eines erkrankten Tieres, das man einem gesunden einspritzt, daselbst nicht sofort hochgradig verändert wird, so muß es auch in diesem Tuberkulin verankern und entweder giftig machen oder unter Abgabe von Rezeptoren, welche sich über den Organismus verbreiten, seine schädliche Wirkung ermöglichen.

I. Das Material lieferte ein vor $2\frac{1}{2}$ Monaten mit sehr geringen Mengen des Stammes Msp., welcher aus einem spontan erkrankten Meerschweinchen gezüchtet war, vaginal geimpftes Meerschweinchen. Es zeigte beiderseits verkäste Leistendrüsen, geschwollene Retraperitoneal-, Portal- und Mesenterialdrüsen, eine stark vergrößerte, ganz von Tuberkeln durchsetzte Milz. In der Leber fanden sich vereinzelte kleine Tuberkel im normalen Gewebe, die Lunge war vollständig gesund. Milz und 7 nicht verkäste Drüsen wurden durch ein feines Drahtnetz gepreßt, der erhaltene Brei wurde durch Aufsaugen in Pipetten mit weiter Mündung abgemessen und in der Menge von 1,5 ccm für jedes der beiden folgenden Tiere, die 350–380 g wogen, verwendet.

Meerschweinchen 8 erhält 1,5 ccm Organbrei + 4 ccm NaCl-Lösung ip. Die Injektion wird ohne besondere Erscheinungen vertragen. 6^b später erhält es 0,5 ccm Tuberkulin Höchst in 4 ccm NaCl-Lösung, ebenfalls ip. Nach Vorübergang der Peritonealreizung erscheint das Tier normal, wird dann aber deutlich krank, Berührung des Bauches ist schmerzhaft. Am nächsten Tage ist das Tier zwar etwas erholt, macht aber immer noch einen sehr kranken Eindruck und erhält neuerlich (gerade 24^b nach der Organinjektion) 0,5 ccm Tuberkulin Höchst ohne Verdünnung. Die darauf folgende Peritonealreizung geht rasch vorüber, aber das Tier wird schwer krank, sitzt ruhig mit gesträubtem Haar und Zeichen von Peritonitis (hochgradige Druckempfindlichkeit des gespannten Bauches). Der Tod tritt in der Nacht ein. Unter der Haut in der Nähe der Injektionsstelle fand sich ein helles, sulziges, an Milzbrandinfektion erinnerndes Oedem, ohne mikroskopischen Befund. Im Peritoneum waren ca. 3 ccm eines dicklichen Exsudates, reich an meist polynukleären Leukocyten. Leber und einige Teile des Darmes waren mit Fibrinflocken überzogen, das gerollte Netz war dick von krümeligem, feuchtem Fibrin bedeckt. Präparate daraus zeigten polynukleäre Leukocyten und Makrophagen. Außer Rötung der Nebennieren war an den Organen kein auffälliger Befund festzustellen. Vollständige Sterilität.

Meerschweinchen 9 erhält gleichzeitig mit 8 1,5 ccm Organbrei + 4 ccm Serum tuberkulösen Tieres und 6^b später 0,5 ccm Tuberkulin mit 4 ccm des gleichen Serums. Der Verlauf war genau wie bei 8, auch dieses Tier war am anderen Tage krank, als es die zweite Injektion von 0,5 ccm unverdünnten Tuberkulins erhielt. Die Krankheit trat wie bei No. 8 ein, am Abend lag das Tier zeitweise auf der Seite, starb aber erst am nächsten Tage, 28^b nach der zweiten Tuberkulininjektion. Der Sektionsbefund war bei völliger Sterilität dem von No. 8 analog.

II. Das tuberkulöse Material wird von Meerschweinchen 10 geliefert, welches ca. 2 Monate vorher mit dem Stamm Msp. in minimalen Mengen subkutan geimpft worden war. Das verblutete Tier hatte verkäste Leistendrüsen, geschwollene retroperitoneale und mesenteriale Drüsen. Die vergrößerte Milz war ganz von nicht verkästen Tuberkeln durchsetzt; die Leber zeigte reichlich kleine Knötchen, ohne größere Herde, bei starker

Cirrhose. Verwendet wurde die Milz und ein Stück Leber bei der gleichen Versuchsanordnung wie im I. Versuche.

Die Organe für die Kontrollimpfungen lieferte ein verblutetes Meerschweinchen 11, welches gegen Hühnereidotter anaphylaktisch war. Die Organe, von denen Milz und ein Stück Leber zur Verwendung kamen, waren ganz normal.

Die Versuchstiere wogen 450—500 g.

Meerschweinchen 12 erhielt 2 ccm normalen Organbrei ip. und nach 16^h 0,4 ccm Tuberkulin Höchst + 0,35 ccm einer 35-proz. Glycerinlösung in Bouillon, ebenfalls ip. Die sofortige starke Peritonealreizung ging vorüber, das Tier erholte sich und erschien nach 8^h ganz munter, 24^h später erhielt es neuerlich 0,5 ccm unverdünnten Tuberkulins, ohne nach Ablauf der Peritonealreizung weiter zu leiden.

Meerschweinchen 13, vorbehandelt wie No. 12, erhielt nach 16^h 0,75 ccm unverdünnten Tuberkulins und 24^h später neuerlich 0,5 ccm Tuberkulin. Der Verlauf war wie bei 12.

Meerschweinchen 14 erhielt 2 ccm tuberkulösen Organbreies und 16^h später die gleiche Injektion wie No. 12. Von der eintretenden Peritonealreizung erholte es sich rasch, wurde aber dann krank, war nach 7^h sehr druckempfindlich, ruhig, hatte gestäubtes Haar und richtete sich, auf die Seite gelegt, nur mühsam auf. Nach 24^h war es noch immer krank, aber doch besser. Eine neue Injektion von 0,5 ccm unverdünnten Tuberkulins rief den gleichen Krankheitszustand hervor, von dem sich das Tier aber am nächsten Tage erholt hatte.

Meerschweinchen 15, vorbehandelt wie 14, erhielt nach 16^h 0,75 ccm unverdünnten Tuberkulins ip. Nach der vorübergehenden Peritonealreizung wurde das Tier ruhig, druckempfindlich, saß mit gestäubten Haaren da, zitterte oft. Nach 7^h war es schwerkrank, richtete sich, auf die Seite gelegt, nur spät und mühsam auf. Am anderen Tage war es etwas erholt und verhielt sich auf eine neuerliche Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin wie No. 14.

Meerschweinchen 16, vorbehandelt wie 14 und 15, erhielt 16^h danach 0,75 ccm einer 35-proz. Glycerinbouillon ip. Nach Vorübergang der Peritonealreizung zeigte das Tier keine besonderen Symptome. Eine 24^h später erfolgte Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin führte zu schwerem Krankheitszustande, wie bei No. 14 und 15, der am nächsten Tage gebessert war und in Erholung übergang.

Es war also tatsächlich in diesen orientierenden Versuchen gelungen, nach Injektion tuberkulösen Gewebes und nachfolgender Einführung von Tuberkulin, normale Tiere schwer krank zu machen und bei zweimaliger Tuberkulinanwendung sogar zu töten. Die Krankheitssymptome sind unverkennbar, aber ebensowenig wie beim Tuberkulintode infizierter Meerschweinchen durch auffallende Erscheinungen charakterisiert.

Eine Genesung, wie bei den Tieren des zweiten Versuches, trat meist am folgenden Tage ein, doch schienen auch dann die Tiere noch einige Tage lang minder lebhaft.

Daß im zweiten Versuche nicht der Tod, sondern nur vorübergehende, wenn auch schwere Krankheit eintrat, ist bedingt durch zwei Ursachen. Zunächst durch die Größe der Tiere: junge Meerschweinchen sind viel empfindlicher, und es wurden daher in der Folge nur solche von 200 g Gewicht benutzt. Dann hängt der Ausfall des Versuches auch von der Art des injizierten Gewebes ab: je mehr man davon nehmen kann und je dichter dasselbe von tuberkulösen Herden durchsetzt ist, desto größer wird die passiv übertragene Tuberkulinempfindlichkeit.

III. Das tuberkulöse Gewebe wird von dem Meerschweinchen 17 geliefert, welches ca. 2 Monate vorher mit minimalen Mengen des Stammes Msp. vaginal geimpft war. Das entblutete Tier zeigte beiderseits geschwollene Leistendrüsen, zum Teil verkäst, geschwollene, nicht verkäste Retroperitoneal- und Portaldrüsen. Die vergrößerte Milz ist ganz tuberkulös, die Leber zeigt vereinzelte Herde, die Lunge ist frei. Verwendet werden die Milz, die Leisten-, Retroperitoneal- und Portaldrüsen, die gemeinsam durch Draht gepreßt 2,2 ccm Brei liefern, der mit physiologischer Kochsalzlösung auf 4 ccm Volumen gebracht wird.

Die Kontrollorgane liefert das normale Meerschweinchen 18, von dem Milz und Leber verwendet wird. 2,2 ccm des erhaltenen Breies werden auf 4 ccm Volumen gebracht mit Kochsalzlösung, welche 12 mg einer auf Glycerinbouillon gewachsenen Haut des Stammes Msp. enthielt.

Meerschweinchen 19 erhielt 2 ccm tuberkulösen Organbreies, bleibt ohne Krankheit, und 24^b später 0,6 ccm unverdünnten Tuberkulins ip. Nach Vorübergang der Peritonealreizung bleibt das Tier ca. 2^b ziemlich normal, dann setzt die oben geschilderte Krankheit ein. Nach 9^b erweckt das Tier den Eindruck schwerster Krankheit, der bis zum nächsten Tage sich noch verstärkt. Der Tod trat 28—31^b nach der Tuberkulininjektion ein. In der Bauchhöhle waren ca. 7 ccm eines rötlich-trüben, fadenziehenden Exsudates mit zahlreichen, meist polynukleären Leukoeyten. Das gerollte Netz ist dick mit Eiter bedeckt, in dem noch Inseln des injizierten Gewebes kenntlich sind; er besteht aus polynukleären Leukoeyten und Makrophagen, die hier und da Trümmerphagocytose aufweisen. Bauchorgane bis auf die stark geröteten Nebennieren normal. In beiden Pleura finden sich ca. 1,5 ccm wenig trüben Exsudates mit mäßig vielen polynukleären Leukoeyten. Vollständige Sterilität.

Meerschweinchen 20, vorbehandelt wie No. 19 und nach 24^b mit der gleichen Tuberkulinmenge rechts intrapleural geimpft. Nach der Injektion schwerer, vorübergehender Reizzustand. Nach 7 und 9^b ganz ähnliches

schweres Krankheitsbild wie bei 19, dem der Tod in der Nacht folgt. Im Peritoneum fanden sich 2,5 ccm trüben Exsudates, mit zahlreichen, meist polynukleären Leukocyten. Auf dem gerollten Netze große Mengen fibrinösen Eiters, der sichtbare Reste des injizierten Gewebes enthielt; mikroskopisch besteht er aus polynukleären Zellen und Makrophagen, hier und da mit Trümmerphagocytose. Organe bis auf die gerötete Nebenniere normal. In der rechten Pleura ca. 5 ccm trübroten Exsudates mit mäßig reichlichen, meist polynukleären Leukocyten. Die Lunge ist vielfach mit zarten Fibrinablagerungen bedeckt. Auf der linken Seite ähnliches, weniger reichliches Exsudat. Vollständige Sterilität.

Meerschweinchen 21 erhielt 11 ccm Serum, das von den tuberkulösen Tieren No. 17 (frisch) und 10 (28^b alt) herkam, ip. und 24^b später 0,6 ccm Tuberkulin ebenfalls ip. War nach 4^b etwas krank, erholte sich rasch und blieb munter.

Meerschweinchen 22, vorbehandelt ip. mit normalen Organen und Tuberkelbacillen, 24^b später mit 0,6 ccm Tuberkulin ip. injiziert, zeigte außer der vorübergehenden Peritonealreizung etwa 3^b lang etwas Krankheit, erholte sich bald. Genau so verhielt sich

Meerschweinchen 23, das bei der gleichen Vorbehandlung nach 24^b 0,6 ccm Tuberkulin rechts intrapleural erhalten hatte.

Um beständige Wiederholungen zu vermeiden, sei der Verlauf der Impfungen und der Sektionsbefund der nach Vorbehandlung und Tuberkulininjektion gestorbenen Tiere im Zusammenhange erwähnt. Die Injektion tuberkulöser wie normaler Organe, die immer intraperitoneal vorgenommen wurde, wurde ohne Schaden vertragen; höchstens Druckempfindlichkeit des Bauches und struppiges Aussehen trat ein, das nach wenigen Stunden einer Erholung folgte. Natürlich dürfen die Organe keine fremden Bakterien enthalten, die sich sonst sehr leicht entwickeln und zu infektiöser Peritonitis führen. Deshalb ist es durchaus angezeigt, sich durch eine Kapillarentnahme von dem Zustande der Bauchhöhle zu überzeugen, sobald ein Tier auf die Organinjektion hin Krankheit zeigt. Mit Ausnahme eines Versuches (Versuch V) wurden die Experimente durch diese Zufälle nicht gestört, wohl aber war es nicht möglich, tuberkulöses Gewebe vom Menschen zu untersuchen, da das bisher zur Verfügung stehende Leichenmaterial (Lungentuberkulose) zu Sekundärinfektionen führte.

Als Tuberkulin wurde ausschließlich das in Originalfläschchen zu 1 ccm käufliche Höchster Präparat verwendet, das die Nummern 31 und 32 hatte, einige wenige Versuche

betrafen auch die Tuberkelbacillenemulsion von Höchst (Bezeichnung 16. November 08). Die intraperitoneale Injektion war bei allen Tieren von einer sofort eintretenden heftigen, aber rasch vorübergehenden Peritonealreizung gefolgt, die auch einer, gelegentlich als Kontrolle verwendeten 35-proz. Glycerinbouillon zukam. In der Regel sind danach sowohl die mit tuberkulösen als die mit normalen Organen vorbehandelten Tiere etwas krank, während aber die letzteren sich bald erholen, tritt meist nach 3 Stunden bei ersteren ein schweres Krankheitsbild auf. Die Tiere sitzen ruhig mit gestäubtem Haar, zeigen durch starke Druckempfindlichkeit des Abdomens ihre Peritonitis an und werden matt, so daß sie, auf die Seite gelegt, sich nur mühsam aufrichten können. Die Schwäche nimmt zu, so daß sie schließlich auf der Seite liegen bleiben. Der Tod erfolgt dann entweder bald oder erst nach Stunden, ohne Krämpfe. Der Sektionsbefund war stets derselbe. In der Bauchhöhle waren einige Kubikzentimeter eines mäßig trüben, öfter rötlichen Exsudates angesammelt, das mehr minder zellreich war. Polynukleäre Leukocyten überwogen meist, doch war gelegentlich auch eine stärkere Beteiligung von Lymphocyten zu finden. Am Netze waren stets reichliche Mengen krümeligen, fibrinösen Eiters abgelagert, ein oder mehrere Klumpen ebensolchen Eiters lagen oft frei zwischen den Därmen. Sie enthielten offenbar das injizierte Gewebematerial, manchmal schon makroskopisch erkennbar und bestehen überdies aus polynukleären Leukocyten und Makrophagen, die öfters Trümmerphagocytose zeigen. Die Organe zeigen nichts Besonderes, nur die Nebennieren fielen oft durch starke Rötung, selten durch Hämorrhagien auf. Die Pleuren enthielten bei intraperitonealer und subkutaner Tuberkulininjektion wenig Flüssigkeit mit geringem Zellgehalt, bei intrapleuraler Injektion bildete sich Exsudat in reichlicher Menge aus. Selbstverständlich wurde die Sterilität der Exsudate, des Eiters etc. in jedem Falle geprüft, wo sie nicht vollständig vorhanden war, ist dies ausdrücklich erwähnt. Was die mit dem tuberkulösen Gewebe injizierten Tuberkelbacillen betrifft, so konnten solche wohl oft aufgefunden werden, aber nicht ohne Mühe und jedenfalls war eine besondere Vermehrung nie erfolgt.

IV. Das tuberkulöse Material wird von Meerschweinchen 24 geliefert, welches vor ca. 2 Monaten mit minimalen Mengen des Stammes Msp. vaginal geimpft war. Das verblutete Tier zeigte beiderseits geschwollene Leisten- und Achseldrüsen, weiter teilweise verkäste Retroperitoneal- und Portaldrüsen. Milz um das Vielfache vergrößert, ganz von kleineren und größeren Tuberkeln durchsetzt. Leber gelb, stark infiltriert. Milz und Stücke der Leber werden für sich durch Drahtnetz gepreßt; erstere liefert einen saftreichen Brei, von dem 4 ccm verwendet, 4 ccm Leberbrei werden zur leichteren Injektion mit 2 ccm NaCl-Lösung versetzt. Ueberdies werden die tuberkulösen Drüsen, die sehr hart sind, unter Zusatz von 2 ccm NaCl-Lösung zerrieben; beim Durchpressen durch Draht ergeben sich 2,6 ccm Flüssigkeit.

Die Kontrollorgane liefert das verblutete, hochgradig pferdeserum-anaphylaktische Meerschweinchen 25; es werden Milz und Stücke von Leber verwendet, die 3,5 ccm Brei liefern, dem 2 ccm NaCl-Lösung mit ca. 12 mg Tuberkelbacillen Msp. zugesetzt werden.

Meerschweinchen 26 erhielt 2 ccm tuberkulösen Leberbreies (in 3 ccm Flüssigkeit) und 20^h später 0,6 ccm Tuberkulin ip. Gewöhnlicher Krankheitsverlauf; Tod 26^h nach der Tuberkulininjektion. Typischer Befund.

Meerschweinchen 27, vorbehandelt wie 36, erhielt die gleiche Menge Tuberkulin rechts intrapleural. Zunächst typischer Verlauf. Das Tier ist am Abend sehr elend und lebt ca. 2 Tage. Um diese Zeit tritt ein Rectumprolaps auf. Der Tod tritt 76^h nach der Tuberkulininjektion ein. Der Sektionsbefund ist zwar der gewöhnliche, es finden sich aber sowohl im Peritonealexsudate, als in den Fibrinmassen eine mäßige Anzahl coliähnlicher Stäbchen.

Meerschweinchen 28 erhielt 2 ccm tuberkulösen Milzbreies und 20^h später 0,6 ccm Tuberkulin ip. Typischer Krankheitsverlauf, Tod in der Nacht. In dem sonst typischen Sektionsbefunde fällt auf, daß die relativ nicht sehr zahlreichen Leukocyten des Peritonealexsudates überwiegend von Lymphocyten gebildet werden.

Meerschweinchen 29, vorbehandelt wie 28, erhielt die gleiche Tuberkulinmenge rechts intrapleural. Gewöhnlicher Krankheitsverlauf. Tod 34^h nach der Tuberkulininjektion, sehr viel Exsudat in beiden Pleuren.

Meerschweinchen 30 erhielt 2,6 ccm verdünnten Saftes tuberkulöser Drüsen und 20^h später 0,6 ccm Tuberkulin ip. Krankheitserscheinungen treten nur rudimentär auf und führen bald zu vollständiger Erholung.

Meerschweinchen 31 erhielt 3,5 ccm normalen Organbreies mit 12 mg Tuberkelbacillen und 20^h später 0,6 ccm Tuberkulin ip. Bleibt ohne besondere Krankheit.

V. Das tuberkulöse Material wird von den 2 Meerschweinchen 33 und 34 geliefert, welche vor ca. 3 Wochen mit dem Urin eines Falles von menschlicher Blasen-tuberkulose zu diagnostischen Zwecken geimpft waren. Ihre Tuberkulose beschränkte sich auf Drüsenerkrankung und Vergrößerung der von Tuberkeln durchsetzten Milz. Nur das eine Tier hatte überdies

vereinzelte Herde in der Leber. Verwendet wurden beide Milzen und die Drüsen, die zusammen 4 ccm Brei gaben.

Das Kontrolltier 35 war ein normales Meerschweinchen, von dem die Milz und Stücke der Leber verwendet wurden. Dem erhaltenen Brei (6 ccm) wurden 2 ccm einer Aufschwemmung des Tuberkulosestammes Msp. (ca. 20 mg) zugesetzt.

Meerschweinchen 36 erhielt 2 ccm des Breies tuberkulöser Organe und 27^a später 0,6 ccm Tuberkulin ip. Typisches Einsetzen der Symptome, dann protrahierter Verlauf, der nach 51^a zum Tode führt. Gewöhnlicher Sektionsbefund. Vollkommene Sterilität.

Meerschweinchen 37, vorbehandelt wie 36, erhielt 24^a später 0,6 ccm Tuberkulin subkutan unter die Bauchhaut. Es entfaltete sich sehr rasch ein weiches Oedem, das den ganzen Bauch einnahm, sich später abgrenzte und zu einer Nekrose führte. Etwa 5^a nach der Injektion war das Tier deutlich krank, ähnlich wie 36, erholte sich aber am nächsten Tage ganz, das Oedem war abgegrenzt, führte später zur Hautnekrose.

Meerschweinchen 38 erhielt 3,5 ccm normalen Organbrei mit Bacillen und nach 24^a 0,6 ccm Tuberkulin ip. Das Tier zeigte nach Vorübergang der Peritonealreizung nichts Besonderes, wurde aber am Abend krank, wobei das Vorhandensein eines knisternden Hautödems festgestellt wurde. Es starb ca. 50^a nach der Tuberkulininjektion, zeigte unter der Haut die Zeichen der Gasphlegmone, im Peritoneum mißfarbiges, übelriechendes Exsudat mit massenhaften anaeroben Stäbchen.

Meerschweinchen 39, vorbehandelt wie 38, erhielt 24^a später 0,6 ccm Tuberkulin subkutan. Der Verlauf war ähnlich wie bei No. 37, in der Schnelligkeit der Oedembildung war kaum ein Unterschied zu sehen, nur die Resorption war schneller und Nekrose der Haut trat nicht ein. Besondere Krankheit war nicht zu bemerken.

VI. Das tuberkulöse Material stammte von Meerschweinchen 40, welches wie No. 24 infiziert worden war und beim Verbluten fast den genau gleichen Sektionsbefund ergab. Verwendet wurden die Milz und große Stücke der ganz tuberkulös infiltrierten Leber, welche zusammen durch Drahtnetz gepreßt ca. 11 ccm Brei ergaben, welcher ohne Verdünnung und ganz frisch zur Anwendung kam.

Meerschweinchen 41, welches mit Pferdeserum anaphylaktisiert war, lieferte die Kontrollorgane; Milz und Leber wurden durch Draht gepreßt, und zu 7 ccm Brei wurde 1,5 ccm einer Aufschwemmung von 25 mg des Tuberkulosestammes Msp. gesetzt.

Meerschweinchen 42 erhielt 2 ccm tuberkulösen Organbreies ip. und 20^a später 0,6 ccm unverdünnten Tuberkulins ebenfalls ip. Gewöhnlicher, aber sehr rascher Krankheitsverlauf, der schon 9^a nach der Tuberkulininjektion zum Tode führt. Gewöhnlicher Sektionsbefund.

Meerschweinchen 43, vorbehandelt und nachinjiziert wie 42, nur war das Tuberkulin verdünnt in 3 ccm Gesamtflüssigkeit (0,6 ccm Tuberkulin und 2,4 ccm NaCl-Lösung). Gewöhnlicher Verlauf. Tod 11—16^a nach der Tuberkulininjektion. Gewöhnlicher Sektionsbefund.

Meerschweinchen 44, vorbehandelt wie 42, erhielt 20^a später 0,6 ccm Tuberkulin + 0,4 ccm NaCl-Lösung subkutan. Das Tier bleibt, während sich sehr rasch Hautödem ausbildet, zunächst munter. Nach 7^b ist ein weiches Oedem über den ganzen Bauch aufgetreten, das Tier ist ruhig geworden, hat gestäubtes Haar. Am nächsten Tage ist das Oedem geblieben, das Tier ist mehr krank, kühl, hat häufiges Zittern und stirbt 36^b nach der Tuberkulininjektion. Die Sektion ergibt ein starkes, zentral eitriges Oedem, in dessen Saft sich ziemlich reichlich Stäbchen finden. Im Peritoneum sind 4 ccm Exsudat von gewöhnlicher Beschaffenheit, in dem Bakterien nicht zu finden sind. Ebensowenig in den Fibrinklumpen am Netze und den ca. 2 ccm Exsudat der Pleura.

Meerschweinchen 45, vorbehandelt wie 42, erhielt 20^a später 0,2 ccm Tuberkulin + 0,8 ccm NaCl-Lösung subkutan. Das Tier bleibt munter, es bildet sich ein begrenztes Oedem aus. Nach 7^b scheint eine gewisse Krankheit da zu sein, die aber am nächsten Tage völliger Erholung weicht. Das Oedem verschwindet.

Meerschweinchen 47 erhielt ip. 3 ccm Brei von normalen Organen + Tuberkelbacillen und 20^a später 0,6 ccm unverdünnten Tuberkulins ip. Bleibt ohne auffallende Krankheit.

Meerschweinchen 48, vorbehandelt wie 46, erhält nach 20^a 0,2 ccm Tuberkulin + 0,8 ccm NaCl-Lösung subkutan. Oedem entwickelt sich ganz ähnlich wie bei 45 und ist am nächsten Tage fast resorbiert. Keine sonstigen Krankheitserscheinungen.

Meerschweinchen 46 erhielt 2 ccm Brei tuberkulöser Organe und 20^a später 1 ccm Tuberkelbacillenemulsion Höchst ip. Es entwickelt sich der gleiche Symptomenkomplex wie nach Tuberkulin. Der Tod erfolgt nach 28^b mit dem gewöhnlichen Befunde.

Meerschweinchen 49 erhielt 3 ccm Brei von normalen Organen + Tuberkelbacillen und 20^a später eine Injektion wie 46 ip. Bleibt (abgesehen von der starken Peritonealreizung nach der Injektion) ohne Krankheit.

VII. Das tuberkulöse Material liefert Meerschweinchen 50, welches vor ca. 2¹/₂ Monaten mit dem Tuberkulosestamm P in sehr geringer Menge subkutan geimpft war. Das verblutete Tier zeigte allgemeine Tuberkulose. Verwendet wurde die riesig vergrößerte, teils von einzelnen, teils von großen konfluerten Herden durchsetzte Milz, sowie die Leber, die ebenfalls konfluerte, mächtige Herde hatte. Es ergaben sich beim Durchpressen durch Drahtnetz 8 ccm Brei, der als solcher zur Anwendung kam.

Die Kontrollorgane lieferte ein sehr altes Zuchtmeerschweinchen 51, dessen Organe atrophisch, sonst normal waren. Milz und Leberstücke lieferten 7 ccm Brei, dem 2 ccm einer Aufschwemmung von ca. 30 mg Tuberkulosekultur P zugesetzt wurden.

Meerschweinchen 42 erhielt 2 ccm tuberkulösen Brei mit 0,6 ccm Tuberkulin vermischt ip. Die Peritonealreizung ging bald vorüber, aber ihr schloß sich unmittelbar das gewöhnliche Krankheitsbild an, das nach 8^b so schwer war, daß das Tier auf der Seite liegen blieb. In diesem Zu-

stande lebte es noch bis 28^b nach der Injektion. Der Sektionsbefund war der gewöhnliche, die injizierten Organteile waren in feuchten und lockerkrümeligen fibrinösen Eiter am Netze eingehüllt.

Meerschweinchen 53 erhielt 2 ccm tuberkulösen Organbreies ip. und 8^b danach 0,6 ccm Tuberkulin ip. Nach 6^b war ein schweres Krankheitsbild ausgebildet, das nach 15^b zum Tode führte. Gewöhnlicher Sektionsbefund.

Meerschweinchen 54, vorbehandelt wie 53, erhielt erst nach 28^b 0,6 ccm Tuberkulin ip. Es bildete sich der bekannte Symptomenkomplex aus, der nach 9^b so schwer war, daß das Tier unfähig war, sich aufzurichten. Dennoch besserte sich der Zustand und führte zur langsamen Erholung.

Meerschweinchen 55, vorbehandelt wie 54, erhielt nach 28^b 0,6 ccm Tuberkulin subkutan. Es kam zu sehr rascher Ausbildung von Oedem; der Allgemeinzustand war nach 7 und 9^b schlecht, doch folgte schon am anderen Tage Erholung. Das Oedem bildete sich zurück.

Die Kontrollmeerschweinchen 46 und 57, welche mit den normalen Organen und Tuberkelbacillen gleichzeitig und nach 28^b 0,6 ccm Tuberkulin erhalten hatten, überlebten ohne besondere Erscheinungen; Meerschweinchen 58, welches nach gleicher Vorbehandlung 28^b später 0,6 ccm Tuberkulin subkutan erhalten hatte, wies ebenfalls starke Hautödembildung auf, die zur Resorption kam, ohne daß der Allgemeinzustand in auffälliger Weise alteriert war.

Durch diese Versuche ist die Möglichkeit eine Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit von kranken auf gesunde Tiere nachgewiesen. Die Empfindlichkeit wird dabei eine so hohe, daß schon eine einzige Injektion von wenig mehr Tuberkulin, als die seinerzeit konventionell zur Tötung bereits tuberkulöser Tiere angenommene Menge von 0,5 ccm, ausreicht, um nach schwerer Krankheit den Tod kleiner Meerschweinchen herbeizuführen.

Die Kontrollversuche zeigen, daß weder normale Organe, noch solche von andersartig anaphylaktisierten Tieren weder allein, noch in Kombination mit relativ sehr großen Mengen von Tuberkelbacillen aus Kulturen ein gleiches Ereignis herbeiführen können. Es ist also die Uebertragbarkeit der Tuberkulinempfindlichkeit an die Einführung spezifisch tuberkulös veränderten Gewebes gebunden.

Wie schon oben bemerkt wurde, gelingen die Versuche um so besser, je mehr und je hochgradiger tuberkulöses Organmaterial man den Versuchstieren zuführen kann; Organe, welche nur erst geringe Tuberkeleruption zeigen, sind auch für die Uebertragung der Empfindlichkeit wenig wirksam.

Dagegen scheint das Organ, welches man benutzt, weniger von Bedeutung zu sein: wenn nur die tuberkulöse Gewebsveränderung genügend ausgebildet ist und man genug Material zur Verfügung hat, macht es kaum einen Unterschied, ob man z. B. Milz oder Leber verwendet.

In der Regel wurde die Tuberkulininjektion etwa 20 Stunden nach der Vorbehandlung mit den tuberkulösen Organen gegeben, mit gutem Erfolge. Der VII. Versuch zeigt aber, daß die Empfindlichkeit auch auftritt bei gleichzeitiger Injektion von Tuberkulin und einer solchen, welche der Organinjektion nach 8 Stunden folgt. In diesen Versuchen scheint sogar die Empfindlichkeit bei einem Intervall von 28 Stunden zwischen Vorbehandlung und Tuberkulineinspritzung abgenommen zu haben. Doch ist zu bemerken, daß dieser Versuch mit einem anderen Stamme von Tuberkelbacillen ausgeführt ist, als die Mehrzahl der übrigen Experimente. Eine genauere Feststellung dieser Verhältnisse war vorläufig aus Materialmangel nicht möglich, doch wäre es nicht unwahrscheinlich, daß in allen Fällen die Möglichkeit einer Uebertragung der Empfindlichkeit nachläßt und aufhört, was leicht verständlich ist, wenn man bei den Sektionen sieht, welche Mengen von Leukocyten das injizierte tuberkulöse Gewebe in kurzer Zeit einhüllen und wahrscheinlich durch Phagocytose (zunächst eine solche der Makrophagen) unschädlich machen.

Im übrigen hat sich herausgestellt, daß die Uebertragung durch Gewebe, das von verschiedenen Bacillenstämmen tuberkulös verändert war, in derselben Weise möglich war, so daß das Gelingen der Versuche von der Beschaffenheit des verwendeten Bacillenstammes nicht abhängig sein dürfte.

Die schweren Folgen der Tuberkulininjektion für passiv empfindlich gemachte Meerschweinchen traten am schönsten hervor, wenn sowohl die tuberkulösen Organe, wie das Tuberkulin an der gleichen Stelle, also meist intraperitoneal, gegeben wurden. Doch wurden auch günstige Resultate bei der Einspritzung in zwei verschiedene seröse Höhlen erzielt, und wenigstens in einem Falle gelang es ¹⁾ auch durch subkutane

1) Helmholtz (diese Zeitschrift, Bd. 3, No. 4) gibt an, die Pirquet'sche Kutanreaktion bei Meerschweinchen mit Serum tuberkulöser Tiere übertragen zu haben.

Tuberkulinanwendung bei intraperitonealer Vorbehandlung den Tod des Tieres herbeizuführen ¹⁾. Dagegen ging die Hoffnung, eine besondere Reaktion passiv empfindlicher Tiere durch subkutane Tuberkulineinspritzung zu finden, wenigstens in der bishen geübter Methodik, nicht in Erfüllung, da auch normale Tiere mit der Ausbildung von Oedem reagierten.

Es ist nicht leicht, die Versuche jetzt schon zu deuten, wenngleich sich vermuten läßt, daß ihre richtige Erklärung zu Fortschritten in dem Verständnisse der Tuberkulinreaktion und damit der Tuberkuloseinfektion überhaupt, führen könnte. Sicher ist das eine, daß spezifisch verändertes Gewebe allein zu passiver Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit führt. Mit Blut, beziehungsweise Serum von infizierten Tieren konnte ein Resultat nicht erzielt werden, weder in früheren Versuchen, noch in einem diesmal angestellten Experimente (Meerschweinchen 21), bei dem sehr große Mengen von Serum von Tieren, deren Organe die Empfindlichkeit zu übertragen vermochten, zur Anwendung kamen. Das stimmt mit den Ergebnissen von Friedemann überein, während Yamanoichi positive Resultate erzielt hatte. Allerdings handelte es sich bei ihm um eine Uebertragung mit artfremdem Serum, und zwar auf Kaninchen, so daß seine Ergebnisse mit den vorliegenden nicht ohne weiteres zu vergleichen sind.

Nach dem eingangs erwähnten Gedankengange, der ja die mitgeteilten Studien veranlaßt hat, erscheint allerdings die Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit mit Serum als möglich und es fragt sich, inwiefern der Versuchsausfall den Gedanken rechtfertigt. Besteht die Empfindlichkeit einfach in der Möglichkeit, das Tuberkulin festzuhalten, das sonst beim normalen Tiere als ein nicht zum Angriff befähigter Fremdkörper einige Zeit im Organismus bleibt, um dann schließlich ausgeschieden zu werden, oder wird das Tuberkulin im tuberkulösen oder passiv empfindlichen Tiere in eine neue, akut giftige Modifikation umgewandelt?

1) Die bakterielle Infektion, die in diesem Falle in Oedem bei der Sektion festgestellt wurde, dürfte das Resultat nicht trüben, da sie über das Oedem nicht vorgeschritten war und mit dem Tode des Tieres sicher nicht im Zusammenhange stand.

Wassermann und Bruck legten sich bei ihren Versuchen, die Tuberkulinwirkung zu erklären, zwei Fragen als hauptsächlich vor: 1) Warum zieht ein irgendwo im Körper befindlicher tuberkulöser Herd auch kleinste Mengen von Tuberkulin aus dem ganzen Kreislaufe an? 2) Warum folgt dann eine Erweichung des Herdes? Dabei hatten sie vorwiegend die lokale Tuberkulinwirkung, und zwar beim Menschen, im Auge, während sie die Allgemeinreaktion, das Fieber, aus einer Kombination der überhaupt fiebererzeugenden Wirkung von Bakterienpräparaten und der spezifischen Resorption von Stoffen erklärten, welche bei einer Verbindung von Bacillensubstanz, Antikörper und Komplement löslich werden.

In den experimentellen Uebertragungsversuchen beim Meerschweinchen liegen die Verhältnisse offenkundig ganz anders und die Fragestellung muß daher auch eine ganz andere sein. Hier tritt die Allgemeinreaktion in Form einer tödlichen Vergiftung, die nicht mit Fieber, sondern mit Temperatursenkungen einhergeht, gänzlich in den Vordergrund. Von einer lokalen Tuberkulinwirkung ist nichts zu sehen und kann auch nicht wohl etwas zu bemerken sein.

Die obige Fragestellung bleibt also entscheidend. Uebereinstimmend mit Wassermann und Bruck muß die Annahme gemacht werden, daß eine besondere Affinität zwischen Tuberkulin und tuberkulösem Gewebe vorhanden sein muß, wobei aber statt von Antikörpern von Rezeptoren für ersteres gesprochen werden soll, die nur das letztere besitzt. Solche entstehen im tuberkulösen Gewebe und bleiben in ihm aktionsfähig, wenn es dem getöteten, infizierten Tiere entnommen und einem normalen injiziert wird, was also nichts anderes als eine Uebertragung von Tuberkulinrezeptoren bedeutet.

Die Schwierigkeiten beginnen erst jetzt. Die zunächst nur am erkrankten Gewebe haftenden Rezeptoren könnten sich von demselben loslösen und in den Kreislauf eintreten. Dadurch wird Tuberkulin gebunden, wozu ein gesundes Tier sonst nicht die Fähigkeit hat. Ein ins Blut übergegangener Rezeptor niederster Ordnung (nach Ehrlichs Ausdrucksweise) müßte den Charakter eines Antitoxins haben, er würde das Tuberkulin auffangen und sein Herantreten an irgend-

welche empfindliche Zellen hindern. Die schwere Vergiftung würde nur zu erklären sein, wenn der abgelöste Rezeptor den Charakter eines solchen III. Ordnung hat, der mit einer seiner Gruppen das Tuberkulin auffängt, mit der anderen es an empfindliche Zellen heranbringt.

Es könnte aber die bloße Verbindung von Tuberkulin und Rezeptor selbst giftig sein, womit ein Uebergang zu der zweiten Erklärungsmöglichkeit gefunden wäre, welche die Vergiftung auf eine Modifikation des Tuberkulins durch das tuberkulöse Gewebe, oder vielleicht des letzteren durch das erstere zurückführt. Bereits Wassermann und Bruck nehmen etwas Aehnliches bei ihrem Erklärungsversuche des Reaktionsfiebers an, ohne allerdings einen klaren Ausdruck zu geben, der freilich beim gegenwärtigen Stande der Kenntnis auch nicht so leicht aufzufinden wäre.

Schließlich bliebe noch an eine Addition zu denken, entsprechend der Additionshypothese, welche Babes entworfen hat und nach der das im tuberkulösen Gewebe enthaltene Tuberkulin + dem injizierten das Maß dessen überschreiten würde, was auch ein gesundes Tier ertragen kann.

Inwiefern die Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit in das Gebiet der anaphylaktischen Erscheinungen gehört (Löwenstein und Rappaport) und durch die Erforschung dieser beeinflusst werden könnte, läßt sich noch nicht erörtern.

Jedenfalls aber würde die richtige Erklärung der Tatsachen einen Fingerzeig für die Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose geben können. Man kann versuchen, die Entstehung des tuberkulösen Gewebes zu verhindern, was mit einer vollständigen Verhinderung der Ansiedelung der Tuberkelbacillen im Körper gleichbedeutend wäre. Dieses Ziel hat man auf verschiedene Weise, in neuerer Zeit im wesentlichen durch Behandlung mit irgendwie, natürlich oder künstlich abgeschwächten Kulturen, also auf dem Wege Pasteurs erreichen wollen (v. Behring, R. Koch, Levy, Bartel u. a.). Ist aber einmal das tuberkulöse Gewebe ausgebildet, so besteht auch im Körper eine sonst nicht vorhandene Empfindlichkeit gegen die Giftstoffe, welche die Bacillen nach Art des Tuberkulins bilden und welche gewiß für die Tuberkulosekrank-

heit von allergrößter Wichtigkeit sind. Sie müßten antitoxisch bekämpft werden und nur die richtige Erklärung der Tuberkulinempfindlichkeit kann den Weg zu einer richtigen antitoxischen Immunisierung zeigen.

Zusammenfassung.

Es gelingt, normale Meerschweinchen durch Injektion tuberkulösen Gewebes von infizierten Tieren gegen eine gleichzeitige oder nachfolgende Injektion von Tuberkulin empfindlich zu machen. Der Grad der passiv übertragenen Empfindlichkeit hängt von der Menge des injizierten tuberkulösen Gewebes ab.

Nachsatz zur Korrektur. Weitere Versuche haben ergeben:

1) Bei Injektion größerer Mengen tuberkulösen Organbreies (5 ccm) können normale Tiere schon bei einer Tuberkulininjektion von 0,2 ccm sterben.

2) Es ist gelungen, die Tuberkulinempfindlichkeit von Meerschweinchen auch mit tuberkulösem Gewebe von Kaninchen herbeizuführen.

3) Die Injektion tuberkulösen Gewebes, selbst in großen Mengen, ist für bereits tuberkulöse Meerschweinchen unschädlich; das erkrankte Gewebe enthält also an sich kein freies Tuberkulin, überträgt aber die Empfindlichkeit.

4) Das gleiche ist der Fall bei dem Gewebe infizierter Tiere, welche mit Tuberkulin (bis 1,2 ccm) getötet wurden. Auch solches Gewebe enthält kein nachweisbares Tuberkulin, überträgt aber noch immer die Empfindlichkeit auf normale Tiere.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Ueber den Einfluß der Saughyperämie auf den Mäusekrebs.

Von Dr. **Francesco Nassetti** aus Bologna.

Mit 20 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. November 1909.)

Bei der Entwicklung von Geschwülsten wird von verschiedenen Autoren großer Wert auf die aktive Hyperämie gelegt. Durch den Zufluß von Nährstoffen und damit durch die Aktivierung des Zellstoffwechsels soll die Hyperämie jene Zellgruppen zur Wucherung veranlassen, die im embryonalen oder in einem mehr oder minder entwickelten Zustande stehen geblieben, an ihren Funktionen durch spärliche Ernährung verhindert, lange Zeit im Schoße der Gewebe verborgen und unschädlich geweilt haben.

Alle Reize, wie Traumen, physikalische, chemische, bakterielle Einflüsse, die Ribbert als einfache Gelegenheitsursachen einer Geschwulst, die sogenannte Reiztheorie dagegen als bestimmende Ursachen ansieht, sollen gerade durch die von ihnen veranlaßte Hyperämie wirken. In jedem solchen Falle ist aber die Existenz besonderer Neubildungsfähiger Keime unerlässlich, weil an sich auch eine lange und wiederholt einwirkende Hyperämie normale Zellen niemals zu einer atypischen übergreifenden Wucherung veranlassen kann.

Die irritative Entstehung von Geschwülsten ist experimentell auf verschiedenem Wege versucht worden; z. B. durch Injektion von Sudanöl III unter die Haut von Kaninchen (Fischer und Snow), durch Reizung der Salamanderlinse mit Aether (Reinke), der Tiercornea mit Silbernitrat (Schottländer). Aber die Resultate waren immer negativ oder doch sehr unsicher.

Es ist jedoch bisher nicht systematisch versucht worden, experimentell eine einfachere Frage zu prüfen, nämlich den

Einfluß, den eine einfache Hyperämie auf die Wucherung von Zellen mit neoplastischen Eigenschaften ausüben kann.

Beim Menschen sind allerdings einige Heilversuche mittelst Stauung und Saughyperämie an malignen und nichtmalignen Tumoren gemacht worden (Bier, Ritter). Aber die Zahl der behandelten Fälle ist gering, die Resultate sind widersprechend, so daß aus ihnen keine eindeutigen Resultate zu gewinnen sind. Ich möchte hierbei daran erinnern, daß Ritter auf Grund seiner Beobachtungen, die bei etwa zehn meist malignen Tumoren niemals eine Vergrößerung unter der Schröpfbehandlung, sondern zum Teil Verkleinerung, zum Teil Verschwinden ergeben hatten, der Hyperämie jede Reizwirkung auf verborgenes Keimgewebe abspricht. Diese Behauptung ist meiner Meinung nach nicht ganz berechtigt, da Ritter schon an vollkommen entwickelten Neoplasmen experimentiert hat, deren Elemente, Gefäße, Zellen und Stroma, Eigenschaften haben, die sehr weit von denen embryonaler Keime und eben beginnender Tumoren verschieden sein können.

Unter Anwendung der Schröpfbehandlung, deren hyperämische Wirkung bekannt ist, und mit Mäusekrebs als Versuchsmaterial, waren günstigere Bedingungen für diese Untersuchungen gegeben. Man konnte vor oder unmittelbar nach der Ueberimpfung oder direkt an der Neubildung in ihren verschiedenen Altersstadien den Einfluß der Hyperämie auf die Entwicklung dieser speziellen Geschwulst untersuchen.

Ehe ich jedoch auf die Beschreibung der einzelnen Experimente eingehe, möchte ich zunächst folgende Frage kurz besprechen: Welches ist im allgemeinen die Wirkung der Schröpfbehandlung? Nach Beantwortung dieser Frage wird die Deutung der erhaltenen Resultate leichter gelingen.

Die Allgemeinwirkung der Schröpfbehandlung beruht auf ihrer starken Beeinflussung des Blut- und Lymphkreislaufes in dem behandelten Gewebe. Durch Aufsetzen eines Saugglases auf eine Körperstelle und durch die Luftverdünnung in ihm kommt es zu einem Zuströmen des Blutes und der Gewebsflüssigkeiten aus den benachbarten Gebieten. Wegen der Druckverminderung unter dem Saugglase entsteht eine Stauung oder erhebliche Verminderung der Geschwindigkeit des Blut- und Lymphstromes. Die so gebildete Hyperämie, die Bier früher für eine gemischte hielt, ist in Wirklichkeit nur passiv. Trotzdem ist es möglich, die Zirkulation erheblich zu

beschleunigen, Blut und Lymphe an bestimmten Stellen durch wiederholtes Aufsetzen und Abnehmen des Saugglases in erheblichem Umfange zu erneuern, wenn die Pausen zwischen den einzelnen Applikationen einige Minuten betragen. Denn gerade in dieser Zwischenzeit nehmen Blut und Säfte, die vorher angesaugt worden waren, ihren normalen Weg wieder auf, um von neuem Blut und neuer Lymphe bei der folgenden Applikation ersetzt zu werden (Klapp). Bleibt das Saugglas dagegen eine gewisse Zeitlang ohne Unterbrechung am Platze, so entsteht in der Umgebung ein richtiges Stauungsödem, das an und für sich nur eine schwache und unbeständige bakterizide Wirkung besitzt, aber imstande sein soll, eine intensive Phagocytose hervorzurufen (Graff, Joseph).

Auf Grund der obigen Ueberlegungen habe ich nun auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Friedberger eine Reihe von Versuchen unternommen, die mir Antwort auf folgende Fragen geben sollten:

- 1) Hat die Hyperämie durch Schröpfbehandlung Einfluß auf die Wucherung und die Virulenz überimpfter Krebszellen?
- 2) Beeinflußt die Schröpfbehandlung irgendwie die Entwicklung und den Charakter des Mäusekrebses?

Versuchstechnik und Methodik.

Für die Schröpfbehandlung habe ich Sauggläser nach dem Modell von Bier und Klapp benutzt, kleine Glasglocken, die ich je nach der Größe der zu behandelnden Tumoren oder zu hyperämisierenden Gebiete verschieden groß wählte. Die Ansaugung bewirkte ich vorzugsweise mit der Wasserstrahl-luftpumpe, weil sich hiermit besser als mit Gummibällen innerhalb weiter Grenzen der Grad der Luftverdünnung durch Verstellen des Hahnes variieren ließ und außerdem bei einer bestimmten Tierreihe gleichzeitig unter ganz den gleichen Bedingungen gearbeitet werden konnte. In den ersten Versuchen habe ich noch Sauggläser mit Gummibällen verwendet. Aber nachdem ich ihre Mängel erkannt hatte, ging ich bald zur Saugpumpe über.

Vor der Behandlung wurde die betreffende Hautstelle mit Calciumhydrosulfid enthaart, dann ebenso wie die Ränder des Saugglases mit Vaseline eingefettet. Die so vorbereitete Maus wurde auf ein kleines Brett aufgespannt, auf dem ihr Schwanz

und ein Vorderbein so befestigt wurde, daß sich das Tier nicht bewegen konnte.

Die Uebertragung der Tumormassen in die Achselhöhle, die sonst für die Entwicklung besonders geeignet ist, verbot sich hier deshalb, weil an dieser Stelle natürlich die Applikation des Saugglases Schwierigkeit macht. Die Transplantation geschah so, daß der Tumor etwa in der Mitte zwischen Leiste und Achsel zur Entwicklung kam, also an einer Stelle, an der die Schröpfbehandlung an den kleinen Tieren immer leicht ausführbar war. Beim Andrücken der Glasränder und besonders beim mehr oder minder weiten Oeffnen des Hahnes wölbte sich die Haut oder die zu behandelnde Geschwulst in die Glocke vor und legte sich hier an.

In einer Reihe von Versuchen habe ich die Saughyperämie nicht direkt auf die Geschwulst, sondern auf das umgebende Gewebe wirken lassen, und zwar mittelst folgenden einfachen Kunstgriffes. In die Glasglocke (*b*) führte ich eine zweite, kleinere, von nahezu konischer Form und mit vollkommen geschlossener Spitze genau von der Größe des Tumors ein. Die fein ausgezogene Spitze war durch die obere Oeffnung des äußeren eigentlichen Saugglases durchgeführt und berührte eben die Wand des leicht gekrümmten Rohransatzes, der die Verbindung mit der Pumpe herstellte. Die innere, am Ende geschlossene Glocke muß so tief sein, daß die Ränder ihrer Oeffnung in derselben Ebene wie die der äußeren liegen. So war es leicht, zu erreichen, daß der Tumor vor der Saugwirkung geschützt ganz unter der inneren Glocke lag und sich auf die Ansaugung hin zwischen dem äußeren Rand des inneren und inneren Rand des äußeren Glases

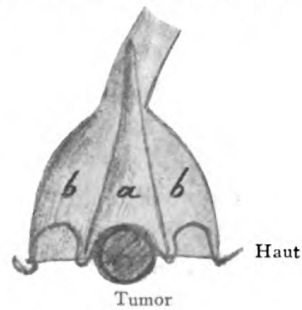


Fig. 1.

nur die den Tumor umgebende Zone vorwölbte. Ich stelle in Fig. 1 die Art dieser einfachen Vorrichtung zu besserem Verständnis dar: In der Mündung der inneren Glocke (*a*) liegt ein kleiner Tumor, seitlich davon sieht man zwei Hautfalten infolge der Saugwirkung nur in den Raum *b* eintreten. Mit diesem Hilfsmittel kann der Tumor nur von einer „indirekten Hyperämie“ beeinflusst werden, wie diese Applikations-

weise im Gegensatz zu der vorher beschriebenen „direkten Hyperämie“ genannt sei.

Mit der einen oder anderen Methode behandelte ich täglich die verschiedenen Tiergruppen, etwa 20—25 Minuten lang, nur bei wenigen wurde die Anwendung des Saugglases bis zu 30—40 Minuten ausgedehnt. Während einer Sitzung wurde das Saugglas wiederholt abgenommen und aufgesetzt, wie ich es in der Bierschen Klinik bei der Behandlung von Furunkeln, Panaritien usw. gesehen habe. Ich selbst ließ nach einer Saugbehandlung von einer oder höchstens 2 Minuten Pausen von etwa 1 Minute folgen. Dieses Verfahren wurde an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen, und zwar etwa 8—10 Tage lang etwa wiederholt. Es wurden ebensoviel geimpfte Tiere als Kontrollen behandelt. Auch die Vergleichstiere wurden mit Calciumhydrosulfit enthaart. Natürlich wurde mit größter Sorgfalt die Aspirationsstärke reguliert und bei den Mäusen derselben Serie möglichst gleich gehalten. Ferner wurden die Tiere, besonders die mit großen oder ulcerierten Tumoren behafteten, isoliert gehalten, um zu vermeiden, daß die Tiere gegenseitig durch Bißverletzungen die Entwicklung der Tumoren beeinflussen.

Die Schröpfbehandlung wurde zu verschiedenen Zeiten angewendet. Nämlich a) etwa eine Woche lang vor der Impfung an der Stelle, wo diese stattfinden sollte; b) gleich nach der Impfung; c) auf dem kleinen neu gebildeten Tumor von dem Tage an, an dem er sich deutlich palpieren ließ; d) an schon gut entwickelten Geschwülsten von Erbsen- bis gut Kirschengröße und von verschiedenster Beschaffenheit (gut überhäutete Tumoren, solche mit Ulcerationen, Degenerationen, Eiterungen); e) an Lymphdrüsen mit metastatischen Prozessen oder an Kontinuitätsmetastasen.

Als Versuchstiere benutzte ich hier in Berlin gezogene weiße Mäuse. Die Uebertragung von Tier zu Tier führte ich mit der im Londoner Imperial Cancer Research allgemein benutzten Methode aus, die gute Resultate gibt, weil sie die zu übertragenden Krebszellen möglichst wenig schädigt. Bei der Impfung wurde die Kanüle in die Inguinalgegend eingestochen und im Unterhautbindegewebe soweit vorgeschoben, bis die Spitze den beabsichtigten Punkt erreichte, auf den dann das

Material durch Vorstoßen des Stempels gebracht wurde. Alle diese Maßregeln wurden unter strengster Asepsis ausgeführt. Alle bearbeiteten Tumoren, sowohl die behandelten wie die Kontrollen, wurden nach dem Tode des Tieres makroskopisch, viele auch mikroskopisch auf etwaige Aenderungen der Struktur des Neoplasmagewebes untersucht.

I. Wachstum und Charaktere unseres Mäusekrebses.

Der von mir zu den Experimenten benutzte Mäusekrebs ist der Ehrlichsche No. 34, der uns in dankenswerter Weise von Herrn Geheimrat Ehrlich überlassen worden ist. Seine histologischen Charaktere will ich weiter unten im Zusammenhang mit den histologischen Charakteren der behandelten Tumoren besprechen, um sie übersichtlicher direkt vergleichen zu können.

Der Ausfall der Impfung nach obiger Technik war im Mittel in 95 Proz. positiv, bei einzelnen Tierreihen sogar in 100 Proz. Diese Zahlen beweisen deutlich, daß unsere Impfungsbedingungen sehr günstig waren.

Die Inkubationszeit unseres Tumors, d. h. der Zeitraum zwischen der Impfung und dem Augenblick, wo ein kleines Knötchen eben zu fühlen war, wechselte im Mittel von 8 bis zu 10 Tagen. Natürlich versuchte ich bei jedem Tier festzustellen, ob das kleine neugebildete Knötchen entzündlicher oder neoplastischer Natur war. Um diese Differentialdiagnose zu stellen, deren ich für meine speziellen Experimente bedurfte, mußte die Inkubationszeit und die folgende Entwicklung des Knötchens sorgfältig beachtet werden. Bekanntlich entsteht ja ein entzündlicher Knoten immer in einer kürzeren Zeit als ein echter Tumor, nämlich etwa innerhalb der ersten 5 oder 6 Tage nach der Impfung, wächst dann in kurzer Zeit zu Erbsengröße und verschwindet meist fortschreitend spurlos. Manchmal bleibt jedoch ein derbes Knötchen von Nadelkopfgöße über, das sich bei der mikroskopischen Untersuchung als dichtes, ziemlich zellarmes Bindegewebe erweist. In anderen Fällen entwickelt sich dann, wenn das entzündliche Knötchen beinahe oder ganz verschwunden ist, an seiner Stelle der echte Tumor.

Die weitere Entwicklung unseres Krebses, den man, wie gesagt, im allgemeinen 8–10 Tage nach der Impfung in der Größe eines Hirsekornes fühlen kann, läßt sich im Mittel der Beobachtungen folgendermaßen angeben: Vom 13. bis zum 15. Tage nach der Impfung hat der Tumor Erbsengröße, bis zum 20. Mandel- oder Haselnußgröße, bis zum 30. Kirschengröße. Selbstverständlich kamen verschiedene Ausnahmen vor, wie ohne weiteres ein Blick auf die Tafeln II, IV, VI, X lehrt, die die Entwicklung der Geschwülste an Kontrollmäusen darstellen.

Die wachsende Neubildung nahm die verschiedensten Formen der Entwicklung an und zeigte auch häufig die regressiven Metamorphosen, wie sie beim experimentellen Mäusecarcinomen bekannt sind.

Häufig machte der Tumor Metastasen in den Leisten- und Achseldrüsen.

II. Beobachtung über Entwicklung und Wachstum der Geschwülste.

Zu besserer Veranschaulichung habe ich Bildung und Wachstum der Geschwülste, die bei gleichem Ursprung und bei gleichen Eigentümlichkeiten eine identische Behandlung erfuhren oder als Kontrollen dienten, tabellarisch dargestellt. Die Orientierung in diesen Tabellen ist leicht. Einige enthalten die Dauer der Schröpfbehandlung, alle enthalten das Impfdatum und die betreffende Größe und besondere Form mit eventuellen Läsionen (Geschwüre, Krusten), die ich bei der Prüfung an den Geschwülsten jeweilig feststellte. Hierbei ergibt sich leicht aus dem Vergleich der Kontrolltumoren mit den geschröpften die etwaige Beeinflussung, die die Behandlung auf diese gehabt hat.

Die Kontrolltumoren sind auf diesen Tabellen mit weiten Quadraten in folgender Weise bezeichnet, während die behandelten oder auf hyperämischer Region gewachsenen Geschwülste mit einer einfachen Konturlinie bezeichnet sind.

Die Schorfe und nekrotischen Zonen werden durch kleine Schraffierung dargestellt, die Geschwüre durch eine vollständig schwarze Zeichnung. Das Zeichen † bezeichnet den Tod des Tieres. Ein kleiner Pfeil bei einem von zwei benachbarten Tumoren besagt,



daß nur dieser der Schröpfbehandlung unterworfen wurde . Der Buchstabe M innerhalb eines Tumors bedeutet, daß dieser als Metastase des anderen zu betrachten ist. Endlich stellen die stärkeren senkrechten Linien in den Tafeln die Grenzen der Hyperämiedauer dar.



Da die Schröpfbehandlung zu verschiedenen Zeitpunkten angewendet worden ist, werde ich die Beschreibung entsprechend anordnen.

A. Hyperämisierung vor der Verimpfung.
(Tafel I und II.)

Ein Vergleich der Tafeln I und II (Kontrollen) ergibt sofort eine verschiedene Entwicklung der beiden Tumorserien. Vor allem bemerkt man eine allgemeine Verzögerung im

	13. III.	20. III.	28. III.	30. III.	2. IV.	8. IV.	15. IV.	30. IV.
1					○	○	○	○
2					○	○	○	+
3					-	-	-	-
4					-	-	-	-
5					-	-	-	-
6					○	○	○	○
7					○	○	○	○
8					-	-	-	-
9					-	-	-	-
10					○	○	○	○

Tafel I.

Auftreten der Neubildung um einige Tage. Am 28. März, also 8 Tage nach der Impfung, waren schon an 6 Kontrollmäusen kleine hirsekorngroße Knötchen zu fühlen, während bei den geschröpften Tieren keine Spur von Geschwulst bemerkbar war. Bei diesen erschienen erst am 30. März 3 Knoten und vom 30. März bis zum 2. April 2 weitere.

	13. III.	20. III.	28. III.	30. III.	2. IV.	8. IV.	15. IV.	30. IV.
1			-	o				+
2			o	o				
3			o	o			+	
4			o	o	+			
5			-	o			+	
6			o	o			+	
7			o	o				+
8			-	o		+		
9			o	o				
10			-	-	o			

Tafel II.

Gleichzeitig mit diesem verspäteten Auftreten bieten diese Tumoren ein etwas verzögertes Wachstum, besonders in der ersten Periode. In der Tat besteht am 15. April ein gewisser Größenunterschied zwischen den Geschwülsten, und noch am 30. April, also einen Monat nach der Impfung, erreicht keiner der 5 Tumoren der Tafel I die Größe der überlebenden Kontrollen No. 2 und 9. Die Mortalität der Kontrolltiere erscheint größer als die der behandelten. Eine weitere, vielleicht nicht

bedeutungslose Tatsache ist, daß bei vier von den behandelten Tieren (3, 4, 5, 9 auf Tafel I) die Impfung vollständig negativ verlief, während sie bei allen Kontrollen positiv ausfiel.

B. Hyperämisierung unmittelbar nach der Impfung.

(Tafel III—IV, V—VI.)

Die Resultate berühren sich mit denen der vorigen Gruppe. Auch hier verspätet sich in beiden Reihen behandelter Tiere

Nr.	20. III.	28. III.	30. III.	2. IV.	8. IV.	15. IV.	30. IV.
1		-	-	-	-	-	-
2		-	-	-	-	-	-
3		-	-	o	o	o	o
4		-	-	-	o	+	o
5		-	o	o	o	o	o
6		-	-	-	o	+	o
7		-	-	-	o	o	o
8		-	-	-	-	-	-
9		-	o	o	o	o	o
10		-	-	-	o	o	+

Tafel III.

(Tafel III und V) die Bildung des Tumors um einige Tage. Es findet sich ferner eine ausgesprochene Verzögerung der weiteren Entwicklung im Jugendstadium der Geschwulstmasse, wogegen später (am 20. Tage nach der Impfung) kräftige Ent-

wicklung zu konstatieren ist. Hiervon können wir uns aus dem Vergleich der Tafel III und IV, V und VI überzeugen. Aus den ersten beiden ergibt sich, daß am 8. April zwischen beiden Geschwulstserien ein ausgesprochener Größenunterschied bestand, daß dieser am 15. April verringert war, und daß schließlich am 30. April die Tumoren der einen Reihe mit denen der anderen gleiche Größe haben. Dasselbe, nur

N.	20. III.	28. III.	30. III.	2. IV.	8. IV.	15. IV.	30. IV.
1		•	•	•	•	+	
2		•	•	•	•	•	+
3		•	•	•	•	•	•
4		•	•	•	+		
5		-	•	•	•	•	•
6		-	•	•	•	•	+
7		-	-	-	-	-	-
8		-	•	•	•	•	•
9		•	•	•	+		
10		•	•	•	•	•	+

Tafel IV.

noch deutlicher, ergibt sich bei den Mäusen der Tafel V und VI.

Auch zeigt sich in allen 4 Versuchsreihen, daß auf die behandelten Mäuse mehr negative Impfungsresultate als auf die Kontrollen fallen; nämlich drei negative auf Tafel III gegenüber nur einem auf Tafel IV und vier negative auf Tafel V gegenüber einem auf Tafel VI.

Nr.	25. III.	3. IV.	6. IV.	13. IV.	23. IV.
1		-	o	o	
2		-	-	-	-
3		-	o	o	
4	Impfung Hyperämie 25. III.-3. IV.	-	-	-	-
5		-	-	o	
6		-	-	-	-
7		-	o	oo	+
8		-	-	-	-
9		o	o		
10		-	o	o	

Tafel V.

Nr.	25. III.	3. IV.	6. IV.	13. IV.	23. IV.
1		o			
2		o			
3		o			+
4	Impfung Controllen zu Taf. V.	-	-	-	-
5		o			
6		o			
7		o		+	
8		-	-	o	
9		-	-	-	
10		o			

Tafel VI.

C. Hyperämisierung der neugebildeten Tumoren.
(Tafel VII, VIII, IX, X.)

Ich wählte hierzu 40 Mäuse mit einem kleinen, linsen- bis erbsengroßen, neugebildeten Tumor, die am selben Tage mit dem Material eines und desselben Tumors geimpft worden waren. Ich teilte sie in 4 Serien zu 10. Die eine Serie (Tafel VII) erfuhr 7 Tage hintereinander eine leichte Hyperämisierung der Geschwulst, eine zweite Serie (Tafel VIII) wurde etwa mit doppelstarker Saugkraft während derselben Zeit behandelt, eine dritte (Tafel IX) wurde mit der oben beschriebenen Modifikation der Saugglocke indirekt hyperämisiert, die vierte (Tafel X) diente als Kontrolle. Es ergaben sich folgende Resultate:

a) Die schwach geschröpften Tumoren (Tafel VII) sind durch die Behandlung gar nicht beeinflusst worden; ihr Volumen

war sowohl am 15. April wie am 25. April dem der Kontrollen (Tafel X) nahezu gleich. Auch die Geschwürs- und Zerfallsprozesse unterscheiden sich nicht merklich. Die Mortalität ist hier bei den behandelten Tieren größer als bei den unbehandelten.

b) Bei fast allen stark geschröpften Tumoren (Tafel VIII) trat während der Behandlung eine oberflächliche Verschorfung

Nr.	25. III.	8. IV.	15. IV.	25. IV.	1. V.
1		○			lebt
2		○	+		
3		○			"
4		○		+	
5		○			+
6		○			lebt
7		○		+	
8		○		+	
9		○			"
10		○	○	○	○

Schwache Hyperämie 8. IV. - 15. IV.

Impfung

Tafel VII.

Nr.	25. III.	8. IV.	15. IV.	25. IV.	1. V.
1		○			+
2					verschwunden
3		○		+	
4		○	+		
5		○			
6		○		+	
7					+
8		○	○	verschw.	
9					+
10		○			+

Starke Hyperämie 8. IV. - 15. IV.

Impfung

Tafel VIII.

und dann Geschwürsbildung auf. Die Mortalität war bei diesen Fällen sehr erheblich, so daß einen Monat nach der Verimpfung von 10 Mäusen nur noch 3 am Leben waren. Bei zweien von diesen letzteren (No. 2 und 8) war jedoch die Geschwulst vollständig verschwunden. No. 2, ein Tumor, der bei Beginn der Schröpfbehandlung (8. April) die Größe einer kleinen Erbse hatte, wuchs während der Behandlung bis etwa

zur Größe eines Maiskornes (15. April), jedoch unter Geschwürsbildung; nach dem Aussetzen der Behandlung verschorfte das Geschwür, verkleinerte sich, die erhabenen Ränder flachten sich ab, so daß am 25. April an der Stelle nur noch ein kleiner Schorf bestand, der dann abfiel, nachdem sich unter ihm die Epidermis neu gebildet hatte. Die kleine Geschwulst des Tieres No. 8 verschwand statt dessen ohne jeden

N. 25. III.	8. IV.	15. IV.	25. IV.	1. V.
1				lebend
2				"
3				+
4				lebend
5				"
6				"
7			+	
8			verschw.	
9				lebend
10				"

Tafel IX.

N. 25. III.	8. IV.	15. IV.	25. IV.	1. V.
1				lebt
2				"
3				"
4		+		
5			verschw.	
6				"
7			+	
8				+
9				lebt
10		+		

Tafel X.

ulcerösen Prozeß mit einfacher fortschreitender Verkleinerung des Knötchens bis zu vollständiger Unföhlbarkeit. Auch in diesem Falle gab es kein Rezidiv.

Da jedoch auch in der Kontrollserie X ein Tumor spontan geschwunden ist, so ist wohl in der Deutung dieser Versuche die größte Zurückhaltung geboten.

Immerhin ist der Rückgang des Tumors 2 (Tafel VIII),

der bereits eine relativ beträchtliche Größe erreicht hatte, bemerkenswert. Sodann ist es auch in allen Fällen eklatant, daß z. B. am 25. April die gestauten Tumoren der Tafel VIII bedeutend an Größe hinter denen der Tafel X zurückstehen. Der Einfluß der intensiven Schröpfung scheint also unverkennbar vorhanden zu sein.

c) Die mit indirekter Hyperämie behandelten Tumoren (Tafel IX) fallen sofort durch die verlangsamte Entwicklung auf. Noch einen Monat nach der Impfung erreicht keiner die Durchschnittsgröße der Kontrollen (Tafel X). Ulcerationen fehlen (bis auf einen: No. 2). Die Mortalität ist sehr gering. Ein Tumor (No. 8) verschwindet während der Schröpfbehandlung.

d) Bei den Kontrolltumoren (Tafel X) ist das Verschwinden eines, allerdings sehr schwach entwickelten Tumors (No. 5) ohne Spur von Nekrose oder Ulceration hervorzuheben, das spontan zwischen dem 20. und 25. Tage nach der Impfung eintrat.

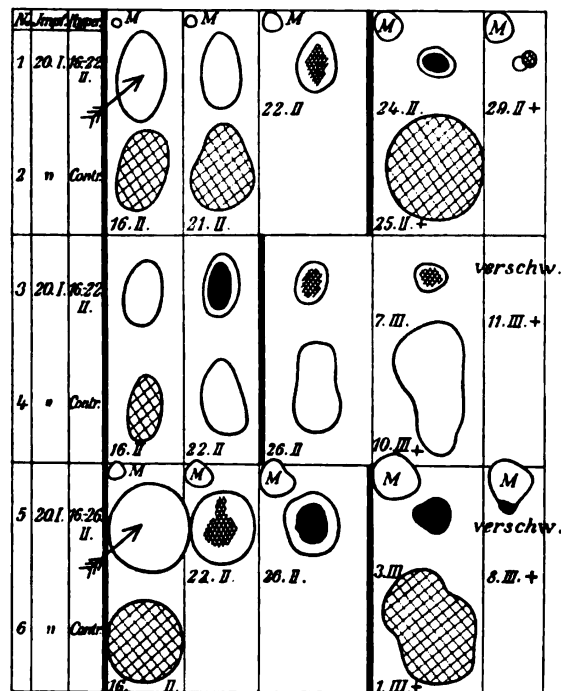
D. Hyperämisierung weiter entwickelter Tumoren. (Tafel XI—XIV.)

Die Schröpfbehandlung wurde an einer Reihe von Geschwülsten in mehr oder weniger weit vorgeschrittener Entwicklung angewendet, die absichtlich in verschiedenen Zuständen ausgewählt wurden, d. h. mit und ohne Ulceration, mit und ohne Zerfall, von kleinem und von großem Volumen. Jedem von diesen behandelten Tumoren wurde ein Kontrolltumor gleichen Alters und gleicher Herkunft und mit annähernd gleichen äußeren und inneren Eigenschaften gegenübergestellt. Die letzteren wurden durch Palpation ermittelt; denn dabei ließ sich sehr leicht aus der Konsistenz erkennen, ob und eventuell in welchem Grade ein Zerfallsprozeß bestand oder ob andererseits die Geschwulstmasse einem sklerosierenden Prozeß unterlag.

Auf den einzelnen Tafeln sind dann die Tumoren vereinigt, die nahezu identische Eigenschaften boten; dabei findet sich neben jeder behandelten Geschwulst die dazu gehörige Kontrolle. Auf Tafel XI sehen wir ziemlich voluminöse Tumoren von weicher Konsistenz, die also tief degeneriert, aber nicht ulceriert waren; auf Tafel XII ziemlich

derbe, ebenfalls nicht ulcerierte Tumoren ; auf Tafel XIII vollständig oder an der Oberfläche diffus verschorfte Tumoren und schließlich auf Tafel XIV mehr oder weniger tief ulcerierte und darunter einige vereiterte.

a) Die Tumoren in weit vorgeschrittener Degeneration (Tafel XI) gingen unter der Schröpfbehandlung merklich an Größe zurück, ja zwei (No. 3 und 5) verschwanden vollständig. Die Kontrollen dagegen wuchsen stark und töteten das Tier in kürzerer Zeit. Es sei noch mit einigen Worten auf die Entwicklung der 3 behandelten Geschwülste eingegangen.



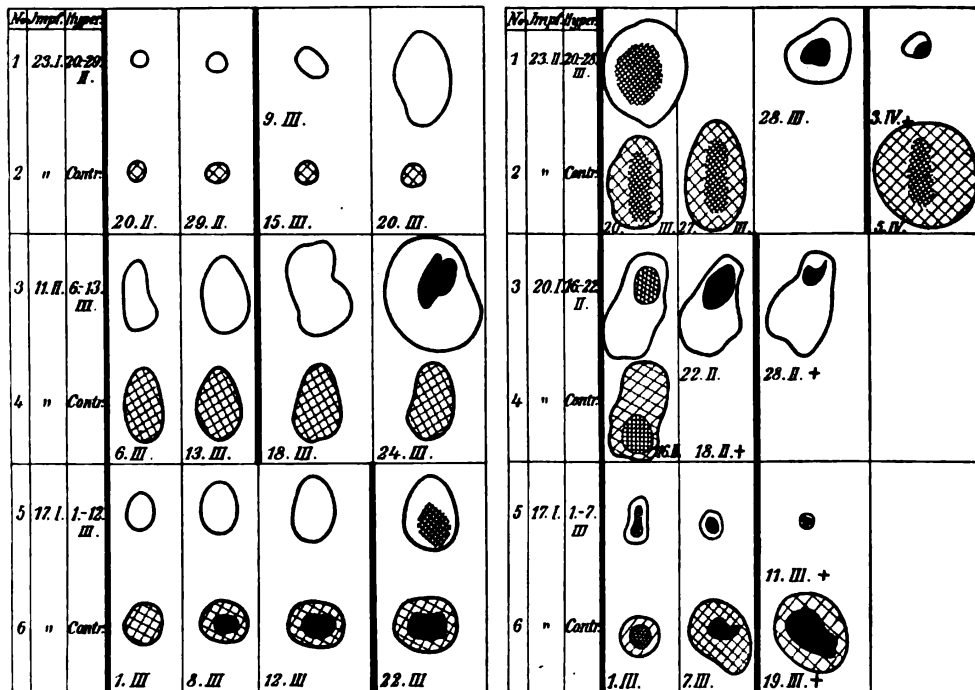
Tafel XI.

Tumor No. 1, der bei Beginn der Behandlung Größe und Form einer Mandel hatte, war am siebenten (letzten) Tag der Behandlung deutlich, etwa um die Hälfte, verkleinert und diffus, oberflächlich nekrotisiert. Der Schorf fiel ab und hinterließ ein Geschwür: währenddem verkleinerte sich die Neubildung weiter, so daß nach weiteren 7 Tagen nur noch eine kleine Kruste mit einem kleinen Knötchen übrig war.

Der Tumor No. 3, ursprünglich kleinmandelgroß, nekrotisierte während der Behandlung oberflächlich, ulcerierte tief unter Verringerung des Volumens, bedeckte sich dann mit einem Schorf, schloß und verkleinerte sich weiter,

die Ränder ebneten sich und verschwanden allmählich. 14 Tage nach der Behandlung fand sich an der Stelle des Tumors nur noch ein kleiner Schorf, am 19. Tage war dieser abgefallen und die Haut schon vollständig vernarbt.

Tumor No. 5, von Kirschgröße, bietet fast denselben Verlauf. Auch hier war etwa 12 Tage nach der Behandlung an der Stelle der Geschwulst nur noch eine kleine Erhebung. Eine metastatisch erkrankte Axillardrüse war jedoch erheblich geschwollen und nahm teilweise den Raum der primären Geschwulst ein.



Tafel XII.

Tafel XIII.

b) Die älteren Tumoren von fester Konsistenz und ohne Ulcerationen (Tafel XII) verhielten sich erheblich anders als die obigen. Bei allen dreien (1, 3, 5) ergab sich erhebliche Volumenzunahme.

c) Auf Tafel XIII habe ich 3 Tumorenpaare höheren Alters und verschiedener Größe vereinigt, die an der Oberfläche eine nekrotische Zone (No. 1 u. 2) oder eine Kruste hatten (No. 3, 4, 5, 6).

Unter der Schröpfbehandlung sah ich bei No. 1 Abfall der nekrotischen Partie, Austritt von Zerfallsmasse und Verkleinerung. In der Folge

granulierte das Geschwür reichlich, verschorfte, die erhabenen Geschwulst-ränder retrahierten sich und legten sich aneinander, so daß am 13. Tage vom Beginn der Behandlung des etwa kirschgroßen Tumors nur noch ein etwa stecknadelkopfgroßes Knötchen mit einem zarten Schorf übrig war. Der Kontrolltumor dagegen wuchs progressiv und behielt dabei in der Mitte eine nekrotische Hautstelle.

Bei den Nummern 3 und 5 fiel der Schorf frühzeitig während der Schröpfbehandlung unter Geschwürsbildung ab. Weiterhin zeigte sich No. 3 in den sechs der Behandlung folgenden Tagen gar nicht vergrößert, No. 5 dagegen verschwand total, so daß beim Tode des Tieres an seinem Platze nur noch ein kleiner Schorf bestand.

d) Was den Einfluß der Hyperämie auf mehr oder weniger tief ulcerierte Tumoren anlangt (Tafel XIV), so hatte ich beinahe identische Resultate bei den Nummern 1, 3, 5, 7.

Hier zeigt sich nämlich während der Schröpfbehandlung eine geringere Volumabnahme, die in den folgenden Tagen weniger merklich fort dauert. Von No. 1 war beim Tode der Maus keine Spur übrig, sondern nur ein kleiner Schorf. Vollständige, wenigstens scheinbare Heilung ergab auch No. 3 und 7. Dagegen zeigten alle Kontrollen progressives Wachstum mit Fortbestehen des ulcerösen Prozesses, der hier und da von mehr oder weniger feststehenden Schorfen verdeckt wurde.

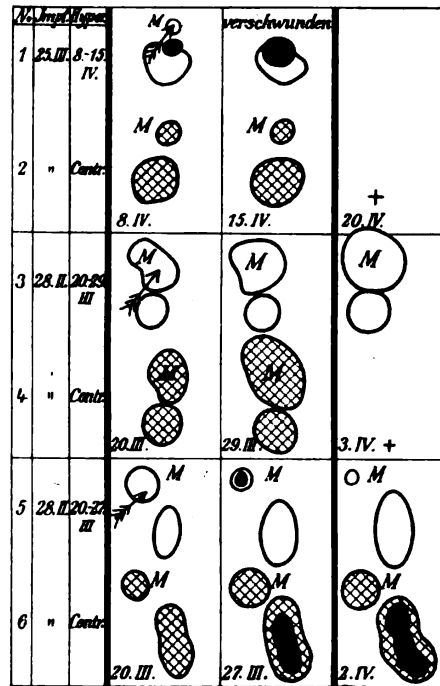
No. Mäuse	Behandlung	20. III.	25. III.	27. III. +	Resultat
1	22. III. 20-25. III.				verschw.
2	" Contr.				
3	3. III. 20-24. III.				
4	" Contr.				
5	3. III. 20-27. III.				
6	" Contr.				
7	3. III. 20-30. III.				verschw.
8	" Contr.				
9	3. III. 20-27. III.				
10	" Contr.				

Tafel XIV.

E. Hyperämisierung von lymphatischen und Nachbarschaftsmetastasen. (Tafel XV.)

Es interessierte noch, zu prüfen, wie sich gegenüber der Saughyperämie jene inguinalen und axillaren Lymphdrüsen verhalten, die sich infolge von Metastasenbildung bei dem weiteren Wachstum der Geschwulst vergrößerten. Desgleichen

stellte ich Versuche an den Knötchen an, die sekundär in nächster Nähe des primären entstanden und als eigentliche Nachbarschaftsmetastasen anzusehen waren.



Tafel XV.

drüsen während der Behandlung des Primärtumors (z. B. No. 1, 5 auf Tafel XI).

III. Pathologisch-anatomische Untersuchung der Tumoren.

A. Makroskopische Untersuchung.

Bei der Isolierung der Neubildungsmassen aus dem Nachbargewebe wurden die Beziehungen zu diesem berücksichtigt. Sowohl bei den behandelten Tumoren wie bei den Kontrollen war stets nur eine geringe infiltrative Wucherung vorhanden, so daß die Geschwülste immer leicht aus Muskeln und Haut stumpf auszulösen waren.

Bei der Präparierung der Geschwülste von solchen Mäusen, die während der Schröpfbehandlung oder etwas nachher starben oder absichtlich getötet wurden, waren immer im lockeren Bindegewebe, besonders an der Peripherie, kleine, bald zirkumskripte, bald diffuse Blutpunkte zu sehen, die zusammen einen

Bei No. 1 verschwand eine kleine hirsekorngroße Metastase unter der Behandlung vollständig. Bei No. 3 wandte ich die Saughyperämie auf eine große Nachbarschaftsmetastase an, die weiter wie die entsprechende Kontrollmetastase wuchs. Bei No. 5 dagegen ulcerierte eine erbsengroße Axillardrüse unter der Schröpfbehandlung und verkleinerte sich merklich.

Bei allen zugehörigen primären Tumoren beobachtete ich langsames, aber stetiges und fortschreitendes Wachstum. Dasselbe sah ich an den geschwollenen Axillar- und Inguinal-

rötlichen Hof darstellten. Beim Zerschneiden solcher Geschwülste zeigten namentlich ältere, mit mehr oder weniger ausgedehnten Erweichungsherden, kleinste Extravasate, die sich durch ihre Farbe von der grauweißen Neubildung deutlich abhoben. Diesen Befund kleiner, interner, parenchymatöser und externer Hämorrhagien habe ich niemals bei Kontrolltumoren beobachtet. Ebenso habe ich niemals bei indirekt hyperämisierten Geschwülsten (Tafel IX) Blutpunkte im Gewebe gesehen, wohl aber mehrmals in der Zone lockeren Bindegewebes um die Geschwulst, die direkt der Zone des Saugapparats ausgesetzt war. In der großen Mehrzahl der Fälle habe ich außerdem konstatiert, daß Geschwülste, die sich auf einer hyperämisierten Partie entwickelten, später Verfallsprozessen anheimfielen, als die entsprechenden Kontrollen. Bei jungen, direkt geschröpften Tumoren erfolgte die Erweichung früher als bei den Kontrollen und nahm größeren Umfang an, die indirekt geschröpften verhielten sich umgekehrt.

Sklerosierung mit Konsistenzvermehrung habe ich nur bei ulcerierten Tumoren gesehen, die vor verschieden langer Zeit behandelt waren und nur dann, wenn sie eine fortschreitende Rückbildung geboten hatten.

B. Mikroskopische Untersuchung.

Unser Tumor ist ein Adenocarcinom. Die Drüsenstruktur ist deutlich (Fig. 2): Haufen von Epithelzellen, Schläuche mit Schichtepithel bilden zusammen große Schollen, die durch Bindegewebszüge voneinander getrennt werden. Im ersten Entwicklungsstadium der Geschwulst haben die Krebszellen viel Protoplasma und einen nuclein- und nucleolenreichen Kern. Mitosen sind zahlreich. Das Stroma erscheint mehr oder weniger dicht, mehr oder weniger reich an Zellen, je nach dem Alter und den besonderen Verhältnissen der Geschwulst. Zahlreiche Kapillaren; Infiltrationen mit beweglichen Elementen finden sich nur bei Eiterung in der Geschwulst. Verfallserscheinungen am Protoplasma und am Kern beobachtet man etwa vom 10.—15. Tage nach der Impfung ab, stets im Zentrum der Neubildung.

Bei den behandelten Tumoren wurden einige Modifikationen dieses Verhaltens beobachtet. Während oder einige Zeit nach

der Behandlung sieht man sowohl mitten im Stroma als im peripheren Bindegewebe kleine, bald zirkumskript herdförmige,

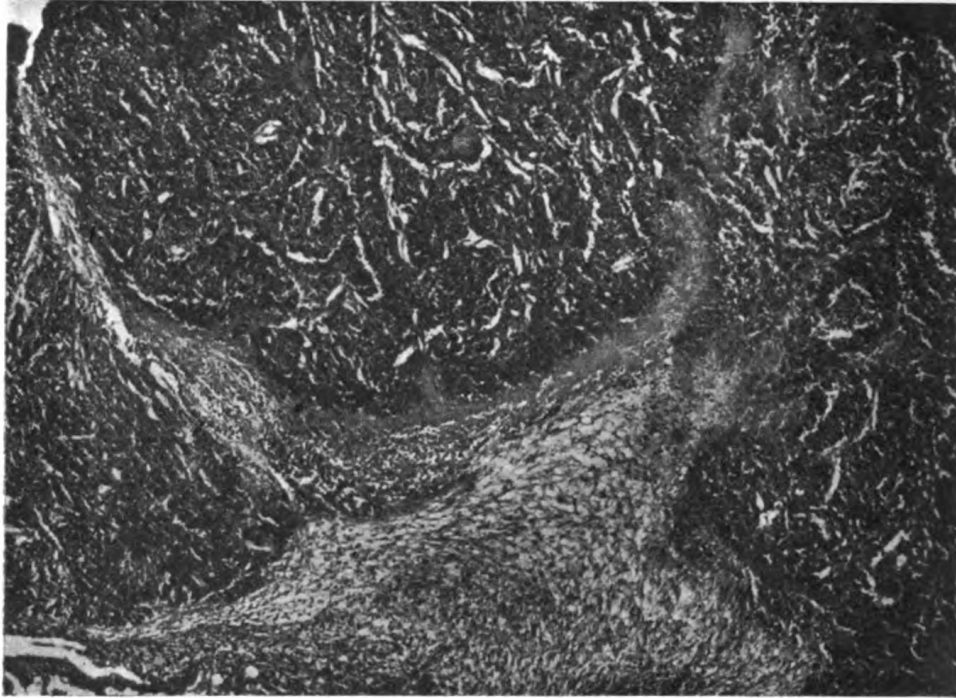


Fig. 2.

bald mehr oder weniger diffuse Blutungen (Fig. 3). Diese sind zahlreicher in den älteren Tumoren als in den jungen und fehlen vollständig bei den kleinen, indirekt geschröpften Geschwülsten. Wurde die histologische Untersuchung erst längere Zeit nach der Behandlung angestellt, so waren als Spuren dieser Blutungen kleine Häufchen aus Kristallen und aus orangegelben Pigmentkörnchen zu finden. Mit diesen Blutergüssen ist immer eine polynucleäre Infiltration des Bindegewebes verbunden aus wirklichen Phagocyten, die manchmal zirkumskripte Zonen einnimmt.

Bei den Tumoren, die während und nach der Schröpfbehandlung fortschreitend gewachsen waren, fand ich intensive Wucherung des Bindegewebsgerüsts, das zellreich war, bei denjenigen dagegen, die eine Rückbildung erfahren hatten, war das Stützgewebe dicht und zellarm geworden. Im Krebs-

gewebe habe ich immer, auch bei ganz jungen Knötchen, degenerative Prozesse, wie Karyolyse und Koagulationsnekrose

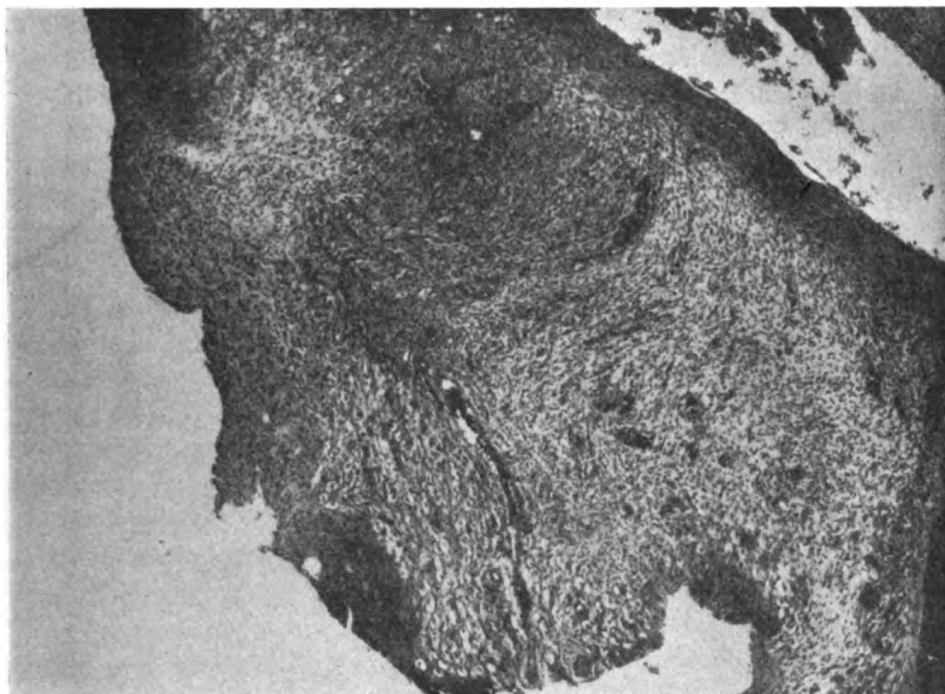


Fig. 3.

des Protoplasmas, namentlich an jener äußeren Tumorpartie gesehen, die der Einwirkung der Hyperämie am meisten ausgesetzt war. In den tiefen Partien dagegen waren die Krebszellen besser erhalten und zeigten einige Zeit nach der Behandlung lebhaftere Mitosen.

Auch bei den Tumoren, die auf hyperämisierten Partien gewachsen waren (Tafel I, III, V), sah man reichliche Karyokinesen erst nach dem 20. Tage der Schröpfbehandlung, aber Spuren degenerativer Erscheinungen am Protoplasma und am Kern traten später bei der folgenden Entwicklung der Neubildung auf.

Auf einige Punkte sei noch besonders eingegangen.

Um festzustellen, wie und warum einige Geschwülste nach der Behandlung verschwanden, wurde jene Partie, in der sie saßen, mit besonderer Berücksichtigung des Unterhautbinde-

gewebes untersucht. War die Neubildung unter Ulceration verschwunden (No. 1, 7 auf Tafel XV, No. 3, 5 auf Tafel XI, No. 2 auf Tafel VIII), so fand sich immer in situ eine intensive Bindegewebswucherung und kleinzellige Infiltrationszonen in engster Beziehung zu den Blutgefäßen. Nur in einem der fünf Fälle konnte ich Reste von Krebsgewebe entdecken. Fig. 4 stellt einen Schnitt durch das Unterhautbindegewebe einer Maus (No. 3 auf Tafel XI) dar, in dem ursprünglich ein großer

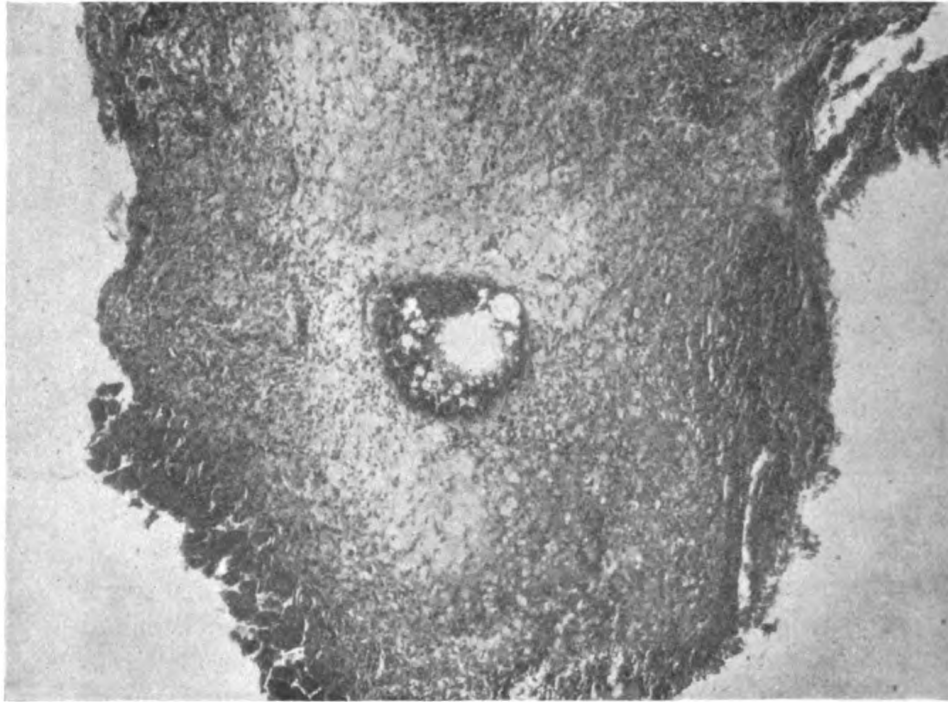


Fig. 4.

Tumor gelegen hatte. Wie man sieht, ist es sehr zellreich und besitzt leukocytäre Infiltrationsherde, von denen zwei sehr deutlich sind; hier und da alte Blutungen; seitlich erscheint eine Zone von Krebszellen in Form eines feinen Streifens. Diese Zellen sind leidlich erhalten, aber arm an Karyokinesen und erscheinen gleichsam komprimiert und an die Peripherie des eintretenden Bindegewebes gedrängt.

Verschwand dagegen der Tumor während oder nach der

Schröpfbehandlung ohne jede Andeutung von Nekrose und Ulceration (No. 8 auf Tafel VIII und IX, No. 1 auf Tafel XV), so findet sich zwar auch ausgesprochenste Lymphzelleninfiltration, aber fast gar keine oder überhaupt keine Bindegewebswucherung. Fig. 5 bringt einen Schnitt durch das Unterhautbindegewebe der Maus No. 8 auf Tafel IX vom ca. 17. Tage nach dem Beginn der Behandlung. Es fand sich ein kleiner, aber tief zerfallener Rest der rasch zurückgebildeten und an-

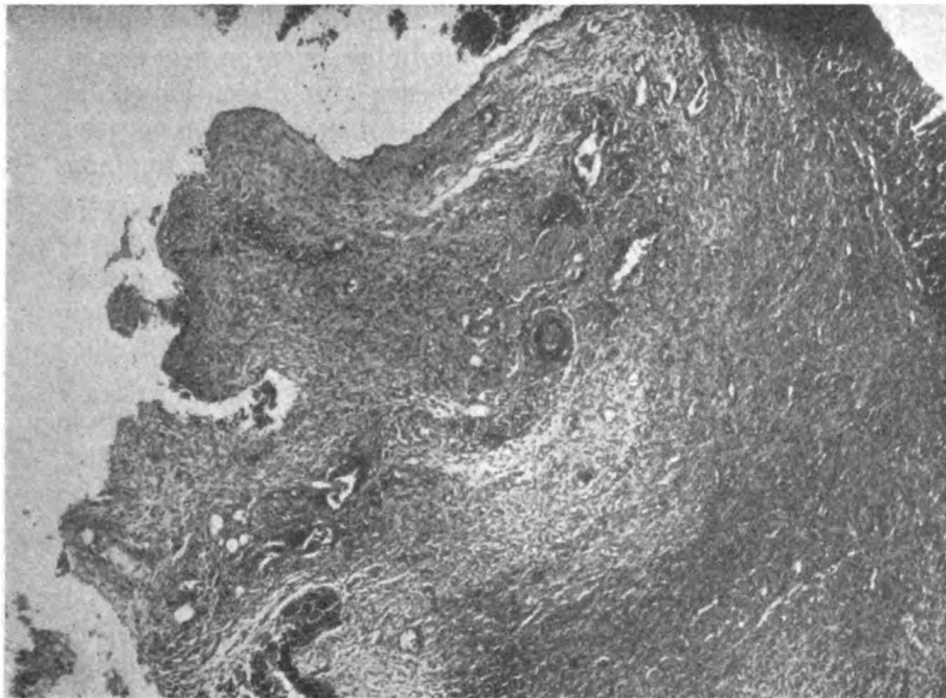


Fig. 5.

scheinend vollständig verschwundenen Neubildung. Von den Krebszellen sind jedoch nur noch feinste Granulationen übrig, die eine rundliche Zone mit zahlreichen, verschieden großen Höhlen darstellen. Rings herum ist das Bindegewebe mit Leukocyten infiltriert.

Bei der Maus No. 5 auf Tafel X, bei der eine kleine Geschwulst spontan verschwand, ergab die histologische Untersuchung etwa einen Monat nach der Impfung einen Kern gut

erhaltener Krebszellen und sehr spärliche Phagocyteninfiltration im peripheren Bindegewebe.

In den gefärbten Präparaten vom Serum, dem Blut und den festen Massen aus ulcerierenden Tumoren, habe ich auch bei leichter Aspiration niemals vollständig unversehrte Neubildungszellen gefunden.

Zusammenfassung.

1) Vorherige Hyperämisierung der gewählten Impfstelle bewirkt verzögertes Auftreten der Tumoren, dem sich später verzögertes Wachstum der Neubildung besonders in dem ersten Entwicklungsstadium anschließt. Ferner ist in diesen Fällen die Impfung in größerer Häufigkeit als bei den Kontrollen negativ.

2) Hyperämisierung der Impfstelle gleich nach der Impfung bewirkt auch eine allgemeine, und zwar etwas stärkere Verzögerung des ersten Auftretens der Geschwulst als im Falle 1. Das Wachstum ist auch verzögert, jedoch nur in den ersten 10—14 Lebenstagen, nachher wird es lebhaft und üppig. Auch hier scheinen mehr negative Impfergebnisse prozentual vorhanden zu sein als bei den Kontrollen.

3) Bei jungen, kaum gebildeten Knoten zeigt sich durch leichte Behandlung keine Beeinflussung. Starke Behandlung bewirkt Nekrosen und Ulcerationen der Neubildung mit folgender Volumenverkleinerung, zweimal sogar mit vollständigem Verschwinden des Tumors. Unter indirekter Hyperämie wächst das Knötchen langsam, aber gleichmäßig und progredient.

4) Länger bestehende Neubildungen, die tief degeneriert, aber noch unversehrt sind, ulcerieren unter der Behandlung, entleeren Zerfallsmaterial und verkleinern sich dadurch. Das Geschwür granuliert leicht, seine erhabenen Ränder verflachen sich und so kann Heilung mit anscheinend vollständigem Verschwinden der Geschwulst eintreten. Bei nicht degenerierten Knoten mit fast fibröser Konsistenz, die seit einiger Zeit in ihrem Wachstum stationär geblieben sind, scheint die Behandlung ein Wiedererwachen ihrer Aktivität zu bewirken.

Geschwülste, die infolge degenerativer Prozesse ulceriert sind, werden im allgemeinen durch die Schröpfbehandlung günstig beeinflusst, indem das Geschwür reichlich und gut

granuliert, die erhabenen Ränder aus Geschwulstgewebe sich häufig verkleinern, aneinanderlegen und bisweilen bis zum Verschwinden abflachen. Unter dem gebildeten Schorf kann die Regeneration der Epidermis erfolgen.

5) Ueber den Einfluß der Schröpfbehandlung auf Kontinuitäts- und Drüsenmetastasen können wir nur angeben das Verschwinden eines kleinen Knötchens in einem Falle, Verkleinerung in einem anderen, Wachstum in einem dritten. Die Resultate sind also wechselnd und widersprechend.

6) Pathologisch-anatomisch finden wir im allgemeinen Blutungen im Stütz- und umgebenden Bindegewebe und anschließend leukocytale Infiltration und Wucherung der Bindegewebszellen. Das Krebsgewebe zeigt frühzeitig degenerative Erscheinungen, besonders in den äußeren der Hyperämie direkt ausgesetzten Partien; lebhaftere Wucherung der unversehrt gebliebenen Krebszellen tritt in der Regel einige Zeit nach der Behandlung auf. Von 5 Fällen, in denen die Geschwulst unter Ulceration verschwunden war, bot nur einer Reste von Tumorgewebe, alle aber gewuchertes und infiltriertes Bindegewebe. Verschwindet der Tumor ohne Nekrose oder Ulceration, so bleiben einige Zeit Reste von vollständig degeneriertem Epithelgewebe mitten in gleichfalls mit Phagocyten infiltriertem Bindegewebe bestehen.

Literatur.

- Bier, Beeinflussung bösartiger Geschwülste durch Einspritzung von artfremdem Blut. Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 29.
- Graff, Experimentelle Beiträge zur Erklärung der Wirkungsweise der Bierschen Stauung. Münch. med. Wochenschr., 1908, 6.
- Joseph und Schliep, Der Gewebsstrom unter der Stauungshyperämie. Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 17.
- Klapp, Die Heilkräfte der Hyperämie. Die deutsche Klinik, Bd. 11, 1907.
- Ritter, Die Verwertung der Saugapparate zur Diagnose bei bösartigen Geschwülsten. Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 31.
- Zur Behandlung inoperabler Tumoren mit künstlicher Hyperämie. Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 43.

dem einen Glase befanden sich noch 10, in dem zweiten 11 Zecken. Bei der Fütterung an zwei gesunden Ratten am 19. Juni 1909 trat in beiden Fällen wider Erwarten keine Infektion ein. Darauf wurden die Zecken am 19. Juli 1909 abermals an einer mit Zeckenfieber infizierten Ratte gefüttert. Auch diesmal war bei der Fütterung an gesunden Ratten am 20. August 1909 keine Uebertragung zu erzielen.

Zerzupft man Zecken, die in dieser Weise öfters an Zeckenfiebratten gesogen haben, so findet man am 1. und 2. Tage noch bewegliche Spirochäten im Darminhalt, der übrigens bereits nach 24 Stunden eine tief dunkelbraune Farbe hat und zahlreiche dunkle (Melanin?) Körperchen enthält. In einer Zecke, die am 3. Tage nach dem Saugen zerzupft wurde, fanden wir nur unbewegliche Spirochäten, in einer am 4. Tage zerzupften neben unbeweglichen vereinzelte schwach bewegliche, in den am 5. und 6. Tage zerzupften wurden mikroskopisch Spirochäten nicht gefunden. Bei intraperitonealer Verimpfung des Darminhalts (je einer Zecke) auf Ratten konnte nur am 1. und 2. Tage nach dem letzten Saugakt eine Blutinfektion mit Rekurrens erzielt werden; die am 3. und 4. Tage beobachteten und zum Teil beweglichen Spirochäten waren also nicht mehr imstande, eine Ratte zu infizieren.

Wir vermuten, daß der dauernde Aufenthalt der Zecken bei 22° für *Ornithodoros moubata* in der Gefangenschaft unzutraglich ist und sonderlich die Vermehrung beeinträchtigt. Berücksichtigt man, daß Marchoux (Compt. rend. Soc. Biol., T. 63, 1907, p. 298) bei *Argas miniatus* durch dauernde Verwahrung bei Temperaturen unter 20° einen Verlust der Infektionsfähigkeit in Bezug auf Hühnerspirochäten beobachtet hat, so kann man die obigen Ergebnisse dahin deuten, daß der dauernde Aufenthalt der *Ornithodoros*zecken bei 22° auch für die Vermehrung der in ihnen enthaltenen Rekurrens-spirochäten nicht günstig ist und deshalb die Fähigkeit der Zecken, beim Biß die Infektion zu übertragen, eher erlischt als unter günstigeren Temperaturbedingungen. Es ist dabei aber wohl nicht anzunehmen, daß die niedrige Temperatur an und für sich die Spirochäten in der Zecke vernichtet, da die

Rekurrensspirochäten bekanntlich sogar Eisschranktemperaturen ziemlich lange ertragen und dabei im Reagenzglas länger am Leben bleiben als bei höheren Temperaturen (37°). Offenbar wird nur der Vermehrungsintensität ein vorzeitiges Ziel gesetzt.

Im großen und ganzen sprechen also die erhaltenen Ergebnisse nicht gerade für die Annahme, daß in unseren Breiten Zecken jemals beim Rückfallfieber die gleiche Rolle gespielt haben, wie es bei *Ornithodoros* in Afrika der Fall ist.

Als zweite Tatsache, die mehr theoretisch und für die Züchtung von Rekurrensspirochäten im Laboratorium Interesse beansprucht, ergibt sich aus unseren Versuchen, daß die *Ornithodoros*zecken gegen Rekurrens in gleicher Weise wie die Wirbeltiere eine aktive Immunität erwerben. Der biologische Unterschied zwischen den verschiedenen Typen der Rekurrensspirochäten, der sich bei den Immunitätsstudien an Wirbeltieren ergeben hat, kommt bei diesen Versuchen nicht zum Ausdruck, da auch die Zecken, die eine Infektion mit russischen Spirochäten überstanden hatten, gegen die zweite Infektion mit ostafrikanischen Spirochäten immun werden. Das steht mit den bisherigen Erfahrungen allerdings durchaus nicht im Widerspruch, da die erwähnten Differenzen deutlich nur dann zutage treten, wenn man hochgradige Immunsera quantitativ mit den verschiedenen Spirochätenstämmen austitriert, während bei der Nachimpfung immuner Tiere mit heterologen Stämmen bei Wirbeltieren ebenfalls übergreifende Resultate erzielt wurden.

Die Vernichtung der Rekurrensspirochäten bei den immunisierten Zecken findet anscheinend im Darminhalt, und zwar extracellulär statt.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch unter natürlichen Bedingungen eine Immunisierung von Zecken gegen die Rekurrensinfektion vorkommt und als Erklärung für die bekannte epidemiologische Erfahrung Bedeutung hat, daß hauptsächlich die jungen Zecken für die Verbreitung der Infektion in Betracht kommen.

Zusammenfassung.

1) Der längere Aufenthalt von *Ornithodoros moubata* bei Temperaturen von 22° ist für die Vermehrung der in ihnen enthaltenen Rekurrens Spirochäten nicht günstig; die Fähigkeit der Zecken, beim Biß die Infektion zu übertragen, erlischt eher als unter günstigen Temperaturbedingungen.

2) Die Zecken der gleichen Art können eine aktive Immunität gegen Rekurrens erwerben. Die Verrichtung der Spirochäten bei den immunisierten Zecken findet anscheinend im Darminhalt statt.

Nachdruck verboten.

Alexin oder Proagglutinoid?

Von Dr. Osv. Streng, Helsingfors.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. November 1909.)

Es ist schon lange Zeit bekannt gewesen, daß frische Sera in größeren Dosen oft keine Agglutination zeigen, während dieselben in stärkeren Verdünnungen starke Ausflockung hervorrufen. Diese Hemmungserscheinungen sind von verschiedenen Forschern verschieden erklärt worden.

Eisenberg¹⁾ u. a. sehen in dieser Hemmung eine Wirkung besonderer Körper, der Proagglutinoide, welche sie als identisch mit den beim Erhitzen entstehenden Proagglutinoiden betrachten. Andere, wie z. B. Falta und Noeggerath²⁾, Volck und De Waele³⁾ usw. verneinen diese Identität; aber auch diese Forscher, wie auch Lipstein⁴⁾, Paltauf⁵⁾, Wassermann⁶⁾, Scheller⁷⁾ u. a. stimmen mit Eisenberg darin überein, daß sie die Existenz besonderer, den Agglutininen nahestehender spezifischer Körper annehmen, die

1) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 1906.

2) Falta und Noeggerath, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 83.

3) Volck und De Waele, Wien. klin. Wochenschr., 1903.

4) Lipstein, Deutsche med. Wochenschr., 1902.

5) Paltauf, Deutsche med. Wochenschr., 1903; Handbuch der path. Mikroorg. von Kolle-Wassermann.

6) Wassermann, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 42.

7) Scheller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36 u. 38.

sich mit den Mikroben binden, wodurch die Verankerung der Agglutinine selbst und damit die Ausflockung der Mikroben verhindert wird.

Eine andere Auffassung vertritt van Loghem¹⁾. Er behauptet, daß das normale Alexin die Ursache der Hemmung ist. van Loghem, der mit Typhusbacillen arbeitete, zeigte in Analogie mit anderen Forschern, daß die Hemmungen in frischen Sera durch Erhitzen auf 56° C verschwinden. Er zeigte weiter, daß, wenn man zu einem auf 56° erhitzten und dadurch seiner Hemmungskörper beraubten Immunserum frisches alexinhaltiges Kaninchenserum zufügte, die Hemmung wieder entstand. In Uebereinstimmung mit anderen Forschern, Eisenberg²⁾, Lipschütz³⁾ u. a. hat er weiter gefunden, daß dasselbe Immunserum gegenüber Typhusstämmen verschiedenen Ursprungs nicht gleich starke Hemmungen zeigt; die von ihm untersuchten lebenden Typhusbacillen wurden von großen Dosen frischen Immunserums nicht ausgeflockt, während in den Versuchen mit den Fickerschen Bacillen keine Hemmung nachzuweisen war. Gleichzeitig konnte er nachweisen, daß die lebenden Bacillen, welche die Hemmungserscheinung zeigten, das Alexin banden, während er mit demselben frischen Immunserum und Fickerschen Bacillen keine Alexinablenkung erreichte. Auch die Erfahrungen anderer Forscher über die Alexinbindung bei Typhus zeigen, daß verschiedene Stämme sich bei der Alexinablenkungsreaktion verschieden verhalten [Moreschi⁴⁾, Raskin⁵⁾ u. a.]. Diese zwei von van Loghem konstatierten Tatsachen: die Reaktivierung der Hemmung durch frisches Normalserum und der Parallelismus zwischen Hemmung und Alexinbindung einerseits und dem Ausbleiben der Alexinablenkung und der Hemmung andererseits, sprechen entschieden dafür, daß das Alexin und die Bindung desselben die Ursache der Hemmung in frischen Seris ist.

Als ein Beitrag zu dieser Frage über die Bedeutung der Alexine für die Agglutination sind die nachstehenden Versuche

- 1) van Loghem, Centralbl. f. Bakt., 1908.
- 2) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41.
- 3) Lipschütz, Centralbl. f. Bakt., Bd. 35.
- 4) Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1906.
- 5) Raskin, Centralbl. f. Bakt., Bd. 48.

anzusehen. Bei meiner Arbeit bin ich von folgenden Erwägungen ausgegangen.

Wenn das Alexin die Ursache der Hemmung in frischem Serum ist, so müssen alle die Eingriffe, die das Alexin zerstören, auch die Hemmungen aufheben. Wenn aber die Hemmung trotz Zerstörung oder Abschwächung des Alexins noch zurückbleibt, kann dieselbe nicht auf eine Alexinwirkung zurückgeführt werden. Wenn eine Zerstörung oder Abschwächung des Alexins das Aufheben der Hemmung zur Folge hat, so folgt daraus noch nicht, daß das Alexin die Ursache der Hemmung ist. Die agglutininähnlichen Substanzen von Volck, De Waele, Eisenberg u. a. könnten ja auch ebenso empfindlich sein wie die Alexine, sie könnten ja auch durch dieselben Eingriffe: Erhitzen, Vorbehandlung mit Aqua destillata usw. abgeschwächt oder zerstört werden.

Wenn die thermolabilen Hemmungskörper mit Alexin identisch sind, so muß eine durch Zerstörung des Alexins aufgehobene Hemmung immer wieder auftreten bei Zufügen von frischem Normalserum, gleichgültig von welchem Tiere. Wenn diese Körper in dem Sinne Eisenbergs u. a. zu verstehen wären, so könnte wohl kaum die Hemmung von jedem normalen frischen Serum restituiert werden.

Wenn die Hemmung der Agglutination, z. B. der Typhusbacillen, durch Alexine verursacht wird, so muß eine Vorbehandlung des alexinhaltigen Serums mit z. B. normalen Blutkörperchen, welche von dem Serum sensibilisiert werden, die Alexinwirkung und damit die Hemmung aufheben. Wenn das Serum mit anderen Blutkörperchen, die von diesem Serum nicht sensibilisiert werden, vorbehandelt wird, so darf das Serum seine hemmende Eigenschaft nicht verlieren, wohl aber muß diese Eigenschaft verschwinden, wenn diese letztgenannten Blutkörperchen vorher sensibilisiert worden sind.

Wenn die hemmenden Körper z. B. für Typhusbacillen sich spezifisch bindende Proagglutinoide oder agglutininähnliche Substanzen wären, so könnten dieselben nicht durch Vorbehandlung mit beliebigen Blutkörperchen entfernt werden. Wenn die Hemmungskörper z. B. für Typhusbacillen von einer Art von Blutkörperchen gebunden würden, so müßten sie weiter direkt von diesen gebunden werden, unabhängig da-

von, ob die Blutkörperchen sensibilisiert sind oder nicht. Werden die Hemmungskörper durch Vorbehandlung mit sensibilisierten Blutkörperchen aus dem Serum entfernt, nicht aber durch Vorbehandlung mit nativen, so können sie kaum Proagglutinoide oder agglutininähnliche Stoffe sein, sondern müssen als Alexine aufgefaßt werden.

Meine Versuche wurden teilweise in Brüssel im Institut Pasteur bei Professor Bordet, teilweise in Wien, Wilhelminenspital, bei Dr. K. Landsteiner, teilweise auch in Helsingfors ausgeführt.

Für die Versuche wurden hauptsächlich zwei verschiedene Typhusstämmen benutzt. Der eine stammte aus Brüssel von dem Institut Pasteur, der andere wurde in Wien vor längerer Zeit reingezüchtet. Auch einige Colistämme wurden untersucht. Als agglutinierendes Serum wurde Serum von Kaninchen, welches mit Typhus oder Coli vorbehandelt worden war, benutzt. Diese Typhusimmunsera wurden durch Erhitzen auf 56° inaktiviert. Die von mir untersuchten Immunsera zeigten immer Alexinbindung und enthielten also immer Sensibilisatoren für den entsprechenden Bakterienstamm. Die erhitzten Immunsera zeigten ohne Zusatz von frischem alexinhaltigen Serum keine oder nur schwache Hemmungen bei der Agglutination. In großen Dosen genommen, zeigten sie in frischem Zustande eine deutliche, obwohl nicht immer vollständige Hemmung.

Zuerst machte ich einige Versuche, bei welchen das agglutinierende und sensibilisierende, auf 56° erhitzte Immunserum in fallenden Dosen zu den entsprechenden Mikroben zugegeben wurde, welche vorher entweder mit frischem Alexin von Meerschweinchen oder mit auf 56° erhitztem Serum von demselben Meerschweinchen versetzt worden waren. Folgender Versuch möge als Beispiel dienen:

Drei Reihen wurden angesetzt. Jede Tube in jeder Reihe enthielt 0,5 ccm Typhusbouillonkultur. In der Reihe I wurde zu jeder Tube 0,1 ccm frisches Meerschweinchenserum zugegeben; in Reihe II ebensoviel von demselben bei 56° inaktivierten Meerschweinchenserum; in der Reihe III 0,1 ccm physiologische Kochsalzlösung. Zu allen Tuben wurde zuletzt auf 56° erhitztes Immunserum von Kaninchen zugefügt und die entstandene Ausflockung wurde nach $\frac{1}{2}$, 1 und auch 2 Stunden abgelesen. In den Versuchen bedeutet ++++ sehr starke, +++ starke, ++ deutliche, + schwache, ? fragliche und — keine Ausflockung.

Tabelle I.

Reihe I. 0,5 Typhusbacillen + 0,1 fr. Meerschw.-Alexin				Reihe II. 0,5 Typhusbacillen + 0,1 inakt. Meerschw.-Serum				Reihe III. 0,5 Typhusbacillen + 0,1 phys. Kochsalzlösung			
Inakt. Typh.- Immunserum von Kaninch.	Stärke der Aus- flockung			Inakt. Typh.- Immunserum von Kaninch.	Stärke der Aus- flockung			Inakt. Typh.- Immunserum von Kaninch.	Stärke der Aus- flockung		
	nach $\frac{1}{2}^h$	nach 1^h	nach 2^h		nach $\frac{1}{2}^h$	nach 1^h	nach 2^h		nach $\frac{1}{2}^h$	nach 1^h	nach 1^h
0,1	—	—	—	0,1	++	+++	++++	0,1	++	++++	++++
0,08	—	—	—	0,08	++	+++	++++	0,08	++	+++	++++
0,065	—	—	—	0,065	++	+++	++++	0,065	++	+++	++++
0,05	—	—	—	0,05	+	+++	++++	0,05	++	+++	++++
0,04	—	—	—	0,04	+	++	+++	0,04	++	+++	++++
0,03	—	—	—	0,03	+	++	+++	0,03	++	++	+++
0,02	—	—	—	0,020	+	++	+++	0,02	+	++	+++
0,016	—	—	—	0,016	+	++	++	0,016	+	++	++
0,012	—	—	—	0,012	+	++	++	0,012	+	++	++
0,01	—	—	—	0,01	—	+	++	0,01	+	++	++
0,0	—	—	—	0,0	—	—	—	0,00	—	—	—

Der Versuch zeigt, daß da, wo ich frisches Alexin hatte, keine Agglutination entstand; wo ich dasselbe Normalserum auf 56° erhitzt hatte, entstand eine Ausflockung, welche beinahe ebenso stark wurde wie da, wo ich kein Normalserum zugefügt hatte. Aehnliche Resultate gaben meine Versuche, als ich anstatt Meerschweinchenalexins Menschen-, Kaninchen- oder Pferdealexin benutzte. Eine Ausflockung entstand nicht, wohl aber als ich anstatt frischen Serums auf 56° erhitztes Normalserum zufügte. Im allgemeinen war zwar auch bei diesen erhitzten Sera eine kleine Hemmung zu sehen wie in dem oben angeführten Versuche. Sie könnte vielleicht auf eine physikalische Serumwirkung zurückgeführt werden und war niemals zu vergleichen mit der durch frisches Alexin hervorgerufenen Hemmung. Es ist zu bemerken, daß bei diesen Versuchen immer solches Normalserum benutzt wurde, welches allein keine Ausflockung verursachte und in so kleinen Mengen, daß eine eventuelle Konglutationswirkung vermieden wurde, was ja für Meerschweinchenserum leicht war; dagegen war es nicht immer leicht, ein derartiges Pferdeserum zu bekommen.

Als Resultat aus diesen Versuchen ergibt sich, daß frisches alexinhaltiges Serum von den verschiedensten Tieren und von Menschen eine deutliche Hemmung der Agglutination von Typhusbacillen durch Typhusimmunserum verursachte, während das auf 56° erhitzte Normalserum es nicht tat.

Das Alexin wird durch Vorbehandlung mit Aq. dest. zerstört oder abgeschwächt. Um zu sehen, ob bei Zerstörung des Alexins durch Aq. dest. das hemmende Vermögen des frischen Normalserums parallel mit dem Alexin vernichtet oder abgeschwächt wird, wurden nun einige Versuche gemacht.

Folgendes Beispiel möge angeführt werden.

Folgende Mischungen wurden vorbereitet:

- I. 1,0 ccm frisches Menschenserum von einem Scarlatinakranken + 10 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.
- II. 1,0 ccm desselben frischen Menschenserums + 9 ccm Aq. dest. Nach 2—3 Stunden Zufügen von 1 ccm 10-proz. Kochsalzlösung.
- III. 1,0 ccm desselben frischen $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzten Menschenserums + 10 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.
- IV. 1-proz. Kochsalzlösung.

Jetzt wurde mit diesen Mischungen folgender Versuch gemacht.

Tabelle II.

1)	1,5 ccm Flüssigkeit	I	+ 1,0	Typhusbouillon			
2)	1,5 "	II	+ 1,0	"			
3)	1,5 "	III	+ 1,0	"			
4)	1,5 "	IV	+ 1,0	"			
5)	1,5 "	I	+ 1,0	"			
6)	1,5 "	II	+ 1,0	"			
7)	1,5 "	III	+ 1,0	"			
8)	1,5 "	IV	+ 1,0	"			
9)	1,5 "	I	+ 0,05	norm. gewaschene Meersch.-Blutkörp.			
10)	1,5 "	II	+ 0,05	"	"	"	"
11)	1,5 "	III	+ 0,05	"	"	"	"
12)	1,5 "	IV	+ 0,05	"	"	"	"
13)	1,5 "	I	+ 1,0	Typhusbouillon			
14)	1,5 "	IV	+ 1,0	"			

Aus diesem Versuche geht deutlich hervor, daß bei Vorhandensein von Alexin keine Agglutination entsteht (Tube I), wohl aber, wenn das Alexin durch Vorbehandlung mit Aq. dest. abgeschwächt worden ist (Tube II), ebenso wenn das Alexin durch Erhitzen auf 56° zerstört worden ist (Tube III). Weiter entstand Agglutination, wo kein Menschenserum vor-

handen war (Tube IV). Alle übrigen Tuben waren gewissermaßen Kontrolltuben. In den Tuben 5, 6, 7 und 8 hatte ich noch 0,2 ccm erschöpftes inaktiviertes Rinderserum zugefügt. Ich wollte die Wirkung der verschiedenen Flüssigkeiten I, II, III und IV in Gegenwart von Konglutinin prüfen und dadurch kontrollieren, ob wirklich das Alexin verschwunden war oder nicht. Denselben Zweck verfolgten die Tuben 9, 10, 11 und 12, wo anstatt Typhusbacillen Meerschweinchenblutkörperchen benutzt wurden. Die Tube 5 gab eine sehr starke Ausflockung, Konglutination, welche nicht zu vergleichen war mit der in 6, 7 und 8 entstandenen. Die Flüssigkeit I enthielt also Alexin, die Flüssigkeiten II und III wenig oder gar nicht. Die Meerschweinchenblutkörperchen gaben dasselbe Resultat, doch waren auch in II noch Spuren von Alexin vorhanden.

Machen wir jetzt einen anderen Versuch mit einem Serum, dessen Alexin nicht durch Vorbehandlung mit Aq. dest. in kurzer Zeit zerstört wird. Ein solches Serum ist das Pferdeserum. Der Versuch wurde in Uebereinstimmung mit dem oben angegebenen gemacht.

		Ausflockung nach		
		$\frac{1}{2}$ h	1 h	2 h
+ 0,1 in. TyphImmS.		—	—	—
+ 0,1 " "		++	+++	+++
+ 0,1 " "		++	+++	+++
+ 0,1 " "		+++	+++	++++
+ 0,1 " "	+ 0,2 in. norm. RindS.	++++	++++	++++
+ 0,1 " "	+ 0,2 " " "	++	+++	+++
+ 0,1 " "	+ 0,2 " " "	++	+++	+++
+ 0,1 " "	+ 0,2 " " "	++	+++	+++
—	+ 0,2 " " "	++++	komplette	Hämolyse
—	+ 0,2 " " "	—	+	schw. Häm.
—	+ 0,2 " " "	—	—	—
—	+ 0,2 " " "	—	—	—
—	+ 0,2 " " "	—	—	—

Folgende Mischungen wurden vorbereitet:

- I. 1,0 ccm frisches Pferdeserum + 10 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.
- II. 1,0 ccm frisches Pferdeserum + 9 ccm Aq. dest. Nach 3 Stunden langem Kontakt wurde 1 ccm 10-proz. Kochsalzlösung noch hinzugegeben.
- III. 1,0 ccm frisches Pferdeserum $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt + 10 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.
- IV. Physiologische Kochsalzlösung 1-proz.

Zu dem Versuche gebrauchte ich noch Typhusbouillonkultur, auf 56° erhitztes Typhusimmunserum, gewaschene Meerschweinchenblutkörperchen und mit Typhusbacillen erschöpftes inaktives Rinderserum.

Die Versuchsordnung geht aus der Tabelle hervor.

Tabelle III.

1)	1,5	ccm Flüssigkeit	I + 1,0	inaktivierte Typhusbouillonkultur
2)	1,5	" "	II + 1,0	" "
3)	1,5	" "	III + 1,0	" "
4)	1,5	" "	IV + 1,0	" "
5)	1,5	" "	I + 1,0	" "
6)	1,5	" "	II + 1,0	" "
7)	1,5	" "	III + 1,0	" "
8)	1,5	" "	IV + 1,0	" "
9)	1,5	" "	I + 1,0	" "
10)	1,5	" "	II + 1,0	" "
11)	1,5	" "	III + 1,0	" "
12)	1,5	" "	IV + 1,0	" "
13)	1,5	" "	I + 0,05	gewasch. Meerschweinchen - Blutkörper.
14)	1,5	" "	II + 0,05	" "
15)	1,5	" "	III + 0,05	" "
16)	1,5	" "	IV + 0,05	" "

Dieser Versuch zeigt insofern einen Parallelismus mit dem Versuche mit Menschenserum, daß bei Vorhandensein des Alexins keine Agglutination entstand (Tube 1 und 2), wohl aber eine Konglutination (Tube 5 und 6). Wo kein Alexin vorhanden war, da entstand eine Agglutination (Tube 3 und 4). In den Versuchen mit Pferdeserum verschwand die Hemmung nicht durch Einwirkung von Aqua destillata: Tube 2 zeigte noch eine Hemmung, was darauf zurückzuführen war, daß das Alexin da nicht genügend abgeschwächt worden war, sondern noch Hämolyse (Tube 14) und Konglutination (Tube 6) hervorrufen konnte.

Wenn man auf dem Boden der Proagglutinoidlehre stehen bleiben will, so wären diese Versuche so zu erklären, daß in diesem Falle das Proagglutinoid ganz wie das Alexin relativ unempfindlich gegen Vorbehandlung mit Aqua destillata war, während es in Menschenserum ebenso empfindlich war wie das Alexin. Dieses vollständig übereinstimmende Verhalten des Alexins und des Proagglutinoides wäre ein ziemlich merk-

würdiger Zufall, ebenso merkwürdig wie das Vorkommen von spezifischen Proagglutinoiden gegen Typhus in allen den von mir benutzten normalen Seris.

Man weiß, daß Meerschweinchenblutkörperchen das Alexin

				Ausflockung nach	
				1 ^a	2 ^b
+ 0,2	inakt. TyphImmS.			—	—
+ 0,2	„	„		—	—
+ 0,2	„	„		+++	++++
+ 0,2	„	„		+++	++++
+ 0,2	„	„	+ 0,2 inakt. RindS.	+++++	+++++
+ 0,2	„	„	+ 0,2 „	+++++	+++++
+ 0,2	„	„	+ 0,2 „	+++	+++
+ 0,2	„	„	+ 0,2 „	+++	++++
—			—	—	—
—			—	—	—
—			—	—	—
—			+ 0,2 inakt. RindS.	+++	kompl. Häm.
—			+ 0,2 „	++	starke Häm.
—			+ 0,2 „	—	—
—			+ 0,2 „	—	—

aus dem Pferdeserum nehmen, ohne daß die Blutkörperchen aufgelöst werden [Bordet und Gay¹), Bordet und Streng²)], Schafblutkörperchen machen es nicht. Wie verhält sich nun das frische Pferdeserum, welches mit Meerschweinchenblutkörperchen in Kontakt gewesen ist und also sein Alexin verloren hat, und dasselbe Serum, das aber in Kontakt mit Schafblutkörperchen gewesen ist und sein Alexin nicht verloren hat? Verschwindet die Hemmung wieder parallel mit dem Alexin oder nicht?

6 ccm Schafblut- und ebensoviel Meerschweinchenblutkörperchen wurden gewaschen und zu dem Bodensatz beiderseits 0,4 ccm frisches Pferdeserum und 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung gebracht. Nach 2 Stunden wurde zentrifugiert, und die Flüssigkeiten wurden abpipettiert. Flüssigkeit I = 0,4 ccm frisches Pferdeserum + 6 ccm 1-proz. Kochsalzlösung, welche in Kontakt mit Meerschweinchenblutkörperchen gewesen war; Flüssigkeit II = 0,4 ccm frisches Pferdeserum + 6 ccm 1-proz. Kochsalzlösung,

1) Bordet und Gay, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1906.

2) Bordet und Streng, Centralbl. f. Bakt., 1909.

welche vorher in Kontakt mit Schafblutkörperchen gewesen war. Gleichzeitig hatte ich noch die Flüssigkeit III = 0,4 ccm frisches Pferdeserum + 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung und die Flüssigkeit IV = 0,4 ccm frisches, bei 56° C inaktiviertes Pferdeserum vorbereitet. Flüssigkeit V war 1-proz. Kochsalzlösung.

Mit diesen fünf Flüssigkeiten wurde jetzt der Versuch in Analogie mit früheren Versuchen, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, gemacht.

Tabelle IV.

1)	1	ccm Flüssigkeit	I	+	0,5	Typhusbouillon
2)	1,0	"	II	+	0,5	"
3)	1,0	"	III	+	0,5	"
4)	1,0	"	IV	+	0,5	"
5)	1,0	"	V	+	0,5	"
6)	1,0	"	I	+	0,5	"
7)	1,0	"	II	+	0,5	"
8)	1,0	"	III	+	0,5	"
9)	1,0	"	IV	+	0,5	"
10)	1,0	"	V	+	0,5	"
11)	1,0	"	I	+	0,025	Meerschweinchen-Blutkörperchen
12)	1,0	"	II	+	0,025	"
13)	1,0	"	III	+	0,025	"
14)	1,0	"	IV	+	0,025	"
15)	1,0	"	V	+	0,025	"

Wieder ergab der Versuch, daß da, wo das Alexin gebunden und aus dem Serum entfernt worden war, das frische Serum sein hemmendes Vermögen verlor, wo aber das Alexin noch anwesend war, da blieb die Hemmung bestehen. In diesem Falle konnten die das Alexin bindenden Meerschweinchenblutkörperchen die hemmenden Substanzen aus dem Serum entfernen, die Schafblutkörperchen, welche das Alexin nicht gebunden hatten, hatten auch nicht die Ursache der Hemmung entfernt. Der Parallelismus zwischen Alexin und den hemmenden Substanzen war ein vollständiger. Mit Hilfe der Proagglutinoidtheorie wären diese Versuche schwer zu erklären. Nach dieser Theorie sollten sich ja die hemmenden Substanzen spezifisch binden. Man könnte sich schwerlich denken, daß die Typhusagglutination hemmenden Proagglutinoide durch Meerschweinchenblutkörperchen gebunden werden. Dann würde nicht viel von der Spezifität übrig bleiben. Wenn man aber

noch die Möglichkeit zugibt, daß die Proagglutinoide für Typhusbacillen zufälligerweise auch durch Meerschweinchenblutkörperchen gebunden werden können, so wäre es doch ein ziemlich merkwürdiger Zufall, daß es eben die Blutkörperchen, die Meerschweinchenblutkörperchen, tun können, die das Alexin binden, nicht die anderen, die Schafblutkörperchen.

Wenn die Hemmung durch Alexine verursacht wird, so

				Ausflockung nach		
				$\frac{1}{2}^h$	1^h	2^h
+ 0,1	inakt.	TyphImmS.		+	++	+++
+ 0,1	"	"		—	—	—
+ 0,1	"	"		—	—	—
+ 0,1	"	"		+	++	+++
+ 0,1	"	"		+	+++	+++
+ 0,1	"	"	+ 0,1 inakt. RindS.	+	+++	+++
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	++++	++++	++++
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	++++	++++	++++
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	++	++	+++
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	++	+++	+++
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	—	—	—
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	+++	komplette Hämolyse	
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	+++	komplette Hämolyse	
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	—	—	—
+ 0,1	"	"	+ 0,1 " "	—	—	—

muß sie verschwinden, wenn man anstatt mit nativen Schafblutkörperchen das Pferdeserum mit sensibilisierten Schafblutkörperchen vorbehandelt. Mit der Proagglutinoidtheorie wäre ein solches positives Resultat unmöglich zu verstehen.

6 ccm Schafblutkörperchen wurden gewaschen und mit 0,2 inaktivem Antischafblutserum von Kaninchen sensibilisiert und nach Kontakt wieder gewaschen. Zu dem Bodensatz wurden 0,4 frisches Pferdeserum und 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung zugefügt. Nach 2 Stunden wurde die Flüssigkeit durch Zentrifugieren und Abpipettieren von den Blutkörperchen entfernt. Hämolyse war nicht entstanden, denn das Pferdealexin wirkt ja, wie bekannt, relativ schwach hämolytisch. Diese Flüssigkeit bezeichne ich mit I. Gleichzeitig hatte ich zu dem Bodensatz von 6 ccm Schafblutkörperchen ebensoviel, 0,4, frisches Pferdeserum gebracht und 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung. Auch hier wurde die Flüssigkeit nach 2-stündigem Kontakt zentrifugiert und abpipettiert. Diese Flüssigkeit bezeichne ich mit II. Flüssigkeit III = 1-proz. Kochsalzlösung.

Jetzt wurden wieder, wie früher, folgende Tuben beschickt:

Tabelle V.

1)	1,0 ccm Flüssigkeit	I	+	0,5	Typhusbouillon	+	0,1	inakt. Typhusser.
2)	1,0 "	II	+	0,5	"	+	0,1	" "
3)	1,0 "	III	+	0,5	"	+	0,1	" "
4)	1,0 "	I	+	0,5	"	+	0,1	" "
5)	1,0 "	II	+	0,5	"	+	0,1	" "
6)	1,0 "	III	+	0,5	"	+	0,1	" "
7)	1,0 "	I	+	0,025	"			" "
8)	1,0 "	II	+	0,025	"			" "
9)	1,0 "	III	+	0,025	"			" "

Der Versuch zeigte, daß die nativen Schafblutkörperchen die hemmenden Substanzen des Pferdeserums nicht entfernen konnten, wohl aber konnten es die sensibilisierten. Wo das Alexin entfernt worden, da entstand keine Hemmung; wo das Alexin frei blieb und Konglutination und Hämolyse verursachte, da trat auch die Hemmung auf. Diese Tatsache kann durch die Annahme des Alexins als Ursache der Hemmung zwanglos erklärt werden. Mit der Proagglutinoidtheorie ist auch dieser Versuch schwerlich in Einklang zu bringen.

Das Alexin übt nicht nur für die Agglutination der Mikroben, Typhus- und Colibacillen, eine Hemmung aus. Auch die Agglutination der Blutkörperchen wird durch das Alexin gehemmt, wie z. B. folgender Versuch zeigt.

Sieben Flüssigkeiten wurden in folgender Weise hergestellt:

Flüssigkeit I = 0,4 ccm frisches Pferdeserum, welches, wie in dem eben angeführten Versuche, in Kontakt mit sensibilisierten Schafblutkörperchen (6,0 ccm) 2 Stunden gewesen war und 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.

Tabelle VI.

1)	1,0 ccm Flüssigkeit	I	+	0,05	Meerschweinchen - Blutkörperchen
2)	1,0 "	II	+	0,05	" "
3)	1,0 "	V	+	0,05	" "
4)	1,0 "	VI	+	0,05	" "
5)	1,0 "	VII	+	0,05	" "
6)	1,0 "	III	+	0,05	Schafblutkörperchen
7)	1,0 "	IV	+	0,05	" "
8)	1,0 "	V	+	0,05	" "
9)	1,0 "	VI	+	0,05	" "
10)	1,0 "	VII	+	0,05	" "

			Ausflockung nach		
			1/2 ^a	1 ^a	2 ^a
			++	+++	+++
			—	—	—
+ 0,1	inaktives Rinderserum		++	+++	+++
+ 0,1	„	„	++	+++	+++
+ 0,1	„	„	++++	++++	++++
+ 0,1	„	„	++	++	+++
+ 0,1	„	„	—	—	—
+ 0,1	„	„	+++	starke Hämolyse	—
+ 0,1	„	„	—	—	—

Flüssigkeit II == 0,4 ccm frisches Pferdeserum, welches auf ähnliche Weise mit nativen Schafblutkörperchen behandelt worden war + 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.

„ III = 0,4 ccm frisches Pferdeserum in analoger Weise mit sensibilisierten Meerschweinchenblutkörperchen (6,0 ccm) vorbehandelt + 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.

„ IV = 0,4 ccm frisches Pferdeserum, vorher mit nativen Meerschweinchenblutkörperchen vorbehandelt + 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.

„ V = 0,4 ccm frisches Pferdeserum + 6,0 ccm Kochsalzlösung.

„ VI = 0,4 ccm inakt. frisches Pferdeserum + 6,0 ccm 1-proz. Kochsalzlösung.

„ VII = 1-proz. Kochsalzlösung.

Mit diesen Flüssigkeiten wurden jetzt folgende Versuche gemacht, wobei ein bei 56° inaktiviertes Antimeerschweinchenblut-Kaninchenserum und ein Antischafblut-Kaninchenserum als Agglutinin verwendet wurden. Die Anordnung des Versuches geht aus der Tabelle VI hervor.

			Ausflockung nach			
			10'	20'	30'	60'
+ 0,05	inakt. Antimeerschw.-Ser.		+	++	+++	++++
+ 0,05	„	„	—	—	—	—
+ 0,05	„	„	—	—	—	—
+ 0,05	„	„	+	++	+++	++++
+ 0,05	„	„	+	+++	++++	++++
+ 0,05	inakt. Antischafserum	„	++	++	+++	+++
+ 0,05	„	„	+	+	++	++
+ 0,05	„	„	—	—	—	—
+ 0,05	„	„	++	++	+++	+++
+ 0,05	„	„	++	++	+++	+++

Der Versuch zeigte, daß wenn das Pferdealexin in Kontakt mit sensibilisierten Blutkörperchen gewesen war, es seine hemmenden Eigenschaften verloren hatte, wenn aber das Pferdealexin in Kontakt mit nichtsensibilisierten Blutkörperchen gewesen war, so verlor es nicht seine hemmende Eigenschaft, sondern verhielt sich ganz wie ein frisches Pferdeserum, das in meinen Versuchen immer die Hämagglutination dieser beiden Blutkörperchenarten hemmte, während ein bei 56° inaktiviertes Pferdeserum es nicht tat.

Aus alledem, was jetzt angeführt worden ist, geht die Bedeutung des Alexins für die Entstehung der Hemmung deutlich hervor. Das Alexin ist die Ursache der Hemmung in frischen Seris. Wie aber wird die Hemmung durch das Alexin bewirkt, und warum tritt sie nicht immer auf? van Loghem hat schon gezeigt, daß da, wo das Alexin nicht gebunden wurde, keine Hemmung entstand. In meinen Versuchen wurde solches Immunserum benutzt, welches Alexinbindung veranlaßte. Es trat bei größeren Dosen Immunserum und Alexin eine sichtbare Bakteriolyse hervor, und gleichzeitig war immer eine Hemmung der Agglutination zu sehen. Aus alledem ist man wohl berechtigt zu schließen, daß die Bindung des Alexins eine Vorbedingung der Hemmung ist und daß die beginnende Bakteriolyse auf die Agglutination nicht nur nicht befördernd, sondern direkt hemmend wirkt.

Wie aber wirkt das Alexin durch seine Bindung hemmend auf die Agglutination? Man kann sich dabei zwei Möglichkeiten denken. Die erste wäre die, daß die durch die Bindung des Alexins entstandenen Komplexe — Mikroben + sensibilisierte Blutkörperchen oder Mikroben + Alexin — gegenüber den Agglutininen sich anders verhielten als die nativen Mikroben oder Blutkörperchen. Die andere Möglichkeit ist die, daß bei der Alexinbindung und Bakteriolyse resp. Hämolyse Stoffe von den Blutkörperchen resp. Mikroben frei werden könnten, welche Stoffe dann irgendwie das Agglutinin ablenken oder neutralisieren könnten. Dann wären also diese freigewordenen Stoffe die eigentlichen Ursachen der Hemmung. Die Versuche, die ich gemacht habe, um den Mechanismus der Hemmung

durch Alexine aufzuklären, haben noch nicht eine endgültige Antwort auf diese Frage gegeben.

Einerseits kann man zeigen, daß, wenn man z. B. Meerschweinchenblutkörperchen mit Pferdealexin beladen und gut gewaschen hat und dann die Wirkung eines inaktivierten, relativ stark ausflockenden Antimeerschweinchenserums auf diese alexinierten Blutkörperchen beobachtet, dieselben in der bedeutend schwächer als die nativen oder die mit inaktiviertem Pferdeserum vorbehandelten und nachher gewaschenen Blutkörperchen ausgeflockt werden. Diese Tatsache spricht für die erste Hypothese.

Komplizierter wird die Sache, wenn man anstatt inaktivierten Antiserums ein inaktiviertes Normalserum, z. B. Pferdeserum, welches auch Meerschweinchenblutkörperchen agglutiniert, verwendet. Dann wird man keine regelmäßigen Resultate bekommen. Wenn das benutzte inaktivierte Pferdeserum stark agglutinierend auf native Meerschweinchenblutkörperchen einwirkt, so werden die alexinierten Blutkörperchen schwächer ausgeflockt. Wenn das inaktive Pferdeserum schwache Agglutinine enthält, so daß große Mengen davon benutzt werden müssen, um eine Agglutination der nativen Blutkörperchen zu bekommen, so wird man das Gegenteil sehen. Bei Verwendung von Immunserum, z. B. Antimeerschweinchenserum, das also die nativen Meerschweinchenblutkörperchen auch in starker Verdünnung ausflockt, werden die nativen doch immer besser ausgeflockt als die alexinierten. Das verschiedenartige Verhalten des Normal- und Immunserums gegenüber alexinierten und nativen Blutkörperchen könnte vorläufig so erklärt werden, daß in Serum vom Pferd wie im Rinderserum sowohl Agglutinine als Konglutinine existieren. Die alexinierten Blutkörperchen würden dann stärker oder schwächer ausgeflockt werden als die nativen, je nachdem das Pferdeserum mehr oder weniger Konglutinine als Agglutinine enthalten würde. Würde das Serum mehr Konglutinine enthalten, so würden die alexinierten Blutkörperchen besser ausgeflockt; wenn es aber mehr Agglutinine enthalten würde, so würden die nativen besser ausgeflockt. Wenn ein Serum, z. B. ein Immunserum, so starke Agglutinine enthält, daß

es verdünnt werden kann, bis die eventuellen Konglutinine keine Rolle mehr spielen können, so bekommt man eine stärkere Ausflockung von den nativen als von den alexinierten Blutkörperchen.

In dieser Richtung wäre vielleicht auch die Tatsache zu deuten, daß Pferdeserum durch Erhitzen auf 56° in der Regel zu Anfang schnellere und stärkere Ausflockung der Meerschweinchenblutkörperchen verursacht als in frischem Zustande. Das Alexin des frischen Pferdeserums würde die Agglutination dieser Blutkörperchen hemmen, die Konglutinine des Pferdeserums könnten dagegen erst dann in Aktion treten, wenn das Alexin gebunden wird, und so wäre vielleicht zu verstehen, warum die Ausflockung erst schneller durch inaktiviertes Pferdeserum verursacht wird, während nach einigen Stunden des Verhältnis umgekehrt wird und die Ausflockung durch frisches Pferdeserum stärker wird.

Die zweite mögliche Erklärung der hemmenden Wirkungsart des Alexins wäre, daß bei der Alexinbindung Stoffe frei werden können, welche dann die Agglutination hemmen. Auch diese Hypothese kann eine Bedeutung haben. Wenn man mit sensibilisiertem Schafblute das Alexin des Pferdeserums bindet und entfernt, so verliert das Serum zwar auch sein hemmendes Vermögen gegen Agglutination der Typhusbacillen oder anderer Blutkörperchen, z. B. von Meerschweinchen, aber das alexinfreie Serum hemmt noch deutlich, obwohl relativ schwach, die Agglutination von denselben Blutkörperchen, in diesem Falle Schafblutkörperchen, mit welchen das Alexin zuerst gebunden wurde. Im Gegenteil, wenn man mit Meerschweinchenblutkörperchen das Alexin des Pferdeserums entfernt, so verschwindet auch die Hemmung für Schafblutkörperchen und Typhusbacillen, aber nicht ebenso vollständig für Meerschweinchenblutkörperchen. Ich kann für diese Erscheinung nur die Erklärung finden, daß das Alexin bei der ersten Behandlung mit den sensibilisierten, z. B. Schafblutkörperchen, gebunden wird und deshalb keine Hemmung für Mikroben oder andere Blutkörperchen (Meerschweinchen) mehr hervorrufen kann, da das dazu notwendige Alexin fehlt. Bei der ersten Bindung des Alexins und bei beginnender Hämolyse resp. Bakteriolyse werden aber vielleicht Stoffe frei, welche

gegen die Agglutinine derselben Blutkörperchen spezifisch wirken und so die Hemmung verursachen könnten (Pfeiffer-Friedbergersches Phänomen).

Zusammenfassung.

Die in frischen Seris vorkommenden Hemmungserscheinungen scheinen nicht durch spezifische Proagglutinoide hervorgerufen zu sein, sondern dieselben sind von dem Alexin abhängig.

Alexinbindung und beginnende Bakteriolyse resp. Hämolyse hemmt die Wirkung der Agglutinine. Gegenwart des Alexins ohne Bindung desselben hat nicht diese Wirkung.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Wirkl. Geheimrat Czerny).]

Ueber Nachweis und Vererbung biochemischer Strukturen.

I.

Von Prof. E. v. Dungern und Dr. L. Hirschfeld.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. November 1909.)

Wir haben untersucht, in welcher Weise die durch Antikörper nachweisbaren biochemischen Eigenschaften des Protoplasmas vererbt werden. Die Antikörperreaktionen erlauben ja Verschiedenheiten der chemischen Struktur zu erkennen, die auf keine andere Weise nachweisbar sind.

Die spezifischen Unterschiede, die mit Hilfe dieser Methode zutage getreten sind, zeigen vor allem Artverschiedenheiten an. Wenn man z. B. ein Kaninchen mit dem Blute irgendeines Hundes vorbehandelt hat, so lassen sich nach einiger Zeit neue spezifische Substanzen im Serum des Versuchstieres nachweisen. Diese Antikörper wirken auf das Blut aller Hunde ziemlich gleichmäßig ein, obgleich die anatomischen Unterschiede der verschiedenen Hunderassen erhebliche sind. Die Art erweist sich dabei jedoch nicht immer scharf umgrenzt; ein Teil der gebildeten Antikörper besitzt auch die Fähigkeit,

mit protoplasmatischen Substanzen verwandter Tierarten zu reagieren.

Es gelingt jedoch leicht, vollkommen artspezifische Antikörper zu erzeugen, und zwar entweder durch Absorption oder durch besondere Art der Immunisierung. Wenn man z. B. die Wirkung der in Kaninchen nach Injektion von Hundeblood entstandenen Agglutinine für den Fuchs wegnehmen will, so braucht man nur das agglutinierende Serum mit dem Blut eines Fuchses zu versetzen und dann abzuzentrifugieren. Das Serum wirkt dann bloß auf Hundeblood, nicht mehr auf Blut des Fuchses. Bei der Immunisierung kann man die Wirkung auf die nahestehende Tierart dadurch vermeiden, daß man die Antikörper in dieser selbst erzeugt. So erhält man nach Vorbehandlung eines Kaninchens mit Hasenblood Antikörper, welche lediglich auf Hasenblood, nicht aber auf Kaninchenblood wirken [Uhlenhuth¹⁾, v. Dungern und Coca²⁾], während bei anderen Tierarten auf die Injektion von Hasenblood auch solche Antikörper entstehen, die mit Kaninchenblood reagieren. Es ist also die Gesetzmäßigkeit zu konstatieren, daß solche Antikörper nicht auftreten, welche an dem Blute des antikörperliefernden Tieres angreifen können.

Außer den artspezifischen sind noch andere Antikörper bekannt geworden, deren Wirkung sich nicht auf alle Individuen ein und derselben Art erstreckt. Als Ehrlich und Morgenroth³⁾ bei Ziegen lackfarben gemachtes Ziegenblood in größerer Menge injizierten, erhielten sie in mehreren Fällen hämolytische Immunkörper gegen das Blut von Ziegen (Isohämolyse). Es zeigte sich hier die Eigentümlichkeit, daß das Blut der Antikörper produzierenden Ziege gegenüber dem eigenen Hämolyse unempfindlich war. Die Blutkörperchen anderer Ziegen wurden auch nicht immer in gleicher Weise beeinflußt, und zwar ließ es sich nachweisen, daß die bei 3 Ziegen dargestellten Isohämolyse alle drei verschieden waren. Es wurde weiter festgestellt, daß auch dann verschiedene Hämolyse auftreten, wenn 2 verschiedene Ziegen in gleicher Weise mit demselben Blut vorbehandelt worden

- 1) Uhlenhuth, Verhandl. der deutschen Naturforscher, 1905.
- 2) v. Dungern und Coca, diese Zeitschrift, Bd. 2, 1909.
- 3) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1900.

sind. Die Artspezifität für Ziegenblut war auffallenderweise öfters nicht vollkommen ausgeprägt; es kam vor, daß das durch Ziegenblut ausgelöste Hämolyse in geringerem Grade auch Hammelblut angriff, obgleich es für das Ziegenblut des Trägers unwirksam war. Im Serum von Menschen werden häufig Isoagglutinine gefunden. Landsteiner¹⁾ stellte fest, daß es zwei verschiedene gibt, die entweder isoliert oder vereint im Serum vorkommen. Die Blutkörper sind immer für dasjenige Isoagglutinin, das im Serum vorhanden ist, unempfindlich. Die Erscheinung, daß Isoantikörper zum Gewebe des produzierenden Tieres keine Beziehung haben, tritt speziell bei der Behandlung mit Blut hervor. Sie gilt nicht für alle Gewebe. So erhält man nach der Vorbehandlung von Meerschweinchen durch irgendwelche Hodensubstanzen der gleichen Tierart Spermotoxine, durch welche die Spermatozoen aller Meerschweinchen, auch die des Trägers, abgetötet werden, wenn sie mit dem Serum in Berührung kommen [Metalnikoff²⁾, Adler³⁾].

Wir sehen demnach, daß wir mit Hilfe der Antikörper die einzelnen Arten viel schärfer unterscheiden können als einzelne Individuen. Wenn man die väterlichen und mütterlichen Bestandteile im Gewebe der Kinder biochemisch sicher erkennen will, so ist es daher am besten, zwei verschiedene Tierarten zu bastardieren und vollkommen artspezifische Antikörper zu benutzen. Freilich ist es möglich, daß man bei dieser Versuchsanordnung nur einen Spezialfall analysiert, da bei einer so weitgehenden Verschiedenheit der beiden Eltern vielleicht andere Bedingungen vorliegen als dann, wenn nur wenig verschiedene Keimplasmen sich vereinigen.

Wir haben aus äußeren Gründen von solchen Versuchen, wie man sie z. B. bei Pferden und Eseln vornehmen kann, vorderhand Abstand genommen, und statt dessen als Versuchstiere Hunde gewählt, da wir glaubten, die großen Rassenverschiedenheiten könnten auch hier in der Rassenspezifität der zugehörigen Antikörper ihren Ausdruck finden.

1) Landsteiner, Wien. klin. Wochenschr., 1901.

2) Metalnikoff, Annales de l'Institut Pasteur, 1900.

3) Adler, diese Zeitschrift, Bd. 3, 1909.

Eine große Anzahl von Hunden weiblichen und männlichen Geschlechtes wurden in der Weise behandelt, daß immer einem Hunde das Blut einer Hündin und umgekehrt derselben Hündin das Blut des gleichen Hundes intraperitoneal eingespritzt wurde.

Wenn man gewaschenes, in physiologischer Kochsalzlösung suspendiertes 5-proz. Hundeblut mit normalem Hundeserum mischt, so tritt oft mehr oder weniger rasch Hämolyse ein. Diese Blutlösung bleibt nach der Inaktivierung des Serums erhalten und ist auch dann zu beobachten, wenn die Blutkörperchen und das Serum demselben Individuum angehören. Es handelt sich um eine besondere Form der Hämolyse, welche mit der Komplementhämolyse nichts zu tun hat. Die genaue Analyse zeigt, daß die Blutkörperchen verschiedener Hunde ungleich empfindlich sind und daß die Sera ungleich stark hämolysieren. Sowohl im Verhalten des Serums wie in dem der Blutkörper werden zeitliche Schwankungen angetroffen.

Die Hämolysine waren demnach für unsere Zwecke unbrauchbar. Aggutinine für Hundeblut wurden dagegen in keinem einzigen Fall im Serum nicht vorbehandelter Hunde konstatiert. Sie traten in einigen Fällen nach der intraperitonealen Injektion von lackfarben gemachtem Hundeblut auf. Es war daher möglich, die Agglutination als Kriterium der Antikörperbildung zu benutzen.

Bei einer deutschen Schäferhündin und einem Schnauzer, die wechselseitig mit Blut vorbehandelt waren, entstanden besonders reichlich Aggutinine. Wir paarten daher diese beiden Tiere und erhielten 6 Junge, von denen 4 am Leben blieben. Die drei ersten haben den Kopf des Vaters, aber die Behaarung der Mutter, während das Junge 4 dem Vater in jeder Beziehung ähnlich sieht. Eines (Junges 3) war ein Weibchen, die übrigen Männchen. Nachdem die Jungen 5 Tage alt waren, wiederholten wir die Blutinjektion bei den Eltern. Der Vater erhielt wiederum das Blut der Mutter und die Mutter das Blut des Vaters. 8 Tage darauf (14. Sept.) wurde das Serum der beiden Tiere für die Untersuchung gewonnen und in der Menge von 0,5 ccm mit 0,5 ccm 5-proz. Blutkörpersuspension zusammengebracht. Untersucht wurde das Blut der beiden Eltern, der 4 Jungen und außerdem noch das eines zweiten Schnauzers No. 13, eines dritten Schnauzers No. 33, eines Pudelschnauzers No. 14, eines Pinschers, eines Jagdhundes, eines Bernhardiners, einer Bulldogge, eines Dogge-Schäferhundes, eines deutschen Schäferhundes und eines Rotweilers. Einer ganz reinen Rasse gehörte nur die Bulldogge an, doch waren auch die anderen

Hunde reinrassig genug, um als Vertreter der verschiedenen Rassen gelten zu können. Die Sera all dieser Hunde agglutinierten keine Blutsorte. Dagegen traten bei den beiden vorbehandelten Hunden Agglutinine auf, welche eine eigenartige Spezifität aufwiesen. Das Serum des Vaters (Schnauzer) agglutinierte folgendermaßen:

das Blut des Vaters (Schnauzer)	nicht
„ „ der Mutter	total
„ „ des Jungen 1	nicht
„ „ „ „ 2	nicht
„ „ „ „ 3	nicht (Hämolyse)
„ „ „ „ 4	spurweise
„ „ „ Schnauzers 13	stark
„ „ „ Schnauzers 33	stark
„ „ „ Pudelschnauzers 14	nicht
„ „ „ Pinschers	gering
„ „ „ Jagdhundes	nicht
„ „ „ Bernhardiners	nicht
„ „ der Bulldogge	stark
„ „ „ Dogge-Schäferhündin	stark
„ „ des Schäferhundes	nicht
„ „ „ Rotweilers	nicht

Der Versuch wurde mit dem gleichen Serum 3 Tage später wiederholt (17. Sept.), wobei das Blut zu einer anderen Tageszeit entnommen wurde. Das Ergebnis war genau das gleiche. 5 Tage später (22. Sept.) hatte der Versuch das gleiche Resultat. Weitere 7 Tage später (29. Sept.), 3 Wochen nach der letzten Injektion, wurde nochmals eine Prüfung vorgenommen, aber außer den Eltern und den Jungen nur Rotweiler, Bulldogge und Schnauzer 13 berücksichtigt. Das Serum agglutinierte

das Blut des Vaters (eigenes)	nicht
„ „ der Mutter	total
„ „ des Jungen 1	nicht
„ „ „ „ 2	nicht
„ „ „ „ 3	stark (die Hämolyse ist jetzt ganz gering)
„ „ „ „ 4	total
„ der Bulldogge	stark
„ des Rotweilers	nicht
„ „ Schnauzers 13	nicht

Nach weiteren 8 Tagen agglutinierte das Serum des Vaters nur noch das Blut des Jungen 3 gering (keine Hämolyse), das der Mutter und der anderen Jungen nicht mehr. Es wird nun (7. Okt.) eine neue Injektion vorgenommen von 10 ccm Blut des Jungen 1 und 8 Tage später wiederholt. Am 14. Okt. agglutiniert das Serum noch das Blut des Jungen 3 ganz gering, das der Mutter und der übrigen Jungen gar nicht. Am 21. Okt. wirkt es überhaupt nicht. Das Blut des Jungen 1 hat demnach keine Agglutininbildung veranlaßt. Am 11. Nov. wird eine weitere Injektion von 10 ccm Blut der Schäferhündin vorgenommen. Am 18. Nov. agglutiniert sein Serum:

das Blut des Vaters (eigenes)	nicht
„ „ der Mutter	total
„ „ des Jungen 1	nicht
„ „ „ „ 2	nicht
„ „ „ „ 3	stark (Hämolyse)
„ „ „ „ 4	total
„ „ „ Schnauzers 13	nicht
„ „ „ „ 33	nicht
„ „ der Bulldogge	stark (Hämolyse)
„ „ des Jagdhundes	nicht

Am 25. Nov. und am 2. Dez. wurde Blut der Jungen 1 und 2 in gleicher Weise in der Menge von 8 ccm injiziert. Es kam wieder zu keiner Produktion von Agglutinin gegen das Blut der beiden Jungen.

Das Serum der Mutter agglutiniert am 14. Sept. folgendermaßen:

das Blut der Mutter (eigenes)	nicht
„ „ des Vaters	komplett
„ „ „ Jungen 1	nicht
„ „ „ „ 2	nicht
„ „ „ „ 3	nicht
„ „ „ „ 4	fast komplett
„ „ „ Schnauzers 13	nicht
„ „ „ „ 33	nicht
„ „ „ Pudelschnauzers	nicht
„ „ „ Pinschers	nicht
„ „ „ Jagdhundes	nicht
„ „ „ Bernhardiners	nicht
„ „ der Bulldogge	nicht
„ „ „ Dogge-Schäferhündin	nicht
„ „ „ Schäferhündin	nicht
„ „ des Rotweilers	total

Der Versuch wurde 3 Tage später wiederholt, wobei das Blut zu einer anderen Tageszeit entnommen wurde. Das Resultat war genau das gleiche. Am 22. Sept. spritzten wir, nachdem wir uns vergewissert hatten, daß Agglutinine noch in gleicher Weise im Serum vorhanden waren, 15 ccm Blut, das den Jungen 1 und 2 entnommen war, durch Wasser aufgelöst in die Bauchhöhle. 7 Tage darauf, am 29. Sept., agglutinierte das Serum folgendermaßen:

das Blut der Mutter (eigenes)	nicht
„ „ des Vaters	total
„ „ „ Jungen 1	nicht
„ „ „ „ 2	nicht
„ „ „ „ 3	nicht
„ „ „ „ 4	total
„ „ der Bulldogge	nicht
„ „ des Schnauzers	nicht
„ „ „ Rotweilers	total

Der Absorptionsversuch ergab, daß nicht agglutinable Blutkörperchen nicht binden, während alle agglutinationsfähigen Blutarten das gesamte Agglutinin dem Serum entzogen. Am 7. Okt. war gar keine Agglutination nachzuweisen. Es wurden nun 10 ccm vom Jungen 4 injiziert und am

14. Okt. die Injektion wiederholt. Am 21. Okt. agglutinierte das Serum nur das Blut des Jungen 4 in geringem Grade, alle anderen dagegen nicht. Am 11. Nov. wurde eine weitere Injektion von 10 ccm Blut des Vaters vorgenommen. Am 18. Nov. agglutinierte das Serum keine Blutsorte.

Wir sehen demnach, daß nach der Vorbehandlung des Schnauzers mit dem Blut der Schäferhündin und nach der Vorbehandlung der Schäferhündin mit dem Blut des Schnauzers Agglutinine für das benutzte Blut auftreten. Diese Agglutinine wirken in keinem Falle auf das Blut des antikörperliefernden Tieres, dagegen erstreckt sich ihre Wirkung auch auf einige fremde Hunde. Das von der Mutter gelieferte Agglutinin ist spezifischer, unter 10 untersuchten Blutsorten von nicht blutsverwandten Hunden wird nur eine einzige Blutart (Rotweiler) agglutiniert. Das von dem männlichen Hunde zuerst gelieferte Agglutinin ist dagegen auf 5 der 10 Blutsorten wirksam. Später verlor sein Serum seine Wirksamkeit für das Blut der beiden Schnauzer.

Es ist ohne weiteres klar, daß die Spezifität, die wir in den Agglutinationsversuchen beobachteten, nicht durch Zugehörigkeit eines Hundes zu einer bestimmten Rasse bedingt wird, denn einerseits wird das Blut von solchen Hunden auch agglutiniert, die mit dem antigenliefernden keine anatomische Verwandtschaft haben, und andererseits kann auch das Blut von Hunden derselben Rasse sich ganz verschieden verhalten. Die Spezifität, die hier beobachtet wird, bezieht sich demnach auf individuelle Eigenheiten, die nur einzelnen Individuen ein und derselben Rasse zukommen und trotzdem bei verschiedenen Rassen gemeinschaftlich angetroffen werden können. Es ist somit nicht möglich, mit Hilfe der Agglutininreaktion das Blut der Schnauzer von dem der Schäferhunde zu unterscheiden. Dagegen gelang es, durch wechselseitige Behandlung unseres Schnauzers und unserer Schäferhündin je zwei Blutsorten voneinander zu unterscheiden, von denen die eine das Blut des Vaters, die andere das Blut der Mutter enthält. Wir können daher untersuchen, zu welcher dieser Gruppen die Blutkörper der 4 Jungen gehören. Die Zugehörigkeit läßt sich auf doppelte Weise feststellen.

Da das Agglutinin einerseits für das Blut des agglutininliefernden Hundes immer unwirksam ist, und andererseits

auch nicht alle anderen Blutsorten agglutiniert werden, sondern nur einzelne, zu denen immer das als Antigen verwandte gehört, so läßt sich die Spezifität, welche in den Versuchsergebnissen zutage tritt, sowohl auf den agglutininproduzierenden Hund, wie auch auf das zur Vorbehandlung benutzte Blut beziehen. Wir haben dem Hunde A Blut des Hundes B injiziert und ein Agglutinin im Serum des Hundes A erhalten, welches Blut von A nicht beeinflußt, dagegen Blut von B agglutiniert. Untersuchen wir nun das Blut eines weiteren Hundes C auf sein Verhalten zu dem Agglutinin, so läßt sich das Resultat sowohl auf A wie auf B beziehen. Wird das Blut C nicht agglutiniert, so spricht das dafür, daß das Blut von C dem Blut von A sehr ähnlich ist. Bindend ist dieser Schluß jedoch nicht, denn die Agglutination von Blut C kann auch ausbleiben, wenn A und C verschieden sind, und zwar dann, wenn B und C nichts von A Verschiedenes gemeinsam haben. Wird das Blut C von dem von A nach der Vorbehandlung mit B gelieferten Agglutinin agglutiniert, so ist mit Sicherheit darauf zu schließen, daß C mit A nicht übereinstimmt. Der Befund läßt ferner erkennen, daß B und C der gleichen Gruppe angehören. Wir haben aber nicht nur den Hund A mit dem Blute von B vorbehandelt, sondern auch den Hund B mit dem Blut von A, und damit ein zweites Agglutinin gewonnen, das sich in Bezug auf das Blut von A und B gerade umgekehrt verhält, indem es Blut von A agglutiniert, Blut von B dagegen nicht. Das Verhalten des Blutes C zu diesem Agglutinin erlaubt nun wiederum in der gleichen Weise Rückschlüsse auf die Aehnlichkeit oder Verschiedenheit von C und B und von C und A zu machen. Die Wahrscheinlichkeit, daß diese richtig sind, wird dadurch nicht unwesentlich erhöht. Betrachten wir von diesen Gesichtspunkten aus die Wirkungen der beiden Sera auf das Blut der Jungen, so konstatieren wir folgendes:

Das Blut des Jungen 4 wird vom Serum des Vaters und dem der Mutter komplett agglutiniert. Es gehört also sowohl in die väterliche wie in die mütterliche Gruppe. Wir müssen annehmen, daß die biochemischen Eigenheiten beider Eltern ausgebildet sind.

Das Blut des Jungen 3 wird vom Vater komplett, von der Mutter nicht agglutiniert. Damit ist der Beweis erbracht,

daß das Junge 3 in die Gruppe der Mutter gehört, während die Eigenheiten des väterlichen Blutes nicht zur Entwicklung gelangten.

Das Blut der Jungen 1 und 2 wurde weder vom Vater noch von der Mutter agglutiniert. Dieser Befund ist um so auffallender, als das vom Vater gelieferte Agglutinin auf so viele Blutsorten einwirkte, auch dann, wenn die Hunde nicht der gleichen Rasse angehörten. Da dem eigenen bzw. chemisch gleichartigen Blute des agglutininliefernden Tieres die Bindungsfähigkeit für das Agglutinin fehlt, so könnte man daran denken, diese Unempfindlichkeit des Blutes der beiden Kinder durch Identität mit dem väterlichen Blute zu erklären. Diese Annahme wird aber dadurch ausgeschlossen, daß auch das von der Mutter produzierte, auf Vaterblut wirkende Agglutinin völlig unwirksam ist.

Es bleiben demnach zwei Möglichkeiten übrig. Es könnte sich einerseits um eine Struktur handeln, die weder bei dem Vater noch bei der Mutter vorkommt und die sich durch Kombination beider Bestandteile oder durch Rückschlag auf die Ahnen erklären ließe (latente oder recessive Anlagen). Andererseits muß man aber auch an die Möglichkeit denken, daß in den Blutkörpern dieser Jungen gerade nur diejenigen Eigenschaften der Eltern ausgebildet sind, welche beiden Eltern in gleicher Weise zukommen. Die Erscheinung, daß die beiden Eltern nach der Injektion des Blutes dieser Jungen kein Agglutinin lieferten, spricht für die zweite Möglichkeit. Die Versuchsergebnisse würden für diese Annahme beweisend sein, wenn nicht die Möglichkeit bestünde, daß die Produktionsfähigkeit der beiden Eltern abgenommen habe, da die Mutter gegen Blut des Jungen 4 nur wenig und gegen Blut des Vaters später kein Agglutinin mehr lieferte.

Wir haben nun, um unsere Schlußfolgerungen zu kontrollieren, noch weitere Immunisierungsversuche vorgenommen.

Junges 1 erhielt am 14. Sept. je 2,5 Blut von Vater und Mutter mit destilliertem Wasser versetzt in die Bauchhöhle. Sein Serum enthielt in dieser Zeit keinerlei Agglutinine. Am 22. Sept. war das Serum noch unwirksam. Die Injektion wurde wiederholt. 7 Tage später, am 29. Sept., agglutinierte das Serum des Jungen 1 folgendermaßen:

das Blut des Vaters	total	das Blut des Jungen 4	gering
" " der Mutter	nicht	" " " Rotweilers	stark
" " des Jungen 1	nicht	" " der Bulldogge	stark
" " " " 2	nicht	" " des Schnauzers	nicht
" " " " 3	stark		

Durch einen Absorptionsversuch (0,5 gewaschenes Blut + 2,5 Serum) konnten wir nachweisen, daß das Blut der Bulldogge das Agglutinin für das Bulldoggenblut und für das Blut des Jungen 3 absorbiert, dagegen nicht wesentlich dasjenige für das Blut des Vaters und des Rotweilers. Es handelt sich also um 2 Agglutinine, von denen das eine mit dem Blute des Jungen 3 und der Bulldogge reagiert, während das andere auf das Blut des Vaters und Rotweilers gerichtet ist. Wir finden also dieselbe Gruppierung der Hunde, die wir bei der Untersuchung der von den Eltern gelieferten Agglutinine angetroffen haben: der Rotweiler entspricht dem Vater, die Bulldogge und Junges 3 der Mutter. Auffallend ist, daß das Mutterblut selbst in dieser Zeit nicht agglutiniert wird. Die Injektionen wurden wiederholt mit 10 ccm Blut, sonst in gleicher Weise. 8 Tage später wird auch das mütterliche Blut von dem Serum agglutiniert. Die Wirkung gestaltet sich jetzt folgendermaßen:

das Blut des Vaters	mäßig	das Blut des Jungen 4	stark
" " der Mutter	fast total	" " " Jagdhundes	nicht
" " des Jungen 1	nicht	" " " Schnauzers 13	nicht
" " " " 2	nicht	" " " Schnauzers 33	nicht
" " " " 3	total	" " der Bulldogge	total

Am 14. Oktober agglutiniert das Serum:

Junge 1	nicht	Vater	ganz gering
" 2	nicht	Mutter	nicht
" 3	mäßig	Bulldogge	mäßig
" 4	ganz gering		

Junges 4 erhielt die ganze Zeit die gleichen Injektionen und zeigte zu keiner Zeit eine Agglutininbildung.

Junges 2 erhielt am 14. Sept. in gleicher Weise 3 ccm Blut von Jungen 3 subkutan, und am 22. Sept. 4,5 ccm intraperitoneal. Am 29. Sept. agglutinierte das Serum:

das Blut vom Vater	nicht	das Blut des Jungen 4	nicht
" " der Mutter	gering	" " " Rotweilers	nicht
" " des Jungen 1	nicht	" " " Schnauzers 13	nicht
" " " " 2	nicht	" " der Bulldogge	stark
" " " " 3	total		

Die Injektion wurde wiederholt mit 10 ccm Blut des Jungen 3. Am 7. Okt. agglutinierte das Serum:

Vater	nicht	Junges 4	stark
Mutter	fast total	Bulldogge	total
Junges 1	nicht	Rotweiler	nicht
" 2	nicht	Schnauzer 13	nicht
" 3	total		

Absorptionsversuche mit dem Blute der Mutter, des Jungen 3, des Jungen 4, der Bulldogge (0,5 gewaschenes Blut + 2,5 Serum) ergaben, daß jede Blut-sorter das gesamte Agglutinin dem Serum entzog. Am 21. Okt. aggluti-nierte das Serum nur das Blut des Jungen 3 gering, alle anderen Blut-sorten nicht.

Wir haben außerdem noch 7 fremde Hunde vorbehandelt, und zwar Schnauzer 13 mit dem Blute des Vaters, Schnauzer 33 mit dem Blute der Mutter und später mit dem Blut der Jungen 1 und 2, Pudel-Pinscher-kreuzung, Bernhardiner, Wolfshund und Doggenkreuzung mit dem Blute der Jungen 1 und 2. Schnauzer 13 lieferte nach 2 Injektionen ein Agglu-tinin, das auf das Blut des Vaters sehr stark wirkte (die Agglutination trat verspätet ein) und noch das Blut des Jungen 4 gering zusammenballte, während die übrigen Blutsorten nicht verändert wurden. (Rotweiler konnte nicht mehr geprüft werden.)

Ueberblicken wir die zuletzt beschriebenen Untersuchungen, so ist leicht zu erkennen, daß die Ergebnisse durchaus ge-eignet sind, unsere früheren Schlußfolgerungen zu bestätigen und zu ergänzen. Im Blute des Jungen 4 waren die chemischen Strukturen der Eltern beide nachzuweisen. Da gegen das eigene oder ein dem eigenen gleichartiges Blut keine Anti-körper entstehen, so war zu erwarten, daß nach Vorbehand-lung mit elterlichem Blute keine Antikörperbildung eintreten würde. Das Junge 4 hat in der Tat nach wiederholten In-jektionen von väterlichem und mütterlichem Blut keine Agglu-tinine gebildet.

Beim Jungen 1 konnten wir weder das väterliche noch das mütterliche Plasma nachweisen. Wir mußten daher annehmen, daß die chemische Struktur der Blutkörperchen eine anders-artige ist. In diesem Falle war die Möglichkeit einer Antikörper-bildung gegenüber dem Blut der Eltern gegeben. Die Versuche zeigten, daß tatsächlich gegen beide Blutsorten Agglutinine auf-traten. Es konnte dabei sogar durch Absorptionsversuche nach-gewiesen werden, daß zweierlei Agglutinine gebildet wurden, von denen das eine mit dem väterlichen, das andere mit dem mütterlichen Blut reagierte. Diese beiden Agglutinine zeigten auch in ihren sonstigen Wirkungen eine weitgehende Analogie mit denjenigen, die von dem Vater und von der Mutter pro-duziert worden sind. Es war dieselbe Gruppierung vorhanden, und zwar zeigte der Rotweiler die merkwürdige Ueberein-stimmung mit dem Vater, und die Bulldogge und Junges 3 mit der Mutter.

Das Blut des Jungen 3 wurde durch das der Mutter gegen Vaterblut gelieferte Agglutinin nicht beeinflusst, es war daher anzunehmen, daß der väterliche Bestandteil hier fehlt oder modifiziert ist. Da das vom Vater gegen Mutterblut gelieferte Agglutinin eine Agglutination im Blute des Jungen 3 erzeugte, so war damit die Zugehörigkeit zu der Gruppe der Mutter bewiesen.

Die Vorbehandlung des Jungen 2 mit dem Blute des Jungen 3 hat nun eine vollständige Bestätigung dieser Schlußfolgerung ergeben. Es entstanden Agglutinine, die nicht nur auf das Blut des Jungen 3, sondern auch auf das Blut der Mutter gerichtet waren, während andererseits jede Wirkung auf das väterliche Blut fehlte. In Uebereinstimmung damit wurde genau wie bei dem vom Vater gegen das Mutterblut gelieferten Agglutinin das Blut des Rotweilers nicht, das Blut der Bulldogge stark agglutiniert. Das Blut des Jungen 4 wurde ebenfalls beeinflusst. Dieser Befund bestätigt aufs neue unsere Annahme, daß in dem Blute des Jungen 4 neben dem väterlichen auch der mütterliche Bestandteil vorhanden ist. Das Resultat des Absorptionsversuches steht damit im Einklang: es zeigt, daß die Blutkörper der Mutter, des Jungen 4, der Bulldogge und des Jungen 3 gleichmäßig das gesamte Agglutinin absorbieren.

Die Versuchsergebnisse geben uns außerdem einige Aufschlüsse über die Gesetze der Bildung der Isoagglutinine. Wir erkennen, daß Tiere, welche der gleichen Gruppe angehören, für das Blut einer anderen Gruppe, die mit der ersten nichts gemeinschaftlich hat, das gleiche Agglutinin liefern (der Schnauzer 13 liefert nach der Injektion von Vaterblut das gleiche wie die Mutter). Wir sehen ferner, daß Tiere, deren Blut verschiedenen biochemischen Gruppen angehört, trotzdem für das Blut einer dritten Gruppe gleichartige Agglutinine liefern können (Junges 1 liefert das gleiche wie der Vater auf Mutterblut und das gleiche wie die Mutter auf Vaterblut, obgleich es weder der mütterlichen noch der väterlichen Gruppe angehört, Junges 2 liefert nach Vorbehandlung mit Blut vom Jungen 3 Agglutinine für die mütterliche Gruppe). Es ist durch die Versuche weiter sichergestellt, daß nur dann Agglutinine entstehen, wenn das eingeführte Blut zum mindesten

einige Bestandteile enthält, welche nicht derselben Gruppe angehören. (Junges 4 liefert nichts gegen väterliches und mütterliches Blut, da es beiden Gruppen angehört, Schnauzer 33 nichts gegen Mutterblut, da er der mütterlichen Gruppe angehört. Dagegen liefert der Vater gegen die Mutter, Junges 1 gegen Vater und gegen Mutter, Junges 2 gegen die mütterliche Gruppe, Schnauzer 13 gegen Vaterblut, und in diesen Fällen gehört das Blut des agglutininliefernden Hundes einer anderen Gruppe an als das eingeführte Blut.) Die Art der Agglutinine ist demnach in erster Linie von dem eingeführten Antigen abhängig. Die Natur des antikörperliefernden Tieres kommt nur insofern in Betracht, als die biochemischen Eigenschaften seines Blutes nicht die gleichen sein dürfen, wie die des eingeführten. Eine scheinbare Ausnahme ist nur dann zu verzeichnen, wenn ein Blut gleichzeitig verschiedenen Gruppen angehört; in diesem Falle werden verschiedene Agglutinine entstehen müssen, je nachdem welcher Bestandteil die Antikörperbildung auslöst. Nehmen wir also an, das injizierte Blut gehöre der biochemischen Gruppe A an, so wird bei einem Tier der Gruppe A nichts entstehen, bei einem Tier der Gruppe B oder C dagegen ein identisches, auf A passendes Isoagglutinin. Gehört das eingeführte Blut aber der Gruppe A und B gleichzeitig an, so wird bei einem Tier der Gruppe B ein Agglutinin auf A, bei einem Tier der Gruppe A ein Agglutinin für B entstehen und die Agglutininbildung nur dann ausbleiben, wenn das Blut einem solchen Tier eingeführt worden ist, das gleichzeitig beiden Gruppen A und B angehört.

Es ist aus alledem ersichtlich, daß die chemischen Strukturen bei verschiedenen Hunden in der Tat verschieden sein können. Es haben sich eben auch bei den Blutkörperchen Variationen innerhalb der Art ausgebildet. Besonders fällt dabei auf, daß diese sich mit den anatomischen Merkmalen der verschiedenen Hunderassen nicht decken. Man muß annehmen, daß die Blutkörperchen unabhängig von anderen Geweben variieren, was vielleicht dadurch zu erklären ist, daß die Variation des Blutes durch andere Ursachen veranlaßt wird, wie die des Knochenbaues, der Muskulatur etc.

Wir konnten zweierlei spezifische Verschiedenheiten und demgemäß viererlei Blutsorten nachweisen. Da das Blut der Jungen 1 und 2, welches durch keines der beiden Agglutinine beeinflusst wurde, bei keinem Hunde Agglutinine auslöste, so ist es sehr wahrscheinlich, daß, was die antigenen Eigenschaften betrifft, diese beiden Verschiedenheiten die einzigen sind, welche überhaupt bei Hundeblut vorkommen.

Was die Vererbung dieser biochemischen Eigenschaften betrifft, so konnten wir feststellen, daß sie bei den Jungen in der verschiedensten Weise vertreten sein können. Das Blut des Jungen 4 hat gleichzeitig die Eigenschaften der väterlichen und der mütterlichen Gruppe. Das Blut des Jungen 3 zeigt das Verhalten des mütterlichen Blutes, während die Eigenschaften des väterlichen Blutes nicht in Erscheinung treten. Die Blutkörperchen der Jungen 1 und 2 haben weder mit dem mütterlichen noch dem väterlichen Blute die Eigenheiten gemeinsam, welche durch die entsprechenden Agglutinine charakterisiert werden. Es fragt sich nun weiter, inwieweit die Zugehörigkeit zur väterlichen oder mütterlichen Gruppe auf Vererbung der biochemischen Eigenschaften der Eltern selbst zurückgeführt werden kann.

Diese Schlußfolgerung ist nicht mit der gleichen Sicherheit zu ziehen, wie wenn es sich um Rasseeigentümlichkeiten handelt, und zwar deshalb, weil über die Vererbung der biochemischen Eigenschaften bis jetzt keine Erfahrungen vorliegen. Wir wissen nicht, ob bei der Paarung von zwei der gleichen chemischen Gruppe angehörenden Hunden auch die Jungen in dieselbe Gruppe fallen müssen. Es ist uns unbekannt, zu welcher Gruppe die Ahnen gehörten, deren Eigenschaften durch Rückschlag in den Kindern wieder erscheinen könnten. Wir können daher nur mit Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Zugehörigkeit des kindlichen Blutes zur biochemischen Gruppe der Eltern auf Vererbung seiner Eigenschaften beruht.

Warum bei den Jungen 1 und 2 die Eigenheiten der beiden Eltern nicht erkennbar sind, können wir nicht sicher beurteilen, da die Großeltern unbekannt sind. Weitere Versuche über das Verhalten der nächsten Generation werden diese Lücke auszufüllen haben. Von besonderem Interesse

muß es auch sein, festzustellen, ob im Verlaufe des Lebens Veränderungen in der Zusammensetzung der Blutkörperchen stattfinden. Die Beobachtung, daß das Blut des Jungen 4 durch das vom Vater gegen Mutterblut gelieferte Agglutinin am 14. September nur spurweise agglutiniert wurde, bei den späteren Prüfungen am 29. September und am 11. Oktober dagegen total, könnte in diesem Sinne gedeutet werden. Bei dem Blut des Jungen 3 wurde die gleiche Erscheinung wahrgenommen; in diesem Fall war das Blut in der ersten Zeit jedoch außergewöhnlich empfindlich für das Hämolyse des väterlichen Serums. Es ist daher möglich, daß die Agglutination durch die Hämolyse unterdrückt wurde.

Wir haben ferner Untersuchungen über die Vererbung der biochemischen Struktur der menschlichen Blutkörper begonnen. Wir benutzen zu diesem Zwecke die normalen Isoagglutinine, da diese nach den Beobachtungen von Landsteiner in ganz ähnlicher Weise wie die künstlich erzeugten Isoagglutinine biochemische Gruppierungen ermöglichen. Es dürfte hier wohl möglich sein, die Vererbungsgesetze zu erkennen und, in einzelnen Fällen wenigstens, aus der biochemischen Struktur des kindlichen Blutes Schlüsse auf die Provenienz des kindlichen Plasmas zu ziehen.

Zusammenfassung.

1) Die durch Vorbehandlung eines Hundes mit Hundeblood erzielten Isoagglutinine lassen erkennen, daß die Hunde sich in mehrere Gruppen einteilen lassen, die dadurch charakterisiert sind, daß das Blut der betreffenden Hunde von einem bestimmten, für die ganze Gruppe identischen Agglutinin beeinflusst wird. Es ist anzunehmen, daß den Blutkörperchen der Hunde einer Gruppe eine identische chemische Struktur zukommt.

2) Die Rasseigenschaften der Hunde gehen dieser biochemischen Gruppierung nicht parallel. Es ist anzunehmen, daß die Variationen der biochemischen Struktur der Blutkörper von Bedingungen abhängen, die mit denen, welche die Eigenart des Knochenbaues, der Muskulatur etc. bedingen, nicht übereinstimmen.

3) Das Prinzip der Bildung der Isoantikörper beruht darauf, daß diese nur dann entstehen, wenn das eingeführte Blut Bestandteile enthält, welche in dem Blute des die Isoantikörper produzierenden Tieres nicht in gleicher Weise vorhanden sind. Es waren im wesentlichen zweierlei Verschiedenheiten der biochemischen Struktur nachweisbar.

Die Blutkörper enthielten entweder 1) A oder 2) B oder 3) A und B oder 4) weder A noch B. Blut der Gruppe 1 ruft bei Hunden der Gruppen 2 und 4 Agglutinine für A hervor, bei Hunden der Gruppen 1 und 3 dagegen nicht. Blut der Gruppe 2 bedingt entsprechend Agglutinin gegen B bei Hunden der Gruppen 1 und 4, bei Hunden der Gruppen 2 und 3 dagegen nicht. Blut der Gruppe 3 ruft nur bei Hunden der gleichen Gruppe kein Agglutinin hervor, dagegen bei Hunden der Gruppe 1 Agglutinin gegen B bei Hunden der Gruppe 2 Agglutinin gegen A, bei Hunden der Gruppe 4 Agglutinine gegen A und B. Blut der Gruppe 4 bedingt nirgends Agglutininbildung. Es ist somit wahrscheinlich, daß A und B die einzigsten Verschiedenheiten sind und alle anderen antigenen Eigenschaften der Struktur allen Hundeblutkörpern gleichmäßig zukommen.

4) Die Kinder von zwei Hunden, deren Blut verschiedenen biochemischen Gruppen angehört, verhielten sich in bezug auf die Strukturen der Eltern verschieden. Das Blut des einen Kindes gehörte zur Gruppe der Mutter, das Blut des anderen ließ die Strukturen beider Eltern erkennen, zwei andere Junge zeigten die biochemischen Eigenheiten der Eltern nicht. Diese Befunde konnten sowohl durch die Art der Reaktion mit den gegen das väterliche und mütterliche Blut gerichteten Agglutininen, wie auch durch Immunisierungsversuche festgestellt werden.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Krankenhauses Am Urban, Berlin.]

Ueber Tuberkulinanaphylaxie.

Von Dr. **Siegfried Simon.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. November 1909.)

Schon längere Zeit beschäftigte ich mich mit Versuchen, die die Möglichkeit erweisen sollten, eine aktive Anaphylaxie gegen Tuberkulin beim Meerschweinchen zu erzeugen, als die Arbeit von J. Bauer¹⁾ über passive Anaphylaxie gegen Tuberkulin beim Meerschweinchen erschien, die mich veranlaßte, auch in bezug auf dieses Phänomen Versuche anzustellen. Gleiche Resultate, wie ich sie dabei erhielt, hat dann auch vor kurzem Novotný²⁾ veröffentlicht.

Die Temperaturkurve der Meerschweinchen ist eine so unregelmäßige, auch bei ganz gesunden, nicht behandelten Tieren, daß es schwer ist, geeignete Tiere zu finden für Versuche, bei denen man aus dem Verlaufe der Temperaturkurve Schlüsse ziehen will. Häufig erlebte ich ganz spontan Temperaturanstiege auf 40° und mehr mit späterem Abfalle auf normale Temperaturen. Ich halte deswegen eine sehr weitgehende Kritik für nötig gegen Schlüsse, die sich nur auf einen Temperaturanstieg stützen und habe nur bei solchen Tieren die Experimente als beweisend angesehen, die vor und nach dem durch den Versuch erzeugten Fieber längere Zeit konstante, normale Temperaturen aufwiesen. Das Kaninchen, das ich zu Parallelversuchen benutzte, hat einen viel gleichmäßigeren Temperaturverlauf, hier können nicht so leicht Fehler durch spontane Temperatursteigerungen entstehen. Die heterologen Sera injizierte ich nach Inaktivierung, da ich bei Injektionen aktiver Sera beim Meerschweinchen wiederholt

1) J. Bauer, Die passive Uebertragung der Tuberkuloseüberempfindlichkeit. Münchener mediz. Wochenschr., 1909, No. 24.

2) J. Novotný, Ist die Temperatursteigerung als Kriterium bei der passiven Uebertragung der Tuberkuloseüberempfindlichkeit anzusehen? Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, 1909, Heft 7.

Kollaps und Exitus auftreten sah. Zwecks Feststellung, ob es eine Anaphylaxie gegen Tuberkulin gibt, machte ich folgende Versuche:

I. 4 Meerschweinchen, mit 0,125 ccm Alttuberkulin subkutan injiziert, zeigten sofort nach der Injektion Unruhe und einige Minuten lang geringe Springkrämpfe, wie ich sie ganz gleich bei Peptoninjektionen fast regelmäßig hier im Institut bei Meerschweinchen gesehen habe. Die Tiere erholten sich sehr schnell und waren nach 10 Minuten wieder ganz munter. Nach 2—5 Stunden stieg bei 2 Tieren die Temperatur plötzlich an, bis auf 40,3° und 39,6°, um nach weiteren 2 Stunden wieder auf ca. 37° abgefallen zu sein, mit langsamem Anstieg zur Norm dieser Tiere in den nächsten 12 Stunden. Bei den beiden anderen Tieren zeigte die Temperatur keine nennenswerte Erhöhung.

II. 4 Meerschweinchen wurden mit je 1,5 ccm inaktiviertem Serum von tuberkulösen Patienten und 2 Meerschweinchen mit je 1,5 ccm inaktiviertem Serum von sicher nichttuberkulösen Patienten subkutan injiziert und nach 24—48 Stunden mit 0,125 ccm Alttuberkulin subkutan. Fast alle zeigten sofort nach der Injektion des Tuberkulins die im I. Versuch beschriebenen Erscheinungen. Die Temperatur stieg bei allen Tieren, sowohl den mit Serum von tuberkulösen wie von gesunden Menschen vorbehandelten, nach 2—6 Stunden auf eine Temperatur zwischen 39,6° bis 40,6°, am höchsten (40,6°) bei einem mit dem Serum eines Nichttuberkulösen vorbehandelten. Sonstige Krankheitserscheinungen zeigten die Tiere nicht. Nach einigen Stunden war die Temperatur wieder abgefallen. Einmal habe ich nach der Vorbehandlung mit 1,5 ccm inaktiviertem Serum eines Tuberkulösen nach 28 Stunden 0,3 ccm einer Verdünnung 1:5 Bacillenemulsion (mit physiologischer Kochsalzlösung) anstatt des Alttuberkulin injiziert ohne Krämpfe nach der Injektion und ohne Temperaturanstieg später zu beobachten.

III. Ich habe dann versucht festzustellen, wie lange nach der Injektion eines menschlichen Serums die Fieberreaktion auf 0,125 ccm Alttuberkulin noch auftrat: Nach 3, 5 und 8 Tagen erhielt ich bei 2 Tieren gleich starke Krämpfe wie am 1. Tage und gleich hohes Fieber, dagegen fehlte beides bei 2 anderen Tieren bei Injektionen nach 5 Tagen und bei einem Tier bei Injektion nach 14 Tagen.

IV. Anstatt des menschlichen Serums habe ich bei 2 Tieren 1,5 ccm Kuhserum injiziert und nach 27 Stunden, sowie nach 3, 5 und 8 Tagen bei dem einen, nur nach 5 Tagen bei dem anderen 0,125 ccm Alttuberkulin beidesmal mit dem gleichen Erfolg, jedesmal wie früher: kurzdauernde Krämpfe und Temperatursteigerungen auf 39,6° bis 40,4° nach einigen Stunden.

V. Meine Parallelversuche an Kaninchen führten nur einmal bei Vorbehandlung mit 3,0 ccm inaktiviertem Serum eines Tuberkulösen und einmal mit 3,0 ccm Kuhserum zu einer einwandfreien Temperatursteigerung auf 40,2° und 40,1° nach Injektion von 0,125 ccm Alttuberkulin nach 27 Stunden, die sich bei dem mit Kuhserum vorbehandelten Tiere bei Wiederholung der Tuberkulininjektion nach 3, 5 und 8 Tagen wieder ein-

stellte, dagegen ergaben 3 weitere mit je 3 ccm inaktiviertem Serum von Tuberkulösen und 3 mit 3 ccm inaktiviertem Serum von Gesunden vorbehandelte keine oder keine nennenswerte Temperatursteigerung. Bei allen, auch den reagierenden Kaninchen, erfolgten niemals nach der Alttuberkulininjektion Krämpfe oder Unruhe, die Tiere verhielten sich ganz wie gesunde.

VI. Ich habe auch versucht, die Pirquetsche Reaktion bei den mit 1,5 ccm Serum von Tuberkulösen vorbehandelten Meerschweinchen mit konzentriertem Alttuberkulin anzustellen, wie das von Helmholtz¹⁾ angegeben ist. Zu diesem Zwecke enthaarte ich die Haut vorher mit Calciumhydrosulfid und fettete sie sogleich danach mit Vaseline ein, um Ekzeme zu vermeiden. Auf der Haut, die sich dann am nächsten Tage glatt und reizlos zeigte, wurde mit dem Impfbohrer ein mehr oder weniger tiefes Loch gebohrt; analog wie bei der menschlichen Haut, wo ja nur die dünne Epidermisschicht durchbohrt werden soll, läßt sich das nicht ausführen. Bei oberflächlichen Verletzungen bekam ich gar keine Reaktion, bei tieferen einen Schorf auf der Wunde und eine mehr weniger starke Infiltration um dieselbe herum, wobei ich keinen nennenswerten Unterschied finden konnte, ob ich nur die Hautverletzung ausführte oder auch noch Tuberkulin auf das freigelegte tiefere Gewebe einwirken ließ. Mit der Pirquetschen Impfpapier der menschlichen Haut hat die entzündliche Reaktion niemals eine Ähnlichkeit gehabt. Ich führte die Reaktion 2—5 Tage nach der Seruminjektion aus.

VII. Meine Versuche, eine aktive Tuberkulinanaphylaxie beim Meerschweinchen zu erreichen, lassen sich kurz zusammenfassen. Ich habe zur Vorbehandlung steigende Dosen von 0,000005 bis 0,5 mg Bacillenemulsion (berechnet auf Trockensubstanz) benutzt und in Zeiträumen von 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14 und 16 Tagen, sowie 30—40, 60 und 70 Tagen meist 0,01 mg, einige Male auch 0,5 mg reinjiziert, beide Male subkutan. Mehrere Male traten auch eigentümliche, 5—8 Tage lang anhaltende hohe Temperatursteigerungen auf, da aber sonst keine Reaktionen erfolgten, so halte ich das Resultat in Hinsicht auf die an sich schwankende Temperaturkurve des Meerschweinchens für negativ.

Zusammenfassung.

Meine Arbeit möchte ich dahin zusammenfassen, daß mit den bisher versuchten Methoden sich weder eine aktive noch eine passive heterologe Tuberkulinanaphylaxie beim nicht-tuberkulösen Meerschweinchen (und Kaninchen) erzeugen läßt.

1) F. Helmholtz, Ueber passive Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit bei Meerschweinchen. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, 1909, Heft 4.

Nachdruck verboten.

[Aus der k. k. Pädiatrischen Klinik (Vorstand: Hofrat Prof. Escherich) und dem k. k. Serotherapeutischen Institut (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf).]

Ueber Diphtheriekutanreaktion beim Meerschweinchen.

Von Dr. J. Novotný und Dr. B. Schick.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. November 1909.)

Schick hat gezeigt, daß die Haut des gesunden Menschen auf kutane Einimpfung von im Vakuum auf den zehnten Teil eingegengtem Diphtherietoxin mit einer spezifischen Reaktion antwortet; er hat auf den prinzipiellen Gegensatz zwischen Tuberkulinreaktion und Diphtheriekutanreaktion hingewiesen, der darin besteht, daß auf Tuberkulin nur derjenige Organismus mit positiver Kutanreaktion reagiert, der tuberkulös infiziert ist oder war. Auf Diphtherietoxin hingegen reagiert auch der Gesunde, d. h. auch derjenige, der nie eine diphtherische Infektion durchgemacht hat. Dieser Unterschied findet darin seine Erklärung, daß das Diphtherietoxin an sich, d. h. primär giftig wirkt, während aus dem Tuberkulin erst durch den tuberkulös infizierten Organismus die giftige Substanz entsteht. Während diese Auffassung von Wolff-Eisner und Hamburger akzeptiert wurde, wendete sich Entz gegen diese und stellte auf Grund seiner Versuche die Behauptung auf, daß beim tuberkulösen Individuum verschiedene bakterielle Toxine — wie Paratyphus, Typhus, Cholera etc. — ähnliche Reaktion erzeugen wie Tuberkulin, „es sei vielleicht die Empfindlichkeit der Haut tuberkulöser Individuen gegen verschiedene Toxine erhöht, es könne aber keiner der Reaktionen die Spezifität im Sinne Pirquets zugesprochen werden“. Gegen diese Auffassung von Entz sprach schon die Tatsache, daß die Diphtheriekutanreaktion durch Diphtherieantitoxin beeinflusst bzw. unterdrückt werden konnte und weiters die fast absolute Uebereinstimmung der positiven Tuberkulinreaktionen mit anatomisch nachweisbaren tuberkulösen Veränderungen. Schick wies in gemeinschaftlichen, noch nicht

veröffentlichten Versuchen mit Dr. Grüner nach, daß zwischen der Intensität der Tuberkulinreaktion und der Diphtheriekutanreaktion kein bestimmtes Verhältnis besteht, d. h. sehr häufig intensive Tuberkulinreaktion bei geringgradiger Diphtheriekutanreaktion vorkommt, weiter, daß auch tuberkulosefreie Individuen mit negativer Tuberkulinreaktion intensive Diphtheriekutanreaktionen aufweisen können. Ueberdies läßt sich jede der beiden Reaktionen einzeln unterdrücken: die Diphtheriekutanreaktion durch Diphtherieheilserum, die Tuberkulinreaktion durch fortgesetzte Tuberkulininjektionen.

Nachdem bisher die Diphtheriekutanreaktion nur beim Menschen studiert war, haben wir die Diphtheriekutanreaktion auch beim Meerschweinchen geprüft. Auch hier erwies es sich vorteilhaft, statt des Originaltoxins auf den 10. Teil eingeeengtes Toxin¹⁾ anzuwenden. Mit diesem konnten wir in jedem Falle intensive Kutanreaktion hervorrufen.

Meerschweinchen 650, weiß, 13. VII. geimpft mit eingeeengtem Diphtherietoxin. Innerhalb von 24 Stunden entwickelt sich an der Impfstelle eine ca. 5 mm breite Erhebung, um diese zeigt sich ein 12 mm durchmessender roter Hof. Nach 2×24 Stunden hat die Infiltration wesentlich zugenommen, die Reaktion mißt ca. 25 mm im Durchmesser, nach 3×24 Stunden ist das zentrale Infiltrat zu einem 10 mm großen Bläschen, mit trübem Inhalt verwandelt; das dieses blasige Zentrum umgebende derbe Infiltrat hat einen Durchmesser von 20 mm; in den nächsten 24 Stunden trocknet das zentrale Bläschen zu einer Borke ein. Das Infiltrat bleibt meist unverändert, geht aber von da ab allmählich zurück, die zentrale Borke sinkt ein, wird abgelöst, dann liegt eine rundliche Geschwürsfläche mit höckeriger Basis und scharfen zackigen Rändern vor, die langsam unter Granulationsbildung und Narbenbildung verheilt.

Die Reaktion läuft sowohl bei verschiedenen Meerschweinchen als auch bei wiederholter Einimpfung am selben Tiere ziemlich regelmäßig ab und ist die Intensität der Reaktion am meisten abhängig von der Tiefe der gesetzten Impfwund; wenn man aber immer möglichst tiefe Bohrung ausführt, erhält man vergleichbare Resultate.

Nachdem wir durch wiederholte Versuche die Richtigkeit der eben erwähnten Befunde festgestellt hatten, gingen wir

1) Für Ueberlassung dieses im Vakuum eingeeengten Toxins sind wir den Höchster Farbwerken (Meister, Lucius & Brüning) zu Dank verpflichtet.

darán, den Einfluß von Heilseruminjektion auf diese Veränderungen zu studieren. Wir wollten hierbei den Unterschied der Einwirkung des Heilsérums bei intravenöser und subkutaner Injektion und den Vorteil der ersteren feststellen. Gleichzeitig beabsichtigten wir die Dauer der passiven Immunität beim Meerschweinchen auch auf dem Wege der Kutanreaktion zu bestimmen.

Tabelle Ia.

Subkutane Injektion von 1 ccm Diphtherie-Heilserum (200-fach).
Meerschweinchen 930.

Tag und Reihenfolge der Impfung	nach 24 ^h	nach 48 ^h	nach 3 × 24 ^h	nach 4 × 24 ^h	nach 5 × 24 ^h	nach 6 × 24 ^h
1) 13./7. (24 ^h vor der Inj.)	Z + H = 17 mm, deutl. Infiltrat	Z + H = 27 mm, mäßiges Infiltrat.	Z = 7 mm, blasig Z + H = 31 mm, infiltriert	Z = 7 mm, eintrocknend Z + H = 26 mm	deutl. Borkenbild. in Heilung	Heilung schreitet fort
2) 15./7. 12 ^h mittags (5 ^h vor der Inj.)	Z = 10 mm, Z + H = 17 mm, deutl. Infiltrat nach 30 ^h Z = 7 mm, blasig Z + H = 20 mm,	Z eintrocknend Z + H = 12 mm	Z + H = 6 mm, knötchenförmiges Infiltrat Borkenbild.	Heilung schreitet fort	.	
3) 15./7. 3 ^h nachm. (2 ^h vor der Inj.)	Z + H = 14 mm, etwas erhabene Rötung	Z = 5 mm, beginnende Eintrocknung Z + H = 12 mm	Z + H = 12 mm, in Heilung	in Heilung		
4) 15./7. 5 ^h nachm. Gleichzeitig subkutane Injektion	leichte rötliche Erhebung von 6 mm	Z + H = 10 mm	Z + H = 8 mm, in Heilung	.		
5) 15./7. 7 ^h abends (2 ^h post inject.)	leichte rötliche Erhebung von 6 mm	Z + H = 5 bis 8 mm, als leicht erhobenes Infiltrat	in Heilung			
6) 15./7. 9 ^h abends (4 ^h post inject.)						
7) 16./7. 15 ^h post inject.						
8) 16./7. 19 ^h post inject.						
9) 16./7. 24 ^h post inject.						

Z = zentrales Infiltrat; H = Hof; Z + H Reaktion im Durchmesser.

Tabelle Ib.

Intravenöse Injektion von 1 ccm Diphtherieheilserum (200-fach).
Meerschweinchen 650.

Tag und Reihenfolge der Impfung	nach 24 ^h	nach 48 ^h	nach 3 × 24 ^h	nach 4 × 24 ^h	nach 5 × 24 ^h
1) 13./7. 24 ^h vor der Inj.	Z + H = 12 mm, die zentrale Impfstelle 7 mm breit, leicht erhaben	Z + H = 25 mm, starke Infiltr.	Z + H = 22 mm, mäßiges Oedem	Z + H = 17 mm, Borkenbildung	13 mm, Borke; in Heilung
2) 15. 7. 12 ^h mittags (5 ^h vor der Inj.)	Z + H = 7 mm, flache, minimal erhabene Rötung	Z + H = 7 mm, niedriges Infiltrat	Z + H = 5 mm, eintrocknend	knötchenförm. in Heilung	
3) 15./7. 3 ^h nachm. (2 ^h vor der Inj.)	Z + H = 8 mm, flacher als 2. Stelle	8 mm, minimales Infiltrat	Z + H = 6 mm, eintrocknend	knötchenförm. in Heilung	
4) 15./7. 3 ^h nachm. Gleichzeitig intravenöse Injektion					
5) 15./7. 7 ^h abends (2 ^h post inject.)					
6) 15./7. 9 ^h abends (4 ^h post inject.)	⊕	3 mm breites Knötchen	Knötchen, in Heilung	⊕	
7) 16./7. 15 ^h post inject.					
8) 16./7. 19 ^h post inject.					
9) 16./7. 24 ^h post inject.					

Z = zentrales Infiltrat; H = Hof; Z + H = Reaktion im Durchmesser.

Aus dieser Versuchsreihe ergibt sich, daß weder die subkutane noch die intravenöse Injektion von 1 ccm eines 200-fachen Serums imstande war, den Verlauf der 24 Stunden vorher gesetzten Impfstelle zu beeinflussen. Ein Befund, der mit den Verhältnissen beim Menschen vollkommen übereinstimmt. Dagegen zeigen bei beiden Behandlungen die 5 Stunden

36*

vor denselben gesetzten Impfstellen bereits eine deutliche Beeinflussung. Je näher wir der Zeit der Injektion kommen, um so deutlicher wird diese Beeinflussung. Besonders auffallen muß es aber, daß die intravenöse Injektion eine viel ausgiebigere Beeinflussung der Kutanreaktion bewirkt und diese intensive Einwirkung erstreckt sich auch noch auf die 5 Stunden vor der Injektion gesetzten Impfstellen, deren Reaktion rudimentär verläuft. Es spricht dies mit Sicherheit für die bessere Heilwirkung des Serums bei intravenöser Injektion.

Von der Richtigkeit dieser Tatsache konnten wir uns in zwei weiteren Versuchsreihen überzeugen; bei beiden injizierten wir zuerst normales Pferdeserum, welches wegen seiner normalen antitoxischen Eigenschaften in einem Falle denselben Einfluß auf die Reaktionsgröße ausübte, wie das Heilserum selbst. Beim 2. Tiere verschwanden die kleinen restierenden Reaktionen erst völlig nach der 3 Tage später erfolgenden Injektion von Heilserum. Das Tier 650 wurde dazu benutzt, die Dauer der passiven Immunität zu bestimmen. Das Tier hatte, wie erwähnt, am 15. Juli 1 ccm 200-faches Serum intravenös erhalten. Am 8., 14. und 20. Tag vorgenommene Impfungen mit Diphtherietoxin ergaben folgende Resultate:

Tabelle II.
Meerschweinchen No. 650.

Datum und Tag nach der Heilserum-Injektion (intravenös)	nach 24 ^h	nach 48 ^h	nach 3 × 24 ^h	nach 4 × 24 ^h
23./7., am 8. Tag	Z + H = 10 mm	Z + H = 13 mm	Z + H = 7 mm, in Heilung	Heilung schreitet fort.
29./7., am 14. Tag	Z + H = 14 mm, deutliche zentrale Quaddelbildung	Z + H = 15 mm, Z = 6 mm	Z + H = 20 mm, Z = 9 mm	Z + H = 19 mm, Z = eingesunken, Peripherie d. Hofes blässer
3./8., am 20. Tag	Z + H = 15 mm, deutliche zentrale Quaddelbildung	Z + H = 18 mm, Z = 6 mm	Z + H = 18 mm	Z + H = 15 mm

Datum und Tag nach der Heilserum-Injektion (intravenös)	nach 5 × 24 ^h	nach 6 × 24 ^h	nach 7 × 24 ^h	nach 8 × 24 ^h
23./7., am 8. Tag
29./7., am 14. Tag	Borkenbildung, Hof in toto blässer	Borke 9 mm, beginnt an der Peripherie sich abzuheben	Heilung schreitet fort	.
3./8. am 20. Tag	Z + H = 15 mm	Borkenbildung, der Hof deutlich blässer	Heilung schreitet fort	die schuppenförmige Borke abgefallen, glatten Boden hinterlassend

Es ergibt sich, daß schon die Impfstelle am 8. Tage post Inj. etwas größer ausfällt als die in den ersten Tagen nach der intravenösen Injektion entstandene Reaktion. Die Impfung, 14 Tage post inject., ergab bereits Verlust der passiven Immunität, die Impfung am 20. Tage führt daher natürlich ebenfalls zur vollen Reaktion.

Zusammenfassung.

Aus vorliegenden Untersuchungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Das Meerschweinchen antwortet auf kutane Einimpfung von eingeengtem Diphtherietoxin mit gesetzmäßig verlaufender Reaktion.

2) Die Reaktion ist spezifisch, denn sie läßt sich durch Heilserumbehandlung des Tieres bis auf unwesentliche Reste unterdrücken.

3) 5 Stunden vor der Injektion gesetzte Impfungen werden noch durch Heilseruminjektion beeinflusst. Die Beeinflussung sowohl dieser Reaktion als auch der gleichzeitig mit der Injektion von Heilserum und nach derselben gesetzten Impfreaktion ist bei intravenöser Injektion deutlicher als bei subkutaner¹⁾. Der Unterschied kommt auch beim Heilungsverlauf zur Geltung.

1) Die intrakutane Injektion kleinster Diphtherietoxinmengen nach Römer wird sich für weitere Studien besser eignen als die kutane Einimpfung.

4) Die passive Immunität ist am 14. Tage nach der intravenösen Injektion geschwunden.

Literatur.

- Schick, Ueber Diphtheriekutanreaktion. Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 10.
 Wolff-Eisner, Ueber Versuche mit verschiedenen Tuberkelbacillen-derivaten. Berl. med. Wochenschr., 1908, No. 30, 31.
 Hamburger, Ueber Tuberkulinimmunität. Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 42.
 Entz, Ueber das Verhalten der menschlichen Haut gegen verschiedene bakterielle Giftstoffe. Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 12.

Nachdruck verboten.

Anaphylaxie und Präzipitinreaktion.

Von F. Hamburger und E. Moro.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Dezember 1909.)

Auf Grund experimenteller Studien machten wir im Jahre 1903 (Ueber die biologisch nachweisbaren Veränderungen des menschlichen Blutes nach der Seruminjektion, Wien. klin. Wochenschr., 1903, No. 15) die Annahme, „daß die Vereinigung von Präzipitinen und präzipitabler Substanz, die in vivo anders erfolgt als in vitro, in einem ursächlichen Zusammenhang mit dem Serumexanthem stehe“.

Die Anaphylaxieforschung der letzten Jahre hat nun tatsächlich zwischen der anaphylaktischen und der Präzipitinreaktion weitestgehende Analogien aufgedeckt und die neueste, von Friedberger inaugurierte, durch Doerr und Russ anscheinend so glänzend gestützte Anaphylaxiethorie erblickt das Wesen des Phänomens in einer in vivo (an den Organzellen) sich abspielenden Präzipitinreaktion.

In seinen Ausführungen (Kritik der Theorien über die Anaphylaxie, diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 2, p. 212 und 213) greift Friedberger auf unsere Arbeit mit folgenden Worten zurück:

„Schon in einer der ältesten Theorien über Anaphylaxie wurde versucht, die Erscheinung der Anaphylaxie auf Präzi-

pitiation zurückzuführen. Hamburger und Moro und in Uebereinstimmung mit ihnen Marfan und Le Play, sowie Rovere nahmen an, daß das bei der zweiten Injektion in den Organismus eingeführte Eiweiß mit dem durch die erste Injektion erzeugten Präzipitin Präzipitate bilde, welche kapillare Embolien hervorrufen, die den bekannten Symptomenkomplex erzeugen sollten. Die grobmechanische Vorstellung vermochte natürlich nicht den Tatsachen gerecht zu werden und wurde bald verlassen; ich glaube aber gleichwohl, daß in anderer Weise zwischen Anaphylaxie und Präzipitation die engsten Beziehungen bestehen.“

Dieses Zitat ist nicht richtig. Der diesbezügliche Passus in unserer Arbeit lautet folgendermaßen: „Von der Ueberlegung ausgehend, daß die Präzipitinbildung nach 3 Tagen, also vor dem Serumexanthem, noch nicht eingetreten, wohl aber 16 Tage p. inject., also nach dem Serumexanthem nachweisbar war, konnte man leicht auf den Gedanken kommen, daß die Bildung der Präzipitine oder ihr Eintritt ins Blut in einem direkten Zusammenhang mit dem Serumexanthem stehe. Man hätte sich vielleicht noch vor kurzer Zeit die Entstehung des Exanthems folgendermaßen vorstellen dürfen: Wird Pferdeserum einem Menschen injiziert, so kreist es im Blut des betreffenden Individuums so lange, bis es vollständig ausgeschieden ist; während dieser Zeit ruft es die Bildung von Antikörpern, Präzipitinen hervor, die nach einer bestimmten Latenzzeit ins Blut eintreten. Dieser Eintritt erfolgt ziemlich plötzlich und hat die Bindung der Präzipitine an die biologisch wirksamen Atomgruppen des frei kreisenden Pferdeserums zur Folge. Die so entstehenden Präzipitate rufen durch Verstopfung in den Blutkapillaren Zirkulationsstörungen hervor, die sich dem Beobachter als Exanthem präsentieren. Nun wissen wir aber durch die Untersuchung von Rostoski, Michaelis und Oppenheimer bestimmt, daß die Fällung wohl im Reagenzglas eintritt, wenn präzipitable Substanz und Präzipitin zusammenkommen, nicht aber im lebenden Organismus. Es mußte also diese naheliegende einfache Erklärung von vornherein als unzutreffend zurückgelegt werden. Die Annahme jedoch, daß die Vereinigung von Präzipitinen und präzipi-

tabler Substanz, die in vivo anders erfolgt als in vitro, in einem ursächlichen Zusammenhang mit dem Serumexanthem stehe, war dessenungeachtet eine gerechtfertigte¹⁾.

Unsere Erwägungen bezogen sich lediglich auf das Serumexanthem der Erstinjizierten und wir sind natürlich nicht in der Lage, in obiger Frage berechnigte Prioritätsansprüche zu erheben. Unsere Absicht ist es lediglich, festzustellen, daß wir die viel zitierte, angeblich von uns stammende grobmechanische Theorie des Serumexanthems (resp. der anaphylaktischen Reaktion) nicht aufstellten, sondern ablehnten.

Die einzigen Autoren, die uns richtig zitierten, waren bisher v. Pirquet und Schick (Die Serumkrankheit, p. 108; v. Pirquet, Allergie, Erg. d. inn. Med. u. Kinderheilk., 1908, p. 438). Nichtsdestoweniger ist in U. Friedemanns Arbeit, „Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Anaphylaxie“ (Diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 5, p. 595) folgendes zu lesen:

„Hamburger und Moro vertraten zunächst die Ansicht, daß die spezifische Niederschlagsbildung rein mechanisch durch Embolie die anaphylaktischen Symptome hervorruft, eine Auffassung, die schon von v. Pirquet und Schick bekämpft wurde, und die sicher als unrichtig gelten kann . . .“

Der Widerspruch, den wir von seiten v. Pirquets und Schicks erfuhren, bezog sich nicht auf eine von uns selbst abgelehnte Theorie der Exanthembildung, sondern lediglich auf die von uns zuerst ausgesprochene Vermutung eines ursächlichen Zusammenhanges zwischen Serumexanthem und Präzipitinbildung, d. h. auf eine Identifizierung ihres „vitalen Antikörpers“ (des anaphylaktischen Reaktions- oder Immunkörpers der modernen Nomenklatur) mit dem Präzipitin.

1) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. IV. No. 5.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie zu Straßburg i. E.,
Abteilung für Typhusbekämpfung.]

Ueber die Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen.

Von Dr. **Walter Gaetgens**,
Assistent an der Anstalt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Dezember 1909.)

Durch eine längere Krankheit und andere Umstände äußerer Art verhindert, bin ich erst jetzt in der Lage, auf die in Bd. 2, Heft 3 dieser Zeitschrift mitgeteilten Beobachtungen **Fukuharas** (1) einzugehen, welche geeignet erscheinen, die von mir festgestellten Tatsachen über die Typhusantigene und ihre Antikörper (2) als unrichtig hinzustellen. Meine damaligen Untersuchungen galten der Frage, ob sich das mit lebenden Typhusbacillen dem tierischen Organismus einverleibte Agglutinogen direkt oder indirekt im Blute nachweisen ließe. Die Lösung dieser Aufgabe schien mir von Wichtigkeit angesichts der bekannten Tatsache, daß gar nicht selten beim Abdominaltyphus das Auftreten der Agglutinine trotz ausgesprochener klinischer Symptome, ja selbst trotz Züchtung der Krankheitserreger aus dem Blute vermißt wird. Die Möglichkeit des Agglutinogennachweises im Patientenserum konnte ferner für die Frühdiagnose typhusartiger Erkrankungen von Bedeutung sein und nicht als aussichtslos von der Hand gewiesen werden, zumal es **Fornet** (3) gelungen war, die Anwesenheit von Typhuspräzipitinogen im Blute während der ersten Krankheitstage festzustellen. Angesichts dieser Beobachtungen **Fornets** erwuchs mir aber zunächst eine andere Aufgabe. Der Versuch, das Schicksal des Agglutinogens im frisch infizierten Organismus zu verfolgen, konnte erst als zweckmäßig und berechtigt gelten, wenn der Nachweis erbracht

war, daß Agglutinin und Präzipitin, resp. Agglutinogen und Präzipitinogen nicht identische Substanzen sind, wie es wohl fast allgemein angenommen wird. Die von Kraus (4) und seinen Mitarbeitern, den Hauptvertretern des unitarischen Standpunktes, festgestellten Tatsachen hatten zwar weitgehende Analogien in dem Bau des Agglutinins und Präzipitins, resp. ihrer Antigene, sowie in dem Agglutinations- und Präzipitationsvorgänge aufgedeckt, schienen mir aber ihre Identität nicht zwingend zu beweisen. Zugunsten der dualistischen Anschauung sprachen vor allem die von Pick (5) mit Hilfe chemischer Methoden gefundenen Unterschiede. Ferner ließ sich auch die von Kraus selbst und von v. Pirquet (6) beschriebene verschiedene Widerstandskraft des Agglutinins und Präzipitins gegenüber einer Erhitzung auf 60° C in diesem Sinne verwenden. Erwägungen dieser Art veranlaßten mich, die Lösung der Frage auf biologischem Wege zu versuchen durch eine genaue Bestimmung des zeitlichen Auftretens beider Antikörper im frisch infizierten Organismus.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß sich eine Agglutininproduktion erst 2 Tage nach der Infektion des Tieres mit Typhusbacillen nachweisen läßt. Die Präzipitinogene wurden 6 und 8 Stunden nach der Bakterieninjektion im Blutserum gefunden, nicht mehr aber nach 24 Stunden. Zu diesem Zeitpunkt ließen sich vielmehr bereits die ersten Präzipitine deutlich feststellen (Tabelle III). Wenn diese Beobachtung richtig war, mußte ein derartiges 24-stündiges „Infektionsserum“, einem zweiten normalen Tiere einverleibt, in diesem wohl zu einer deutlichen Agglutininbildung Veranlassung geben, durfte aber Präzipitine gar nicht oder nur in geringem Grade erzeugen. In der Tat ließ sich auch dieser indirekte Nachweis führen, indem das keimfreie Serum eines 24 Stunden nach der Infektion mit lebenden Typhusbacillen verbluteten Kaninchens im normalen Tiere No. 30 (Tabelle IV) eine beträchtliche Agglutininentwicklung (1:2000), hingegen nur eine äußerst geringe Bildung präzipitierender Substanzen hervorrief. Die Entstehung des Agglutinins in so bedeutenden Mengen mußte auf das reichliche Vorhandensein von Agglutinogen im „Infektionsserum“ zurückgeführt werden, während die nur in minimalen Grenzen erfolgte Bildung der Präzipitine

sich lediglich dadurch erklären ließ, daß 24 Stunden nach der Infektion das Präzipitinogen schon zum größten Teile verschwunden und an seine Stelle sein Antikörper, das direkt nachweisbare Präzipitin getreten war. Ein völliges Ausbleiben der Präzipitinproduktion, wie es übrigens in einem zweiten Versuche beobachtet wurde, läßt sich nicht immer erwarten, da sich Spuren von präzipitabler Substanz wohl auch noch 24 Stunden nach der Infektion im Kreislauf aufhalten und im zweiten Tiere zu einer beschränkten Präzipitinbildung Veranlassung geben können. Im Gegensatz zum 24-stündigen „Infektionsserum“ ließ sich mit einem 8-stündigen eine beträchtliche Präzipitinentwicklung in einem zweiten normalen Tier (Tab. V) erzielen. Wir haben es demnach bei dem 24-stündigen „Infektionsserum“ mit einem Serum zu tun, welches entgegen dem Krausschen Postulate, daß jedes präzipitierende Immuneserum auch die homologen Bakterien agglutinieren muß, die Typhusbacillen nicht agglutiniert, wohl aber die homologen Filtrate und Extrakte präzipitiert. Demnach, folgerte ich, können aber auch das Agglutinin und Präzipitin nicht als identische Substanzen angesehen werden, da ihr zeitliches Auftreten nicht zusammenfällt.

Diesen Ausführungen tritt Fukuhara entgegen und gelangt auf Grund seiner Untersuchungen, wie hier gleich erwähnt sei, zu wesentlich anderen Ergebnissen. Insbesondere wendet er sich gegen die Spezifität der Schichtprobe, deren ich mich ausschließlich zum Nachweise der Präzipitine und Präzipitinogene nach dem Vorgange von Ascoli (7) und Fernet (8) bedient hatte. Von ausschlaggebender Bedeutung für diese Wahl waren die mannigfachen Vorzüge, die der Schichtprobe vor der Mischprobe zweifellos zukommen. Die Ringprobe erscheint von subjektiven Momenten, wie schon Fernet hervorhebt, unabhängiger als die Mischprobe und ermöglicht das Arbeiten mit geringen Serummengen in weiteren Grenzen. Vor allem aber gibt sie positive Resultate noch mit Verdünnungen des Antigens, die bei Benutzung der Mischprobe durch das Immuneserum nicht mehr sichtbar präzipitiert werden.

Tabelle I.

No.	Serum	Typhus-Kochsalz-Extrakt	Ringprobe nach			Mischprobe nach		
			1 ^h bei 37° C	4 ^h bei 20° C	24 ^h bei 6° C	1 ^h	4 ^h	24 ^h
1	Typhus-immunserum dgl.	rein	Ring	Ring	Verwasch. Ring. Bodensatz dgl.	Trübung	Trübung und Bodensatz dgl.	Klar; Bodensatz dgl.
2	"	1/2	"	"	Verwasch. Ring, Bodensatz	"	Trübung	"
3	"	1/4	"	"	Verwasch. Ring, Bodensatz	"	"	"
4	"	1/10	"	"	Verwasch. Ring dgl.	"	"	"
5	"	1/20	"	"	"	0	0	0
6	"	1/25	"	"	"	0	0	0
7	"	1/50	0	"	"	0	0	0
8	"	1/100	0	0	"	0	0	0
9	"	1/200	0	0	0	0	0	0
10	"	0,85-proz. NaCl-Lös.	0	0	0	0	0	0

Die in Tabelle I niedergelegten Resultate zeigen auf das deutlichste, wie bedeutend die Schichtprobe der Mischprobe überlegen ist. Die Untersuchungen wurden in der Weise ausgeführt, daß ein vom Kaninchen gewonnenes Typhusimmunserum in 8 cm hohen und 0,5 cm weiten Gläschen mit den gleichen Mengen des Antigens überschichtet resp. gemischt wurde. Als Präzipitinogen diente der Kochsalzextrakt von zehn 24-stündigen Typhusagarkulturen, die mit je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und nach 2-tägiger Autolyse im Brutschrank bei 37° C durch eine Chamberlandkerze filtriert worden waren. Nach der Uberschichtung resp. Mischung wurden die Proben für die Dauer einer Stunde in den Brutschrank gestellt, jedoch etwa viertelstündlich einer Besichtigung unterworfen, um das Auftreten der Ringe und Trübungen kontrollieren zu können. In der Regel pflegt die Präzipitation schon nach Ablauf einer Stunde vollendet zu sein und ergaben die weiteren nach 4 und 24 Stunden wiederholten Inspektionen keine wesentliche Aenderung der Resultate. Die Versuche zeigen, daß durch die Schichtprobe die an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten in Form eines grauweißen Ringes auftretende Präzipitation sich noch bei Antigenmengen beobachten läßt, die sich mit der Mischmethode nicht

mehr feststellen lassen. Während letztere nur den Nachweis von zehnfach verdünntem Präzipitinogen ermöglichte, war bei der Ueberschichtung die Fällung noch mit dem auf 1 : 50 verdünnten Extrakte nach 4 Stunden deutlich erkennbar zu erzielen. Daß es sich auch hier nur um spezifische Niederschläge und nicht etwa um spontane Trübungen handelt, beweist die mit physiologischer Kochsalzlösung überschichtete Kontrollprobe des Immunserums, die auch nach 24 Stunden vollkommen klar war. Außerdem habe ich bei der Untersuchung zahlreicher Kaninchen-Normalsera niemals eine Präzipitation bei Verwendung so weitgehender Antigenverdünnungen beobachten können.

Diesen unleugbaren Vorzügen stehen manche Nachteile gegenüber, welche die ausschließliche Verwendbarkeit der Schichtprobe für praktische Zwecke zunächst zweifelhaft erscheinen lassen können. Hingegen halte ich ihre Heranziehung zu experimentellen Untersuchungen, welche eine sorgfältige Kontrolle der einzelnen Versuchsbedingungen weit eher ermöglichen, unbedingt für zulässig, sofern nur bestimmte Vorsichtsmaßregeln streng befolgt werden.

Eine große Schwierigkeit bietet oft die Beschaffung von einwandfrei klaren Flüssigkeiten, wie sie zur Ausführung der Schichtprobe unbedingt erforderlich sind. Ein brauchbares Antigen zu gewinnen, gelingt zwar stets ohne Mühe, dagegen muß so mancher Versuch wegen Untauglichkeit des zu untersuchenden Serums abgebrochen werden. Schon eine geringe, oft nur als leichtes Opaleszieren wahrnehmbare Trübung, die sich auch durch Filtration durch eine Chamberlandkerze nicht entfernen läßt, genügt, um zu Irrtümern und Fehlschlüssen Veranlassung zu geben. Ein Verfahren, diesem Uebelstande wirksam abzuhelfen, ist zurzeit leider noch nicht bekannt. Empfohlen wird vielfach ein mehrstündiges Hungern der Tiere vor der Blutentnahme. Mir hat sich häufig ein sofortiges kräftiges Zentrifugieren des Blutes bewährt. Einen sicheren Erfolg indessen verspricht keine der beiden Methoden.

Einen weiteren Nachteil bedeutet die bekannte Tatsache, daß Normalkaninchenserum bei der Schichtprobe sowohl mit beliebigen Seren (Iso- und Heteroseren), als auch mit Bak-

terienfiltraten und Extrakten gar nicht selten eine positive Reaktion (Ring) eintreten läßt, ein Uebelstand, dem Fukuhara seine besondere Aufmerksamkeit zuwendet. In zahlreichen Versuchen konnte er diese Erfahrungen bestätigen und auch zeigen, daß junge Kaninchen nach viermaliger vorangehender Blutentnahme oder nach Hungern ein positiv ausfallendes Serum lieferten, während dies vorher nicht der Fall war. Er zieht aus seinen Beobachtungen den Schluß, daß die Schichtprobe allein als eine direkte Reaktion, das Schicksal des Typhuspräzipitinogens in der Blutbahn des infizierten Tieres zu verfolgen, nicht einwandfrei sei, wenn nicht auch Mischproben gemacht werden.

Interessant an den Untersuchungen Fukuharas erscheint mir vor allem seine Beobachtung an jungen Kaninchen, welche sich ausgesprochen anders als ausgewachsene Tiere verhielten, indem sie erst nach viermaliger Blutentnahme oder nach Hungern ein positiv reagierendes Serum lieferten. Für das Auftreten dieser Erscheinung wird man nicht umhin können, die Mengen des entnommenen Blutes und die zeitlichen Abstände zwischen den einzelnen Operationen zur Erklärung mit heranzuziehen. Fukuhara entnahm seinem Tiere jedesmal 8—10 ccm Blut an drei aufeinander folgenden Tagen; ein zweites Tier ließ er vorher 24 Stunden hungern. So gewaltsamen Eingriffen wurde das mir zum Präzipitinogennachweise dienende Kaninchen (No. 43) nicht ausgesetzt. Allerdings wurde auch ihm 6mal Blut entzogen, aber im Zeitraum von 24 Stunden und jedesmal nur geringe Mengen von kaum 2 ccm, so daß die Gesamtsumme von 10—12 ccm der von Fukuhara am ersten Tage reaktionslos entnommenen Quantität ungefähr gleichkommt. Daß ferner die nach Ueberschichtung von Immunserum mit 4-, 6- und 8-stündigem „Infektionsserum“ auftretenden Ringe als spezifische Niederschläge zu gelten haben, beweist der Umstand, daß das Serum 43 nach 24 Stunden, ebenso wie vor der Impfung des Tieres, mit dem Antiserum nicht mehr ein Präzipitat ergab. Denn es läßt sich kaum annehmen, daß die eine spontane nichtspezifische Trübung verursachenden Bedingungen nach 24 Stunden schon in Wegfall gekommen sein sollten. Die Versuche Fukuharas würden vielmehr für das Gegenteil sprechen.

Schließlich erschien mir eine gleichzeitige Präzipitinuntersuchung mit der Ring- und Mischprobe, wie sie Fukuhara verlangt, überflüssig, da es ja Fornet (3) im hiesigen Institut bereits gelungen ist, mehrfach diesen Nachweis an frisch infizierten Tieren zu liefern. Demgemäß muß ich die Einwände Fukuharas, zumal das Serum des von mir benutzten Tieres vor der Impfung mit Typhusimmunserum kein Präzipitat ergab, als nicht hinreichend begründet zurückweisen.

Auch die weiteren Schichtversuche Fukuharas scheinen mir nicht zwingend gegen die Berechtigung der alleinigen Verwendung der Ringprobe als spezifischer Reaktion zu sprechen. Bei einer großen Zahl von Normal- und Immunseren konnte Fukuhara nach Ueberschichtung mit Bakterienfiltraten und Bouillon das Auftreten von Ringen beobachten, die, ob spezifisch oder nicht, keine Differenzen erkennen ließen. Diese Ergebnisse stehen in voller Uebereinstimmung mit den früheren Feststellungen von Hoke (9) und mir (2). Hoke konnte als erster im Serum normaler Rinder, Pferde, Ziegen, Schafe und Schweine die Gegenwart nichtspezifischer Präzipitine für Typhus- und Choleraextrakte nachweisen. Die gleiche Beobachtung konnte ich dann an dem Serum ausgewachsener Kaninchen machen, welches in der Regel Normalpräzipitine für Typhusfiltrat nicht vermissen ließ. Neuere Versuche haben mir nun gezeigt, daß sich bei der Mischprobe ebenfalls das Auftreten von Trübungen bei gleichzeitig positiver Schichtreaktion an Normalseren feststellen läßt, wie es auch Müller (10) bei der Rotzpräzipitation wahrnehmen konnte.

Die in Tabelle II niedergelegten vergleichenden Untersuchungen, wie sie von Fukuhara, abgesehen von den in Tabelle IX und X beschriebenen Versuchen, nicht ausgeführt worden sind, zeigen, daß in der Tat nach Vermischung eines Normalpferdeserums mit reinem bis zehnfach verdünnten Typhusbacillenextrakt das Auftreten von Niederschlägen nicht vermißt wird, wenn die gleichzeitige Schichtprobe eine starke Ringbildung aufweist. Bei allen 5 Seren ließen sich die Ringe schon nach kürzester Zeit feststellen, hielten sich

Tabelle II.

No.	Serum von	Typhus-extrakt	0,85-proz. NaCl-Lös.	Ringprobe nach			Mischprobe nach		
				1 ^h bei 37° C	4 ^h bei 20° C	24 ^h bei 6° C	1 ^h bei 37° C	4 ^h bei 20° C	24 ^h bei 6° C
1	Pferd I	rein	—	Ring	Ring	Verschwo-mener Ring	Trübung	Trübung	Trübung
2	dgl.	1/2	—	„	„	dgl.	„	„	„
3	„	1/4	—	„	„	„	„	„	„
4	„	1/10	—	„	„	„	„	„	„
5	„	—	+	0	0	0	0	0	0
6	Pferd II	rein	—	Ring	Ring	Verschwo-mener Ring	Trübung	Trübung	Trübung
7	dgl.	1/2	—	„	„	dgl.	„	„	„
8	„	1/4	—	„	„	dgl.	„	„	„
9	„	—	+	0	0	0	0	0	0
10	Pferd III	rein	—	Ring	Ring	Verschwo-mener Ring	Trübung	Trübung	Trübung
11	dgl.	1/2	—	„	„	dgl.	„	„	„
12	„	1/4	—	„	„	dgl.	„	„	„
13	„	—	+	0	0	0	0	0	0
14	Pferd IV	rein	—	Ring	Ring	Verschwo-mener Ring	Trübung	Trübung	Trübung
15	dgl.	1/2	—	„	„	dgl.	„	„	„
16	„	1/4	—	„	„	dgl.	„	„	„
17	„	—	+	0	0(?)	0	0	0	0
18	Pferd V	rein	—	Ring	Ring	Verschwo-mener Ring	Trübung	Trübung	Trübung
19	dgl.	1/2	—	„	„	dgl.	„	„	„
20	„	1/4	—	„	„	dgl.	„	„	„
21	„	—	+	0	0	0	0	0	0

mehrere Stunden ziemlich unverändert und boten erst nach 24 Stunden ein verschwommenes Bild, während Bodensätze an der Kuppe der Gläschen vermißt wurden. Die mit Kochsalzlösung überschichteten Kontrollproben blieben die ganze Zeit über vollkommen klar, abgesehen von derjenigen des Serums IV, die nach 4 Stunden eine leichte, nach 24 Stunden indes wieder verschwundene Andeutung eines Ringes aufwies. Ebenso trat die Trübung in den Mischproben schon nach etwa 10 Minuten deutlich auf und erhielt sich unverändert 24 Stunden, ohne daß es allerdings zu der für die spezifische Präzipitation typischen Bildung eines Bodensatzes gekommen wäre. Die Kontrollen behielten ausnahmslos während der ganzen Beobachtungsdauer ihr klares Aussehen. Zu gleichen Ergebnissen führte auch die Prüfung mehrerer Normalkaninensera nach beiden Methoden, nur daß hier die Ringbildung wesentlich schwächer auftrat und sich meist nicht mehr mit stärker verdünntem Antigen erzielen ließ.

Es scheinen demnach diese nichtspezifischen Normalpräzipitine, die sich sowohl durch die Schicht- als auch durch die Mischprobe nachweisen lassen, überaus häufig im Blute ausgewachsener normaler Warmblüter anzutreffen zu sein. Diese Tatsache erklärt auch die Beobachtung Fukuharas, daß nach Uberschichtung von Immunserum mit heterologen Bakterienfiltraten sich gelegentlich Ringe bilden können, indem das Auftreten der letzteren auf das schon frühere Vorhandensein von Normalpräzipitinen vor der Immunisierung des Tieres zurückzuführen sein dürfte. Durch diese Feststellungen wird die Mischprobe weniger in Mitleidenschaft gezogen, da wir ja in der Entstehung der charakteristischen Bodensätze ein Kriterium für den spezifischen Charakter der Reaktion haben. Es fragt sich demnach, ob angesichts dieser Tatsachen die Schichtprobe den Anspruch auf Spezifität erheben darf. Diese Frage müßte verneint werden, wenn sich die Immun- und Normalsera immer ganz gleichartig verhalten würden. Das ist aber nicht der Fall. Durch Austitrieren der Sera läßt sich leicht der Nachweis führen, daß das Immunserum das Antigen noch in Verdünnungen zu präzipitieren vermag, in denen das Normalserum längst unwirksam ist. Ferner wies ich schon in meiner früheren Arbeit darauf hin, daß das Blut von ca. 5 Wochen alten Kaninchen von 500—600 g Körpergewicht im Gegensatz zu den ausgewachsenen Tieren Normalpräzipitine sehr häufig vermissen läßt. In letzter Zeit konnte ich diese Beobachtung in zahlreichen Versuchen, die im einzelnen anzuführen zu weit führen würde, wiederum bestätigen und feststellen, daß das Serum solcher Tiere, mit Typhusextrakt überschichtet oder gemischt, auch nach 4- oder 24-stündiger Beobachtung vollkommen klar bleibt. Obwohl ich darauf mit besonderem Nachdruck hingewiesen hatte, hat Fukuhara dieser Versuchsbedingung zu wenig Beachtung geschenkt und ist darum infolge der Benutzung ausgewachsener Tiere zu Ergebnissen gelangt, die allerdings geeignet sind, die Schichtprobe als nicht einwandfrei erscheinen zu lassen. Demgegenüber sei erneut darauf hingewiesen, daß sich für experimentelle Untersuchungen mit dem Schichtungsverfahren nur Versuchstiere eignen, deren Blut Normalpräzipitine gar nicht oder nur in mini-

malen Mengen enthält. Auch in letzterem Falle ist eine Verwendung des Tieres nicht ausgeschlossen, indem es sich quantitativ entscheiden läßt, ob spezifische immunisatorische Vorgänge stattgefunden haben oder nicht.

Auf dieselbe Ursache, nämlich die Benutzung ungeeigneter Versuchstiere, dürfte sich auch das Mißlingen des Versuches Fukuharas zurückführen lassen, das Typhuspräzipitin 24 Stunden nach der Impfung direkt nachzuweisen. Seine in Tabelle IX und X niedergelegten Angaben zeigen, daß das Serum beider Kaninchen bereits vor der Impfung in reichlichen Mengen Normalpräzipitine enthielt, die sich durch die Schichtprobe, nicht aber durch die Mischung mit Typhusfiltrat feststellen ließen. Daß sich derartige Tiere für die in Frage kommenden Untersuchungen nicht eignen, hatte ich, wie schon erwähnt, auf Grund zahlreicher Erfahrungen hervorgehoben und statt dessen die Verwendung möglichst junger Tiere empfohlen. Allerdings ist man auch dann vor Mißerfolgen trotz peinlichster Sorgfalt durchaus nicht immer gesichert, und mir selbst ist es auch jetzt erst nach mehrfachen vergeblichen Bemühungen wieder gelungen, mich von der Richtigkeit meiner früheren Beobachtungen zu überzeugen. Häufig scheiterte der Versuch infolge vorzeitigen Eingehens der Kaninchen oder an der Unmöglichkeit, vollkommen klares Serum zu erhalten. Ferner aber konnte ich feststellen, daß das Vermögen, Antikörper zu bilden, scheinbar nicht bei allen Tieren durchaus gleich ist. In einzelnen Fällen konnte dafür allerdings der Umstand verantwortlich gemacht werden, daß das Serum aus äußeren Gründen durch alte Chamberlandkerzen, welche bekanntlich infolge Verstopfung der Poren einen Teil der Immunkörper zurückzuhalten vermögen, filtriert wurde. Bei anderen Versuchen hingegen konnte nur die verschiedene Individualität der Tiere dieses abweichende Verhalten erklären. Daß in der Tat diese Möglichkeit in Betracht gezogen werden muß, beweisen schon die keineswegs übereinstimmenden Ergebnisse der zahlreichen Untersuchungen über den Beginn der Agglutininbildung, der sich nach den verschiedenen Autoren 2—10 Tage nach der ersten Bacilleninjektion feststellen läßt [Paltauf (11)]. Dementsprechend habe ich bei mehreren Kaninchen das Auftreten der Präzipitine 24 Stunden nach der Impfung vermißt und muß meine frühere Angabe dahin vervollständigen,

daß sich die Präzipitine nicht bei allen Tieren genau nach 24 Stunden nachweisen lassen, daß vielmehr ihre Bildung, wie die der Agglutinine, bei den verschiedenen Individuen zeitlichen Schwankungen unterworfen zu sein scheint. Diese Unterschiede habe ich jedoch niemals bei Kaninchen desselben Wurfes feststellen können, sondern gefunden, daß das Serum derartiger Tiere einem Typhusbacillenextrakt gegenüber vor und nach der Bacilleninjektion immer das gleiche Verhalten zeigte. Diese an mehreren Würfen gemachte Beobachtung ermöglichte es mir, die Tiere mit Rücksicht auf die Befunde Fukuharas auch ohne vorherige Blutentziehung für meine Versuche zu verwenden. Selbstverständlich geschah das erst, wenn das Serum eines gleichalterigen Individuums vorher als Kontrolle untersucht worden war.

Tabelle III.

No.	Normal-ser. No. 6	24-stünd. Inf.-Ser. No. 77	Typhusextrakt				0,85 % NaCl-Lös.	Ringprobe nach			Mischprobe nach		
			rein	1/2	1/4	1/10		1 ^h	4 ^h	24 ^h	1 ^h	4 ^h	24 ^h
1	+	.	+	0	0	0	0	0	0
2	+	.	.	+	.	.	.	0	0	0	0	0	0
3	+	.	.	.	+	.	.	0	0	0	0	0	0
4	+	+	.	0	0	0	0	0	0
5	+	+	0	0	0	0	0	0
6	.	+	+	deutlicher Ring	deutlicher Ring	Ring verschwommen	0	0	0
7	.	+	.	+	.	.	.	schwacher Ring	dgl.	dgl.	0	0	0
8	.	+	.	.	+	.	.	0	Ring schwach angedeutet	?	0	0	0
9	.	+	.	.	.	+	.	0	0	0	0	0	0
10	.	+	+	0	0	0	0	0	0

Die in Tabelle III niedergelegten Angaben beziehen sich auf die Untersuchung des Serums zweier dem gleichen Wurfe entstammender Kaninchen von ca. 600 g Körpergewicht, von denen No. 6 als Kontrolle diente, No. 77 hingegen 24 Stunden nach der intravenösen Impfung mit 1/4 Typhusagarkultur verblutet worden war. Während das Kontrollserum sowohl nach Uberschichtung als auch nach Mischung mit Typhusbacillenextrakt dauernd vollkommen klar blieb, ergab die Ringprobe in dem 24-stündigen „Infektionsserum“ die Anwesenheit von Präzipitinen. Daß dieselben nicht auch in den gemischten

Proben nachweisbar waren, darf nach den in Tabelle I niedergelegten Erfahrungen, welche die wesentlich höhere Empfindlichkeit der Schichtreaktion dargetan haben, nicht weiter wundernehmen. Dürfen wir doch nicht vergessen, daß es sich selbstverständlich nur um die ersten Anfänge und nicht um ein stark ausgebildetes Präzipitationsvermögen zu diesem Zeitpunkt handeln kann. Die gleichzeitige Agglutinationsprüfung mit 5-, 10- und 25-fach verdünntem Serum ergab, daß nach 3-stündigem Aufenthalt im Brutschrank, sowie nach weiterem Stehen von 3 Stunden bei Zimmertemperatur eine makroskopisch sichtbare Zusammenballung nicht stattgefunden hatte. Mikroskopisch ließen sich nach 6 Stunden in den auf 1:5 und 1:10 verdünnten Serumproben vereinzelt kleine Häufchen wahrnehmen, die aber, ebenso wie ähnliche, etwas kleinere Konglomerate des Kontrollserums, eine äußerst lebhafteste Mobilität aufwiesen; der größte Teil der Bacillen war frei und überaus beweglich geblieben.

Diese durch den vorliegenden Versuch aufs neue bestätigte Beobachtung, daß sich die ersten Anfänge der Präzipitinbildung unter geeigneten Bedingungen schon 24 Stunden nach der Bacilleninjektion nachweisen lassen, hat mittlerweile ihr Analogon durch die Untersuchungen anderer Autoren gefunden. So konnte Meyer (12) feststellen, daß die auf immunisatorischem Wege hervorgerufene Steigerung der Antitrypsinmenge schon 24 Stunden nach der ersten Injektion eintreten kann. Ebenso vermochte Müller nach Ueberschichtung des Serums von rotzig infizierten Meerschweinchen mit Bacillenextrakt schon 24 Stunden nach der Impfung das Auftreten von Doppelringen zu beobachten, welche als Indikator für eine bereits erfolgende Präzipitinproduktion angesehen werden können. Eine einwandfreie Präzipitinreaktion mit Bodensatzbildung konnte Müller allerdings, in Uebereinstimmung mit Pfeiler, erst am 4. Tage wahrnehmen, doch stellte er zugleich fest, daß der Agglutinationstiter erst nach diesem Zeitpunkt in die Höhe geht. Ebenso hatte Pfeiler (13) die Rotzpräzipitine schon 4—5 Tage vor den Agglutininen nachweisen können. Durch diese Befunde werden das Wesentliche meiner Versuche und die Schlußfolgerungen, welche ich aus dem zeitlichen Auftreten der Typhuspräzipitine und Agglutinine gezogen hatte,

indes vollkommen bestätigt. Wenn die Präzipitine nämlich im Serum vor den Agglutininen erscheinen, so widerlegt dieses jetzt von mehreren Autoren beobachtete Phänomen die Kraussche Behauptung, daß jedes Bakterienfiltrate präzipitierende Serum auch die homologen Bakterien agglutinieren müsse. Es können demnach aber auch Präzipitine und Agglutinine resp. ihre Antigene nicht als identische Substanzen angesehen werden.

Schließlich hat Fukuhara auch den Versuch gemacht, auf dem von mir empfohlenen indirekten Wege das Präzipitin nachzuweisen, ist aber zu Ergebnissen gelangt, die mit den meinigen nur teilweise in Uebereinstimmung zu stehen scheinen. Das von ihm einem normalen Kaninchen injizierte 24-stündige „Infektionsserum“ gab nicht nur, in Bestätigung meiner Untersuchungen, zur Bildung von Agglutininen Veranlassung, sondern rief auch, entgegen meiner Behauptung, eine lebhafte Präzipitinproduktion hervor. Für die Erklärung dieses Befundes kann die Möglichkeit in Betracht kommen, daß das „Infektionsserum“, trotzdem es durch ein neues Berkefeld-Filter filtriert worden war, nicht keimfrei war, da Fukuhara die Kontrolle durch Impfung von Serum in Bouillon unterlassen hat. Daß diese Möglichkeit keineswegs auszuschließen ist, beweisen die Versuche Kregenows (14), dem es trotz aller erdenklichen Vorsichtsmaßregeln niemals gelang, bei Filtration von Hundestaupkekontagium durch Berkefeld-Filter ein steriles Filtrat zu erhalten. Nach Kregenows Angabe machte die Schnelligkeit, mit der die Flüssigkeit das allem Anscheine nach äußerst poröse Filter passierte, es leicht erklärlich, daß das Filter nicht imstande war, alle visiblen Bakterien zurückzuhalten. Wenn nun in Fukuharas Versuch das „Infektionsserum“ trotz der Filtration noch einzelne Typhusbacillen beherbergte, so genügte die Gegenwart schon weniger Keime, um nicht nur Agglutinine, sondern auch Präzipitine im zweiten Tiere zu erzeugen.

Aber die eben besprochene Möglichkeit auch ausgeschlossen, so würde trotz des Fukuharaschen Experimentes die Richtigkeit meiner Behauptung unberührt bleiben. Wenn nämlich die Agglutinine und Präzipitine wirklich identische Substanzen

wären, die sich voneinander lediglich dadurch unterscheiden, daß die Agglutinine noch in höheren Verdünnungen ihre Wirksamkeit zu äußern vermögen, so muß das zur Folgerung berechtigen, daß das Verhältnis zwischen den agglutinierenden und präzipitierenden Substanzen in Immunsereen immer ein annähernd gleiches sein wird. Es ließe sich also annehmen, daß zwei Sera mit gleichem Agglutinationstiter auch über die gleichen Präzipitationskräfte verfügen und umgekehrt. Daß das nicht der Fall ist, lehrt ein Blick auf die Fukuharaschen Versuchstabellen VIII—X am besten. Das von ihm mit 8 ccm eines 24-stündigen „Infektionsserums“ geimpfte Kaninchen No. 469 hatte nach 10 Tagen genau dasselbe Präzipitationsvermögen wie die Tiere No. 377 und 170, denen 1 resp. $\frac{1}{4}$ Oese Typhusagarkultur intravenös injiziert worden war. Während bei letzteren aber die Agglutination von Typhusbacillen noch mit einer Serumverdünnung von 1:2000 zu erreichen war, agglutinierte das Serum No. 469 nur bis 1:100. Dieser offenbare Widerspruch, der entschieden zugunsten der dualistischen Auffassung spricht, läßt sich zwanglos durch meine früheren Untersuchungen erklären. Fukuharas Serum No. 469 gleicht in seinem reichlichen Präzipitierungs- und verhältnismäßig geringen Agglutinierungsvermögen auffällig dem Serum des von mir mit 8-stündigem „Infektionsserum“ geimpften Kaninchens No. 32 (Tabelle V). Das Serum dieses Tieres präzipitierte 10 Tage nach der Injektion Typhusfiltrat noch in zehnfacher Verdünnung, agglutinierte hingegen ebenfalls nur bis 1:100. Diese überraschende Aehnlichkeit der Resultate läßt mich vermuten, daß das „Infektionsserum“, trotzdem Fukuhara es dem Tiere erst 24 Stunden nach der Impfung entnommen hatte, noch keine Präzipitine, sondern vorzugsweise Präzipitinogen und wenig Agglutinogen enthielt. Daß eine solche Möglichkeit vorkommen kann, habe ich selbst gelegentlich beobachtet und, wie bereits oben erwähnt, auf die verschiedene Individualität der Tiere zurückgeführt. Demnach würde sich auch dieser Befund Fukuharas, der mir überdies, als nur auf einen einzigen Versuch gegründet, wenig geeignet erscheint, die Ergebnisse meiner mehrfach wiederholten Untersuchungen zu wider-

legen, vielmehr vorteilhaft als weitere Stütze der die Verschiedenheit von Agglutinin und Präzipitin betonenden Anschauung verwerten lassen.

Zusammenfassung.

1) Die für die Präzipitatreaktion dienende Schichtprobe ist weit empfindlicher und von subjektiven Momenten unabhängiger als die Mischmethode.

2) Die von Fukuhara gegen die Spezifität der Schichtprobe erhobenen Einwände sind als nicht allgemein gültig und nicht hinreichend begründet zurückzuweisen, da sich auch mit dem Schichtungsverfahren bei Befolgung bestimmter Vorsichtsmaßregeln einwandfreie Resultate erzielen lassen (klare Flüssigkeiten, quantitatives Arbeiten, junge Versuchstiere).

3) Nach der Vermischung von Normalpferde- und Kaninchenserum ausgewachsener Tiere mit Typhusbacillensextrakt wird das Auftreten von Niederschlägen nicht vermißt, wenn die gleichzeitige Schichtprobe eine starke Ringbildung aufweist. Diese Trübungen sind als nichtspezifisch anzusehen, da es zu der für die spezifische Präzipitation charakteristischen Bildung von Bodensätzen nicht kommt.

4) Dagegen enthält das Serum junger Kaninchen von etwa 600 g Körpergewicht die nichtspezifischen Normalpräzipitine gar nicht oder nur in minimalen Mengen.

5) In dem Serum junger Kaninchen lassen sich 24 Stunden nach der Infektion mit lebenden Typhusbacillen die spezifischen Präzipitine nicht mit der Misch-, wohl aber mit der weit feineren Schichtprobe unter geeigneten Bedingungen direkt und indirekt deutlich nachweisen. Jedoch ist dieses erste Auftreten der Präzipitine zeitlichen Schwankungen unterworfen, welche von der verschiedenen Individualität der Versuchstiere abzuhängen scheinen.

6) Die Agglutinine lassen sich nicht vor dem zweiten Tage nach der Impfung mit Typhusbacillen im Blute der infizierten Versuchstiere feststellen.

7) Da die Präzipitine im Serum infizierter Tiere vor den Agglutininen erscheinen, ist die von Kraus und seiner Schule vertretene Behauptung

tung, daß jedes Bakterienfiltrate präzipitierende Serum auch die homologen Bakterien agglutinieren müsse, hinfällig.

8) Agglutinine und Präzipitine resp. ihre Antigene können demnach **nicht** als identische Substanzen angesehen werden.

Literatur.

- 1) Fukuhara, Ueber Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Therapie, Bd. 2, 1909, p. 305—313.
- 2) Gaeltgens, Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper. Centralblatt f. Bakt., Bd. 48, 1908, p. 223—246.
- 3) Fornet, Die Präzipitatreaktion. Ein Beitrag zur Frühdiagnose bei Typhus und anderen Infektionskrankheiten. Münchener med. Wochenschrift, Jahrg. 53, 1906, No. 38.
- 4) Kraus und Joachim, Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 1904, p. 662—671 u. Bd. 37, p. 73—93.
- 5) Pick, Zur Kenntnis der Immunkörper. Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 1, 1902, p. 351—471.
- 6) Kraus und v. Pirquet, Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 1902, p. 60—74.
- 7) Ascoli, Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. Münchener med. Wochenschr., Jahrg. 50, 1903, p. 201—204.
- 8) Fornet, Schereschewsky, Eisenzimmer und Rosenfeld, Spezifische Niederschläge bei Lues, Tabes und Paralyse. Deutsche med. Wochenschr., Jahrg. 33, 1907, No. 41.
- 9) Hoke, Ueber Bakterienpräzipitation durch normale Sera. Wiener klin. Wochenschr., Jahrg. 20, 1907, p. 347—348.
- 10) Müller, M., Ueber die Verwendbarkeit der Präzipitinreaktion zur Rotzdiagnose und die Beziehungen der Rotzpräzipitine zu den Rotzagglutininen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Therapie, Bd. 3, 1909, p. 401—421.
- 11) Paltauf, Die Agglutination. Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorganismen, Bd. 4, p. 674.
- 12) Meyer, K., Ueber die antiproteolytische Wirkung des Blutserums und ihre Beziehungen zum Eiweißstoffwechsel. Berliner klin. Wochenschr., 1909, No. 23, p. 1064—1068.
- 13) Pfeiler, Die Ermittlung der Rotzkrankheit durch die Präzipitationsmethode. Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk., Bd. 35, 1909, p. 323—337.
- 14) Kregenow, Ueber die Filtration des Staupekontagiums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, 1909, p. 326—344.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene
und experimentelle Therapie zu Marburg.]

Zur Theorie der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit.

Von Dr. med. vet. **Karl Joseph**,
Assistent der Abteilung.

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Dezember 1909.)

Die erste Beobachtung eines Ueberempfindlichkeitsphänomens stammt von Robert Koch: Tuberkulöse Individuen reagieren auf Dosen von Tuberkulin mit Fieber und allgemeinen Krankheitserscheinungen, die das gesunde Individuum gänzlich reaktionslos verträgt.

Das Phänomen der spezifischen Ueberempfindlichkeit ist dann in der Folgezeit vor allem durch v. Behring (3, 4, 5) und seine Mitarbeiter [Wladimiroff (15), Knorr (9), Kitashima (5)] am Diphtherie- und Tetanusgift studiert worden. Richet (11) hat 10 Jahre später an Giften, die er aus den Tentakeln der Actinien sowie aus Miesmuscheln gewann, Ueberempfindlichkeitsversuche angestellt.

Allgemeineres Interesse erweckten diese Ueberempfindlichkeitsstudien erst, als es sich zeigte, daß der Mensch und gewisse Tierarten nach Einverleibung von normalen artfremden Seris spezifisch überempfindlich werden.

Es glückte der Nachweis, daß diese Serumüberempfindlichkeit auf der Bildung eines spezifischen Antikörpers beruht, den man zweckmäßigerweise Sensibilisin nennt. Der Antikörper wird angetroffen im Serum der durch Behandlung mit artfremden Seris „sensibilisierten“ Tiere (besonders Meerschweinchen und Kaninchen).

Es lag die Frage nahe, ob die in ihrer theoretischen Bedeutung so viel umstrittene Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit ebenfalls auf der Bildung eines spezifischen, im Serum erscheinenden Sensibilisins beruhe und ob zutreffendenfalls durch Uebertragung des Serums eines aktiv (durch Tuberkulose-

infektion) gegen Tuberkulin überempfindlich gewordenen Individuums auf ein normales Individuum bei diesem die spezifische Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit ausgelöst werden könne.

Als erster stellte Yamanouchi (16) derartige Versuche an. Es gelang ihm angeblich eine derartige Serumübertragung der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit. Er injizierte Serum von tuberkulösen Menschen normalen Kaninchen. Diese Kaninchen erlagen einer späteren Injektion von Tuberkulinpräparaten. Von Kraus und Doerr (6) ist die Deutung der Versuche Yamanouchis bereits angezweifelt worden, weil Yamanouchi Tuberkelbacillenstoffe benutzt habe, die schon an sich toxisch auf Kaninchen wirkten und überdies in ihrer Toxizität auch durch vorherige Injektion von Normalserum verstärkt wurden. Zur Zeit werden wohl von niemanden mehr die Versuche Yamanouchis als beweisend angesehen.

Ferner wurde von Bauer (1, 2) der Versuch gemacht, den Nachweis zu führen, daß im Serum tuberkulöser Individuen übertragbare spezifische Ueberempfindlichkeit auslösende Reaktionskörper vorkommen. Er injizierte normalen Meerschweinchen subkutan das Blutserum tuberkulöser Menschen und Meerschweinchen. Nach Ablauf von 24 Stunden folgte eine subkutane Injektion von 0,2 ccm Tuberkulin, worauf die vorbehandelten Tiere mit einer „typischen Fieberreaktion“ antworteten. Bei mit dem Serum nicht tuberkulöser Individuen behandelten Meerschweinchen blieb die Reaktion aus. Er führt in seiner Arbeit 8 Versuche auf. In 3 Versuchen benutzte er das Serum von tuberkulösen Meerschweinchen, in 5 weiteren das tuberkulöser Menschen. Nach der subkutanen Injektion von Tuberkulin schnellte die Temperatur gewöhnlich in den ersten Stunden blitzartig in die Höhe.

Helmholz (7) beschäftigte sich in einigen Versuchen mit der Frage, ob durch Uebertragung von Blutserum tuberkulöser Meerschweinchen gesunde Meerschweinchen für die kutane Tuberkulinprobe nach v. Pirquet überempfindlich gemacht werden können. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sprechen für das Vorhandensein eines Sensibilins im Blutserum tuberkulinüberempfindlicher Individuen.

Bei der prinzipiellen Bedeutung, die der Frage zukommt, ob sich als Ursache der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit ein spezifisches Sensibilisin nachweisen läßt, habe ich seit längerer Zeit Versuche in dieser Richtung angestellt, über die im Folgenden berichtet sei.

Wenn wir von den nicht beweiskräftigen Versuchen Yamanoichis absehen, so kämen also als Beweise für die Möglichkeit einer Serumübertragung der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit einmal in Betracht die zitierten Versuche Bauers (fiebrhafte Allgemeinreaktion auf subkutane Tuberkulininjektion bei Meerschweinchen, die 24—30 Stunden vorher mit dem Serum tuberkulöser Meerschweinchen oder Menschen subkutan behandelt waren), sowie die Versuche von Helmholtz (Entstehen spezifischer, kutaner Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit bei Meerschweinchen, die durch intraperitoneale Injektion des Serums tuberkulöser Meerschweinchen vorbehandelt waren).

Gegenüber diesen angeblichen Beweisen können wir einige sich uns schon a priori aufdrängende Bedenken nicht unterdrücken. Bereits früher haben Römer und ich (13) darauf hingewiesen, daß die bloße Temperatursteigerung als Form der Ueberempfindlichkeitsreaktion, wie wir sie diagnostisch beim Menschen und beim Rinde verwerten, beim Meerschweinchen zu höchst unzuverlässigen Resultaten führt, da die Meerschweinchen auch auf Injektion indifferenten Flüssigkeiten sehr leicht mit Temperatursteigerung antworten. Inzwischen hat Novotný (10) unsere damaligen Angaben bestätigt. Auch die Deutung der Versuche von Helmholtz ist mit Vorsicht aufzunehmen, da die Kutane methode nach v. Pirquet bei tuberkulösen Meerschweinchen sehr unsichere und ungleichmäßige Resultate gibt.

Nun besitzen wir aber in der intrakutanen Tuberkulininjektion eine viel zuverlässigere Methode zum Nachweis einer bestehenden Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit; insbesondere beim tuberkulösen Meerschweinchen hat diese Intrakutanreaktion, wie Römer (12) zuerst gezeigt hat, einen streng spezifischen Charakter und ist wegen ihrer absoluten Sicherheit von hoher diagnostischer Bedeutung. Ich selbst konnte kürzlich (8) die hohe diagnostische Bedeutung dieser Reaktion auch am Rinde nachweisen.

Für meine nachfolgenden Versuche benutzte ich deshalb zum Nachweis einer durch Serumübertragung eventuell entstandenen spezifischen Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit neben der subkutanen Tuberkulinprüfung der serumbehandelten Tiere vor allem die intrakutane, eindeutige Ergebnisse liefernde Prüfungsmethode.

Eigene Versuche.

In meinen Versuchen ging ich so vor, daß ich tuberkulöse gegen intrakutane Tuberkulininjektion hochempfindliche (schon auf 0,00002 ccm Tuberkulin reagierende) Meerschweinchen entblutete und das abgeschiedene Serum in Mengen von je 2 ccm auf gesunde, aus normaler Zucht stammende Meerschweinchen subkutan verimpfte. Daneben wurden in gleicher Weise gesunde Meerschweinchen entblutet und ihr Serum in gleicher Weise auf je 2 gesunde Meerschweinchen verimpft.

Je eines der mit normalem Meerschweinchenserum einerseits und „tuberkulösem“ Meerschweinchenserum andererseits eingespritzten Tiere erhielt dann 0,25 ccm staatlich geprüftes Tuberkulin-Behringwerk subkutan, eine Dosis, die typisch tuberkulin-überempfindliche, tuberkulöse Meerschweinchen mit Sicherheit tötet! Das andere Meerschweinchenpaar erhielt 0,1 ccm einer 20-proz. Verdünnung des gleichen Tuberkulins (= 0,02 ccm) intrakutan, genau entsprechend der von Römer und Joseph (14) eingehend beschriebenen Technik.

Die Temperatur der Versuchstiere war durch täglich 3mal erfolgende Messungen an den der Seruminjektion vorangehenden Tagen, sowie am Tage der Seruminjektion, festgestellt worden. In den nachfolgenden Tabellen ist nur die in dieser Zeit ermittelte Höchsttemperatur verzeichnet. Die Tuberkulininjektion erfolgte stets um 12 Uhr mittags, und zwar 24—30 Stunden nach der Seruminjektion. Die Temperatur wurde $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$, 4, 6 und 20 Stunden nach der Tuberkulininjektion festgestellt.

Das Ergebnis enthält die nachfolgende Tabelle. Der Effekt der subkutanen Tuberkulinprüfung ist schematisierend so beurteilt, daß jede 40° erreichende Temperatursteigerung als positive Reaktion (+), jede Temperatur zwischen $39,5$ — 40°

als zweifelhafte Reaktion (?) und endlich jede unter 39,5° bleibende Temperaturkurve als negative Reaktion (0) in der Rubrik „Resultat“ verzeichnet wurde.

Tabelle I.

Meerschw. No.	Serum subk. von Meerschw.		Nach 24 ^h Tuberkulin subk. ccm	Temperatur					Resultat	Nach 24 ^h Tuberkulin intrak. ccm	nach		Resultat	
	ccm	No.		vor	nach						24 ^h	48 ^h		
					1 ^{1/2} ^h	2 ^{1/2} ^h	4 ^h	6 ^h						20 ^h

A.

(Mit dem Serum tuberkulöser Meerschweinchen vorbehandelte Tiere.)

8272	2,0	8118	—	38,7	38,6	38,6	38,7	38,7	38,6	0	0,02	0	0	0
8273	2,0	8118	0,25	39,0	39,0	39,8	39,4	39,0	39,0	?	—	—	—	—
8275	2,0	8227	—	38,7	38,6	38,7	38,5	38,6	38,5	0	0,02	?	0	0
8276	2,0	8227	0,25	38,7	38,7	40,2	39,4	38,9	38,9	+	—	—	—	—
8277	2,0	8228	—	38,8	38,5	38,5	38,6	38,6	38,5	0	0,02	0	0	0
8279	2,0	8228	0,25	38,9	39,7	39,5	39,2	39,0	38,7	?	—	—	—	—
			n. 30^h											
8057	2,0	7942	0,25	38,8	40,4	39,7	39,4	39,0	39,0	+	—	—	—	—
8114	2,0	7942	—	39,0	39,2	39,0	38,9	38,9	38,8	0	0,02	0	0	0
8121	2,0	7999	0,25	39,0	40,5	40,2	39,7	39,2	39,3	+	—	—	—	—
8173	2,0	7999	—	38,7	38,8	38,8	38,7	38,7	38,7	0	0,02	0	0	0
8064	2,0	7990	0,25	38,7	40,4	39,4	39,2	39,0	39,5	+	—	—	—	—
8143	2,0	7990	—	38,8	38,8	38,7	39,0	38,9	38,7	0	0,02	0	0	0
8267	2,0	595	0,25	38,8	40,3	40,1	39,7	39,0	38,9	+	—	—	—	—
8266	2,0	595	—	39,0	39,2	39,0	39,0	38,8	38,9	0	0,02	0	0	0

B.

(Mit dem Serum tuberkulosefreier Meerschweinchen vorbehandelte Tiere.)

8280	2,0	8270	—	38,6	38,6	38,5	38,6	38,5	38,6	0	0,02	0	0	0
8281	2,0	8270	0,25	38,9	39,1	40,2	39,4	39,0	38,9	+	—	—	—	—
8285	2,0	8271	—	38,9	38,7	38,7	38,7	38,8	38,7	0	0,02	?	0	0
8284	2,0	8271	0,25	38,8	39,0	39,5	39,1	39,0	38,9	?	—	—	—	—
8282	2,0	8278	—	38,7	38,5	38,4	38,4	38,5	38,5	0	0,02	0	0	0
8274	2,0	8278	0,25	38,8	38,6	38,6	38,5	38,6	38,6	0	—	—	—	—
			n. 30^h											
8178	2,0	7898	0,25	39,0	39,8	40,0	39,4	39,0	38,6	+	—	—	—	—
8149	2,0	7898	—	39,0	39,2	39,0	38,9	38,8	38,8	0	0,02	0	0	0
8221	2,0	7896	0,25	38,9	40,8	40,0	39,4	38,9	39,4	+	—	—	—	—
8174	2,0	7396	—	38,7	39,0	38,9	38,9	38,7	38,7	0	0,02	0	0	—

Von den mit dem Serum tuberkulöser Meerschweinchen vorbehandelten und 24 bzw. 30 Stunden später durch subkutane Tuberkulineinspritzung geprüften Meerschweinchen (No. 8273, 8276, 8279, 8057, 8121, 8064, 8267) zeigten posi-

tive Reaktion 5 Tiere (No. 8276, 8057, 8121, 8064, 8267) und zweifelhafte Reaktion 2 Tiere (No. 8273, 8279).

Von den mit dem Serum normaler Meerschweinchen vorbehandelten und 24 bzw. 30 Stunden später durch subkutane Tuberkulineinspritzung geprüften 5 Meerschweinchen (No. 8281, 8284, 8274, 8178, 8221) zeigten positive Reaktion 3 Tiere (8281, 8178, 8221), 1 Tier (8284) zweifelhafte und 1 Tier (8274) negative Reaktion.

Es tritt also nach subkutaner Tuberkulininjektion von 0,25 ccm Tuberkulin eine Reaktion sowohl bei solchen Meerschweinchen auf, die mit dem Serum tuberkulöser Individuen, als solchen, die mit dem Serum normaler Individuen vorbehandelt sind. Von einer spezifischen Sensibilisierung durch das Serum tuberkulöser Individuen kann also keine Rede sein; zum mindesten ist die Temperatursteigerung als Form der Ueberempfindlichkeitsreaktion für diesen Zweck nicht als Kriterium verwendbar.

Von den intrakutan mit Tuberkulin geprüften Meerschweinchen zeigte kein einziges Temperatursteigerung. Eine lokale Hautreaktion wurde ebenfalls bei keinem einzigen Tier beobachtet, weder bei solchen, die mit dem Serum tuberkulöser Meerschweinchen, noch bei denen, die mit dem Serum normaler Meerschweinchen vorbehandelt waren. Die Beurteilung des Effektes der Intrakutanprüfung erfolgte genau nach den Grundsätzen, die Römer und Joseph (14) durch Erfahrungen an mehreren Hunderten von Meerschweinchen als maßgebend erkannt und in der zitierten Arbeit beschrieben haben. Das Vorhandensein von Tuberkulose bei den serumliefernden Meerschweinchen No. 8118, 8227, 8228, 7942, 7999, 7990 und 595 einerseits, die Tuberkulosefreiheit der Meerschweinchen No. 8270, 8271, 8278, 7898 und 7896 andererseits wurde durch Sektion festgestellt, ebenso wie das Freisein von Tuberkulose bei sämtlichen Prüfungstieren.

Zum Beweise, daß normale Meerschweinchen auf subkutane Tuberkulininjektion reagieren können, auch ohne vorher mit Serum behandelt zu sein, führe ich die nachfolgende kleine Tabelle an. Um dem Einwand zu begegnen, die festgestellten erhöhten Temperaturen seien durch unvorsichtiges, nicht zweck-

mäßiges Vorgehen bei der Abnahme der Temperaturen verschuldet, habe ich 3 nicht injizierte Kontrollmeerschweinchen mitgemessen.

Tabelle II.

Meerschw. No.	Serum subkutan von M. No.		Nach 24 ^h Tuberkulin subkutan	Temperatur						Resultat
	ccm	M. No.		vor	1 ^{1/2} ^h	2 ^{1/2} ^h	nach			
						4 ^h	6 ^h	20 ^h		
8142	—	—	0,25	38,6	40,0	39,6	39,0	38,8	38,8	+
8305	—	—	0,25	38,5	39,6	39,5	38,7	38,7	38,6	?
8304	—	—	0,25	38,7	40,1	39,6	38,9	38,8	38,6	+
8303	—	—	—	38,6	38,6	38,8	38,7	38,6	38,7	0
8224	—	—	—	38,7	38,8	38,7	38,8	38,8	38,9	0
8268	—	—	—	39,0	38,9	38,9	38,7	38,8	38,9	0

Nach dem Ergebnis der in Tabelle II verzeichneten Versuche ist wohl ganz einwandfrei festgestellt, daß die von Bauer festgestellte Temperaturerhöhung nach subkutaner Tuberkulininjektion nicht als Beweis für eine bestehende typische Tuberkulinüberempfindlichkeit angesehen werden kann.

Um die Frage zu entscheiden, ob überhaupt ein spezifisches Sensibilisin im Blute tuberkulöser, tuberkulinüberempfindlicher Tiere vorkommt, wandte ich mich an eine Tierart, die durch eine exzessive Tuberkulinüberempfindlichkeit in tuberkulösem Zustand ausgezeichnet ist. Tuberkulöse Schafe reagieren bereits auf die subkutane Injektion von 0,0001 ccm Tuberkulin mit einer spezifischen und starken Fieberreaktion. Wenn überhaupt, so würde es also noch am ehesten mit dem Serum derart tuberkulin-hochempfindlicher Schafe gelingen, die Ueberempfindlichkeit auf ein normales Individuum zu übertragen. In der nachfolgenden Tabelle habe ich einen derartigen Versuch zusammengestellt.

Das Meerschweinchen 8116 ist mit normalem Schafserum behandelt, die übrigen Tiere mit den Seris tuberkulöser, tuberkulin-hochempfindlicher Schafe. Die Seruminjektion fand 24 Stunden vor der Tuberkulininjektion statt. Da nach den obigen Erfahrungen die subkutane Tuberkulinprüfung mit nachheriger Kontrolle der Temperatursteigerung sich als völlig ungeeignet zur Erkennung bestehender spezifischer Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit beim Meerschweinchen erwiesen hatte,

wandte ich in den nachfolgenden Versuchen ausschließlich die eindeutige intrakutane Methode an.

Tabelle III.

Meerschweinchen No.	Schaf- serum subkutan	Schaf No.	Tuberkulin- prüfung intrakutan	Urteil nach		
				1 × 24 ^h	2 × 24 ^h	3 × 24 ^h
8116	5 ccm	103	0,02 ccm	0	0	0
8097	5 „	49	0,02 „	0	0	0
8122	5 „	90	0,02 „	0	0	0
8120	5 „	85	0,02 „	0	0	0
8123	5 „	80	0,02 „	0	0	0
8102	5 „	60	0,02 „	0	0	0
8125	5 „	35	0,02 „	0	0	0
8063	5 „	33	0,02 „	0	0	0

Das Ergebnis auch dieser Versuchsreihe fiel eindeutig negativ aus.

Zusammenfassung.

1) Gesunde Meerschweinchen reagieren auf subkutane Tuberkulininjektion sehr leicht mit rasch einsetzendem Temperaturanstieg. Es kann also diese Form der Temperaturerhöhung nach Tuberkulineinspritzung nicht als beweisend für das Bestehen einer echten Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit beim Meerschweinchen betrachtet werden.

2) Der angebliche Beweis Bauers, daß durch Behandlung von gesunden Meerschweinchen mit dem Serum tuberkulöser Individuen (Mensch oder Meerschweinchen) eine echte Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulin erzeugt wird — nachweisbar durch die Temperaturerhöhung nach subkutaner Tuberkulininjektion — kann nicht als erbracht gelten.

3) Die intrakutane Tuberkulinprüfung von Meerschweinchen, die mit dem Serum tuberkulöser Meerschweinchen und Schafe behandelt waren, ergab bei keinem der geprüften Tiere eine spezifische Reaktion.

4) Ein Beweis für das Vorhandensein eines spezifischen Sensibilisins als Ursache der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit ist bisher nicht geführt worden.

Literatur.

- 1) Bauer, Die passive Uebertragung der Tuberkulose-Ueberempfindlichkeit. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 24.
- 2) — Die Immunitätsvorgänge bei der Tuberkulose. Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 13.
- 3) v. Behring, Die Gewinnung der Blutantitoxine und die Klassifizierung der Heilbestrebungen bei ansteckenden Krankheiten. Deutsche med. Wochenschr., 1893, No. 48.
- 4) — Tatsächliches, Historisches und Theoretisches aus der Lehre von der Giftimmunität. Deutsche med. Wochenschr., 1898, No. 42.
- 5) — und Kitashima, Ueber Verminderung und Steigerung der ererbten Giftempfindlichkeit. Berl. klin. Wochenschr., 1901, No. 11.
- 6) Doerr, Die Anaphylaxie. Handbuch der Immunitätsforschung, Bd. 2.
- 7) Helmholtz, Ueber passive Uebertragung der Tuberkulin-Ueberempfindlichkeit bei Meerschweinchen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, Heft 4.
- 8) Joseph, Die diagnostische Bedeutung der intrakutanen Tuberkulinreaktion. Berl. tierärztl. Wochenschr., 1909, No. 46.
- 9) Knorr, Experimentelle Untersuchungen über die Grenzen der Heilungsmöglichkeit des Tetanus. Habilitationsschrift Marburg, 1895.
- 10) Novotný, Ist die Temperatursteigerung als Kriterium bei der passiven Uebertragung der Tuberkulose-Ueberempfindlichkeit anzusehen? Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, Heft 7.
- 11) Richet et Dortier, De l'action anaphylactique de certains venins. Soc. de Biol., 1902.
- 12) Römer, Ueber intrakutane Tuberkulinanwendung zu diagnostischen Zwecken. Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 12, Heft 1.
- 13) — und Joseph, Prognose und Inkubationsstadium bei experimenteller Meerschweinchentuberkulose. Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 28.
- 14) — — Zur Verwertung der intrakutanen Reaktion auf Tuberkulin. Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 14, Heft 1.
- 15) Wladimiroff, Ueber die antitoxinerzeugende und immunisierende Wirkung des Tetanusgiftes bei Tieren. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 15.
- 16) Yamanouchi, Ueber die Anwendung der Anaphylaxie zu diagnostischen Zwecken. Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 47.

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminen-Spitals und der Abteilung für Kinderkrankheiten (Prim. Foltanek) in Wien.]

Uebertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen.

II. Mitteilung¹⁾.

Von Dr. **Karl Landsteiner** und Dr. **Emil Prasek**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Dezember 1909.)

Seit unserer ersten Mitteilung erschienen mehrere Berichte, die die von uns mitgeteilten Resultate bekräftigen. Zuerst die Arbeit von Knoepfelmacher²⁾, der mit dem Rückenmark eines typischen frischen Poliomyelitisfalles einen *Macacus Rhesus* mit positivem Erfolge impfte, dann die Mitteilungen von Flexner und Lewis³⁾, Leiner und Wiesner⁴⁾ und Roemer⁵⁾. Außerdem erschien eine Arbeit von Krause und Meinicke⁶⁾, in der die Autoren über Infektionsversuche berichten, die sie mit Organen und Körperflüssigkeiten an Poliomyelitis erkrankter und gestorbener Menschen an Affen und Kaninchen ausführten. Drei Affenversuche (Injektion von Lumbalflüssigkeit, Nervensubstanz, Blut, Milz, Verfütterung von Darminhalt) ergaben kein Resultat. Von den Versuchen an Kaninchen führte eine Anzahl zum Tode der Tiere, wobei Erscheinungen von seiten des Nervensystems beobachtet wurden. Mehrmals wurde auch durch Uebertragung des von den verendeten Kaninchen stammenden Materials auf neue Kaninchen bei diesen ein ähnliches, letal

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, 1909, p. 377; vgl. auch die Sitzungsber. d. Ges. d. Aerzte 18. Dez. 1908, und Tagung der Ges. d. deutsch. Nervenärzte, Wien 1909, Sept.

2) Med. Klinik, 1909, No. 44. Experimentelle Uebertragung der Poliomyelitis ant. ac. auf Affen.

3) The transmission of acute Poliomyelitis to monkeys. Journ. of Amer. medic. Assoc., Vol. 53, 1909, 13. Nov. und 4. Dez.

4) Verein f. innere Med. und Kinderheilkunde in Wien; Sitzungsber. vom 18. Nov. 1909, und Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 49.

5) Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 49.

6) Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 42; vgl. auch Landsteiner, ebenda, 1909, No. 45.

endendes Krankheitsbild hervorgerufen. Ob die von Krause und Meinicke mitgeteilten Versuche wirklich die Bedeutung gelungener Uebertragung der Poliomyelitis haben, kann vorläufig nicht sicher entschieden werden, da der pathologisch-anatomische Befund der Versuchstiere noch nicht mitgeteilt wurde. Es sind in dieser Beziehung die Resultate weiterer Versuche abzuwarten, mit denen wir in Gemeinschaft mit Levaditi beschäftigt sind. Von anderen neueren Mitteilungen, die die Aetiologie der Poliomyelitis betreffen, sind noch eine Diskussionsbemerkung von Schultze¹⁾, eine Mitteilung von Popetschnigg²⁾ und Harbitz und Scheel³⁾ zu erwähnen. Während wir in dem von uns untersuchten Falle⁴⁾ in sicher sehr virulentem Material ebenso wie frühere Autoren mit den gewöhnlichen Methoden Bakterien nicht nachweisen konnten, gaben Schultze und Popetschnigg an, in ihren Fällen leicht kultivierbare Kokken, denen sie eine ätiologische Rolle beizumessen geneigt sind, aus dem Liquor cerebrospinalis gezüchtet zu haben.

Durch die Untersuchungen der anderen Autoren, namentlich der von Leiner und Wiesner, werden diese Ergebnisse wohl sehr in Frage gestellt. Auch Roemer kommt in seiner zitierten Mitteilung zu derselben Vermutung wie wir vorher, daß das Virus der Poliomyelitis nicht mit den gewöhnlichen bakteriologischen Methoden nachweisbar sein dürfte.

Nachdem die Uebertragbarkeit der Poliomyelitis auf Tiere erwiesen war, mußte es offenbar das nächste Ziel sein, die Uebertragung von Tier zu Tier fortzusetzen, um so in den Besitz eines dauernd zur Verfügung stehenden Untersuchungsmaterials zu gelangen. Unsere ersten, mit intracerebraler Injektion in dieser Richtung vorgenommenen Versuche und Knoepfelmachers Versuch mißlingen.

Wir konnten damals nicht entscheiden, ob eine Abschwächung des Virus im Affenkörper vorlag, oder ob unser negatives Ergebnis auf einen zufälligen Umstand, wie wir schon damals vermuteten, der zu spät vorgenommenen Ueber-

1) Tag. d. Ges. deutsch. Nervenärzte in Wien, Sept. 1909.

2) Wien. klin. Wochenschr., 1909.

3) Journ. americ. medic. Assoc., Vol. 50, 1908, No. 4.

4) l. c.

tragung, beruhte. Wir gelangten erst vor kurzem wieder in den Besitz eines Materials, das gestattete, die Versuche von neuem wieder aufzunehmen. Wir machten zumeist wieder intracerebrale Injektionen, und es zeigte sich jetzt, daß die Tierpassage ohne jede Schwierigkeit gelang. Unmittelbar hintereinander erschienen nun Mitteilungen über gelungene Tierpassagen von Flexner und Lewis¹⁾, Leiner und Wiesner¹⁾, von dem einen von uns (Landsteiner) und Levaditi²⁾, und nachher erschien noch eine Mitteilung gleichen Inhalts von Roemer³⁾.

Wir verwendeten das Rückenmark eines an Poliomyelitis auf der Abteilung des Herrn Prim. Foltanek verstorbenen Kindes.

13-monatiges Mädchen M. P., am 5. Nov. 1909 auf die Foltanek'sche Abteilung aufgenommen.

Kind unruhig, schwer respirierend, stimmlos (Larynxlähmung), Schlinglähmung, Gaumen beweglich, Lähmung des M. cucullaris. Ueber der linken Lunge dichtes Rasseln. Sitzen unmöglich. Inspiratorische Einziehung der Interkostalräume. Bauchreflex fehlt. Patellarreflexe vorhanden. — 6. Dez. Inspiratorische Dyspnoë; im Kehlkopf dicker, eitriger Schleim. Patellarreflexe geschwunden, Bewegungen der Beine weniger lebhaft. Ueber beiden Lungen Rasseln. 1^h p. m. Exitus letalis.

Sektionsbefund: Poliomyelitis ant. acuta. Diffuse chronische eitrig Bronchitis. Bronchiektasien in beiden Unterlappen. Schwellung der lymphatischen Apparate des Darmes und der mesenterialen Lymphdrüsen. Degeneration der Parenchyme. Der histologische Befund ergab das typische Bild hochgradiger poliomyelitischer Veränderungen.

Unmittelbar nach der Obduktion wurde das Rückenmark verrieben, mit Kochsalzlösung emulgiert und auf Affen übertragen; es erhielt ein Cynocephalus Hamadryas (I) und ein Java-Affe intraperitoneale Injektionen ziemlich beträchtlicher Mengen der Emulsion, ein Macacus Rhesus (I) wurde intracerebral injiziert, einem zweiten Macacus Rhesus wurde zerriebenes Rückenmark in die Nase, Bindehautsack eingebracht, und demselben Tier Rückenmarksubstanz verfüttert. Von diesen Tieren blieben der Java-Affe und der letztgenannte Rhesus gesund.

1) l. c.

2) Compt. rend. acad. d. scienc., 29. Nov. 1909; Compt. rend. d. Soc. d. Biol., T. 67, p. 592, 27. Nov. 1909.

3) l. c.

Hamadryas I und Rhesus I erkrankten.

Rhesus I blieb bis zum 16. Nov. gesund.

An diesem Tage trat bei ihm eine vollständige Lähmung der rechten, eine partielle Lähmung der linken hinteren Extremität auf; Temperatur 40,3° C. Der Affe wurde am 16. Nov. getötet, eine Emulsion seines Lendenmarks einem Macacus Rhesus (II) intracerebral verimpft. Bei diesem Tier begann die Erkrankung mit Zittern des Kopfes und Schwäche der beiden oberen Extremitäten; Temperatur 40° C. Am 25. Nov. Lähmung beider Oberarme, so daß das Tier weder klettern noch kriechen kann und genötigt ist, ohne Zuhilfenahme der Extremitäten die Nahrung zu sich zu nehmen. Temperatur 37° C. Am Nachmittag tritt noch eine Lähmung der hinteren Extremitäten hinzu. Das Tier wird getötet und mit einer aus seinem Rückenmark hergestellten Emulsion werden zwei Rhesus- (IV, V) Affen intracerebral infiziert. Rhesus IV erkrankt am 1. Dez. mit Mattigkeit, Zittern des Kopfes und der Extremitäten; Temperatur 39,5° C. 2. Dez. Schwäche der Extremitäten; Temperatur 40,1° C. 3. Dez. Vollständige Lähmung der Unterschenkel, Parese der unteren Extremitäten, starkes Zittern; Temperatur 39,2° C. Wird getötet. Rhesus V erkrankt am 2. Dez. unter Lähmungen. Ein mit dem Rückenmark dieses Affen intracerebral infizierter Rhesus VI erkrankte nach einer Inkubation von 9 Tagen und zeigte neben leichten Paresen der Extremitäten eine beiderseitige ausgeprägte Ptosis (histologisch schwere Veränderungen im Bereiche der oberen Hirnnervenkerne).

Der oben erwähnte Cynocephalus Hamadryas I erkrankte 9 Tage nach der Injektion am 15. Nov.; das Tier zeigte allgemeine Schwäche, geringe Freßlust; Temperatur 39,6°. Am 16. Nov. 39,4° C, Zittern der Extremitäten. Am 17. Nov. Temperatur 39,1, starkes Zittern. Das Tier wird getötet; an seinem Rückenmark werden, obwohl während seines Lebens keine ausgeprägten Lähmungen zu bemerken waren, bei der histologischen Untersuchung, namentlich im Cervikalmark und in der Medulla oblongata sehr schwere und ganz typische poliomyelitische Veränderungen gefunden. Von dem Rückenmark dieses Affen wird auf einen Macacus Rhesus III und einem Cynocephalus Hamadryas III intracerebral abgeimpft. Hamadryas III, der noch einmal am 26. Nov. eine Injektion eines Virus 3. Passage erhält, erkrankt am 28. Nov. mit Mattigkeit, geringer Freßlust, Zittern des Kopfes; der Zustand verschlimmert sich, das Tier wird am 29. Nov. getötet. Ein mit dem Rückenmark dieses Tieres intracerebral infizierter Rhesus VII erkrankt am 7. Dez. mit starker Parese der unteren Extremitäten. Am 8. Dez. Parese der oberen Extremitäten, vollständige Lähmung der unteren Extremitäten, vollständige Lähmung des r. Facialis (cf. Leiner und Wiesner). Bei Rhesus III am 25. Nov. Temperatur 40,5, am 26. Nov. 39,7° C, Parese der hinteren Extremitäten. Das Tier wird getötet.

In allen Fällen wurde die histologische Untersuchung vorgenommen und regelmäßig fanden wir die poliomyelitischen Veränderungen in sehr ausgeprägter Weise entwickelt. Zum

Teil (Hamadryas I, III; Rhesus I, VI) entsprachen die histologischen Veränderungen denen, wie sie bei der menschlichen Erkrankung vorgefunden werden, und wie wir sie bei unseren ersten Versuchen beobachteten. Bei dem Rhesusrückenmark späterer Passagen (Rhesus II, III, IV, V, VII) fanden wir aber ein in eigenartiger Weise abgeändertes histologisches Bild, nämlich neben manchmal stärker entwickelten Hämorrhagien einen besonders hochgradigen Zerfall der motorischen Ganglienzellen und eine auffallend starke Infiltration derselben mit Rundzellen, zumeist polynukleären Leukocyten, mit starker Kernfragmentation, derart, daß bei der Betrachtung mit schwacher Vergrößerung die Ganglienzellen durch Leukocytenhäufchen ersetzt erscheinen. Eine Anzahl der die Ganglienzellen durchsetzenden Rundzellen zeigt ein geblähtes Protoplasma und an den Rand gedrängten, abgeplatteten Kern. In diesen Präparaten waren die perivaskulären Infiltrate weniger ausgeprägt. Diese Bilder sprechen für ein primäres Befallensein der Ganglienzellen.

Wenn man die Inkubationszeiten¹⁾ und die Krankheitserscheinungen bei unseren Passagetieren vergleicht, so ergibt sich bis jetzt für eine Abschwächung des Virus durchaus kein Anhaltspunkt. Ob umgekehrt eine Anpassung des Virus an den Tierkörper stattfindet, läßt sich noch nicht entscheiden. Jedenfalls zeigen die Resultate, worauf auch die anderen Autoren hinweisen, daß die experimentelle Bearbeitung des Virus der Poliomyelitis ohne irgendwelche Schwierigkeiten auszuführen ist.

Daß, wie Flexner meint, durch die Tierpassage erst die Infektiosität der Poliomyelitis erwiesen sei, ist nur mit der Einschränkung anzunehmen, daß die Infektiosität wohl auch schon nach den epidemiologischen Tatsachen kaum mehr einem Zweifel unterlag.

Ueber das Verhalten des Virus läßt sich bis jetzt sagen, daß es in verdünntem Glycerin mindestens 7 Tage, in ein-

1) Inkubationen:

1. Gen. Rhesus I	10 Tage	1. Gen. Hamadryas I	9 Tage
2. " " II	8 "	2. " { Rhesus III	11 "
3. " { " IV	6 "	3. " " III	9 "
4. " " V	7 "	3. " " VII	8 "
4. " " VI	9 "		

gefrorenem Zustande durch 11 Tage und beim Trocknen über KOH durch 9 Tage haltbar ist [Landsteiner und Levaditi¹⁾]. Das Virus wurde außer im Rückenmark noch im Cortex cerebri gefunden (Flexner). Mit Milz, Blut und Liquor cerebrospinalis hatten Leiner und Wiesner, ebenso wie wir selbst mit menschlichem Liquor cerebrospinalis bisher nur negative Impfergebnisse. Ein positives Resultat hatten wir bisher einmal in Gemeinschaft mit Levaditi bei der Verimpfung einer Emulsion von Parotis- und Submaxillarisdrüse eines Affen 2. Viruspassage. Den wichtigsten Aufschluß über die Beschaffenheit des Virus ergaben gelungene Filtrationsversuche von Landsteiner und Levaditi²⁾ durch Berkefeld- und Chamberlandkerzen. Danach gehört das Virus in die Klasse der filtrierbaren Mikroorganismen. Zu dem gleichen Ergebnis kam nachher Flexner³⁾.

Für den Infektionsweg innerhalb des Organismus ist es von Bedeutung, daß die Infektion leicht durch Injektion des Virus in periphere Nerven (und durch intraokuläre Injektion) zu erzielen ist (Flexner, Landsteiner und Levaditi).

Zusammenfassung.

Bericht über gelungene Tierpassagen bei Poliomyelitis anterior acuta.

Das Virus der Poliomyelitis gehört zur Klasse der filtrierbaren Mikroorganismen (Landsteiner und Levaditi, Flexner).

1) l. c. und Soc. d. Biol., 18. Dez. 1909 (während der Korrektur erschienen, vergl. Flexner).

2) Soc. d. Biol., 27. Nov. und 18. Dez. 1909.

3) S. Flexner, Journ. Ann. med. Assoc., 18. Dez. 1909 (während der Korrektur erschienen).

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institute der deutschen Universität
in Prag (Vorstand: Prof. Dr. Pohl).]

Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit.

Von Dr. **Hugo Braun**,
gewesenem Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Dezember 1909.)

In der Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 37, haben wir kurz die Resultate unserer Versuche zur Frage der Serumüberempfindlichkeit mitgeteilt. Nur durch äußere Umstände sind wir daran verhindert worden, rechtzeitig in ausführlicher Form unsere im März ds. Js. abgeschlossene Arbeit zu veröffentlichen.

Vieles von dem, was wir festgestellt haben, ist indessen von anderen Autoren publiziert worden. Trotzdem glauben wir, daß die Wiedergabe unserer Versuchsergebnisse nicht wertlos sein wird.

Folgende Fragen sind es, die zu beantworten wir bestrebt waren:

1) Wie reagiert der Meerschweinchenorganismus auf die Einführung von Pferdeserum und welche Rolle spielt dabei die gleichzeitige Einverleibung von

- a) Diphtherietoxin?
- b) Tetanustoxin?

2) Welche ist die Symptomatologie der Serumüberempfindlichkeit der Meerschweinchen?

3) Ist die Anaphylaxie auf heterologe Tiere übertragbar, und verhalten sich andere Tiere analog den Meerschweinchen?

4) Welche sind die Eigenschaften und die Wirkungsweise des anaphylaktischen Reaktionskörpers?

1.

Die Erfahrungen, die man bei Immunisierung von Laboratoriumstieren gesammelt hatte, lehrten, daß die Meerschweinchen zur Erzeugung wirksamer Antisera viel weniger geeignet sind, als die Kaninchen.

Nur in einer Richtung erweisen sie sich als geeignet, nämlich in ihrer Fähigkeit, Antikörper gegen Organzellen zu produzieren. Auch ihre geringe Reaktionsfähigkeit auf die Einführung von Pferdeserum ist bekannt (Uhlenhuth). Diesem Autor ist es nie gelungen, hochwirksame Antisera von Meerschweinchen gegen Pferdeserum zu erzeugen. Unsere Erfahrungen bestätigen dies vollinhaltlich. Durch wiederholte subkutane und intraperitoneale Injektionen von 5 ccm Pferdeserum wurden nur minderwertige Sera gewonnen. (Tabelle I.)

Tabelle I.

- A. Meerschweinchen 60, 500 g.
 3. XII. 1908 5 ccm Pferdeserum ip.
 8. XII. 1908 dgl.
 20. XII. 1908 verblutet.
 B. Meerschweinchen 61, 500 g.
 Behandelt wie A.

	Pferdeserum	NaCl	Antiserum	A. nach 3 ^h bei 37°	A. nach 20 ^h Z.T.	B. nach 3 ^h bei 37°	B. nach 20 ^h Z.T.
1	0,1	0,7	0,2	+	+	trüb	+
2	0,01	0,7	0,2	⊖	≠	trüb	+
3	0,001	0,7	0,2	⊖	?	?	trüb
4	—	0,8	0,2	⊖	⊖	⊖	⊖
5	0,1	0,9	—	⊖	?	⊖	?

- Meerschweinchen 70, 71, 72.
 10. I. 1909 }
 16. I. 1909 } 5 ccm Pferdeserum subkutan.
 22. I. 1909 }
 2. II. 1909 }
 12. II. 1909 verblutet und das Serum aller 3 Tiere zusammengossen.

	Pferdeserum	NaCl	Antiserum	Nach 2 ^h
1	0,1	0,7	0,2	trüb
2	0,01	0,7	0,2	schwache Trübung
3	0,001	0,7	0,2	⊖
4	0,1	0,8	0,1	trüb
5	0,01	0,8	0,1	schwache Trübung
6	0,001	0,8	0,1	⊖
7	—	0,8	0,2	⊖
8	0,1	0,9	—	⊖

Z.T. = Zimmertemperatur, ip. = intraperitoneal; + Flocken, ≠ sehr starke Flockenbildung, ≡ Bodensatz, überstehende Flüssigkeit klar.

4 Meerschweinchen erhalten wiederholt 5 ccm Pferdeserum ip. 6 Injektionen von 13. XII. 1908 bis 12. II. 1909.

Am 23. II. 1909 entblutet.

	Pferdeserum	Antiserum	NaCl	Nach $\frac{1}{2}$ ^a	Nach 1 ^a	Nach 2 ^a	Nach 18 ^a Z.T.	Nach 20 ^a Z.T.	Nach 36 ^a Z.T.
1	0,1	0,2	0,7	trüb	+	##	##	##	##
2	0,01	0,2	0,7	⊖	trüb	trüb	+	+	≠
3	0,001	0,2	0,7	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb
4	0,1	0,1	0,8	⊖	trüb	trüb	trüb	trüb	+
5	0,01	0,1	0,8	⊖	⊖	⊖	trüb	trüb	+
6	0,001	0,1	0,8	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb
7	—	0,2	0,8	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
8	0,1	—	0,9	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Durch subkutane Injektionen geringer Mengen von Pferdeserum (0,15 ccm) wurden relativ wirksame Sera erzeugt. (Tabelle II.)

Tabelle II.

3 Meerschweinchen (400 g) erhalten vom 13. XII. bis 24. XII. 1908 3 Injektionen von 0,15 ccm normalen Pferdeserums subkutan.

4. I. 1909 verblutet (Ser. 1, Ser. 2, Ser. 3).

Mit jedem dieser Sera wurde folgender Versuch angestellt:

	Meerschweinserserum			Pferdeserum			NaCl		
1		0,3			0,1			0,6	
2		0,3			0,01			0,6	
3		0,3			0,001			0,6	
4		0,2			0,1			0,7	
5		0,2			0,01			0,7	
6		0,2			0,001			0,7	
7		0,1			0,1			0,8	
8		0,1			0,01			0,8	
9		0,1			0,001			0,8	
10		0,3			—			0,7	
11		—			0,1			0,9	

	Nach 1 ^a			Nach 3 ^a			Nach 24 ^a		
	Ser. 1	Ser. 2	Ser. 3	Ser. 1	Ser. 2	Ser. 3	Ser. 1	Ser. 2	Ser. 3
1	trüb?	?	trüb?	≠	?	+	##	trüb	##
2	⊖	⊖	⊖	trüb?	⊖	trüb	trüb	trüb	+
3	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
4	trüb?	⊖	⊖	+	⊖	trüb?	+	trüb	≠
5	⊖	⊖	⊖	trüb?	⊖	?	trüb	⊖	+
6	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
7	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb	trüb?	⊖
8	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb	⊖	?
9	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
10	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
11	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Diese Tatsache zeigt uns, daß der Meerschweinchenorganismus nicht unempfindlich ist für die Antigeneinführung. Trotzdem bleibt die absolute Menge des Präzipitins auch bei wiederholter Vorbehandlung eine geringe.

Otto, durch dessen grundlegende Arbeiten erst die Aufmerksamkeit der Immunitätsforscher auf das Theobald Smithsche Phänomen gelenkt wurde, stellte fest, daß nicht nur durch Toxin-Antitoxin, sondern auch durch normales Pferdeserum beim Meerschweinchen Anaphylaxie zu erzeugen ist, die nur im letzteren Falle viel schwächer ausgeprägt ist. Durch mehrmalige Vorbehandlung mit normalem Pferdeserum gelang es ihm, gleichschwere Symptome zu bedingen, wie durch Toxin-Antitoxin. Die besondere Wirksamkeit der Toxin-Antitoxingemische erklärt Otto derart, daß vielleicht durch Spuren von Giftresten die Zellen eine bestimmte Stimulation erfahren, die sie auch anderen Agentien gegenüber empfänglicher macht.

Doerr glaubt, daß durch das Toxin eine dauernde Schädigung der Ganglienzellen herbeigeführt wird, welche diese empfindlicher macht für den Vorgang, der dem anaphylaktischen Symptomenkomplex zugrunde liegt. Wir untersuchten die Beeinflussung der Präzipitinbildung durch das Diphtherietoxin.

Ist doch die günstige Beeinflussung der Antikörperproduktion durch zahlreiche Agentien bekannt, und Altman hat speziell für die Eiweiß-Antikörper die interessante Tatsache feststellen können, daß man beim Kaninchen mit besetzten Blutkörperchen in kurzer Zeit wirksame Antisera gegen die angewandten Ambozeptoren erzeugen kann.

Ein analoges Verhalten der Toxin-Antitoxingemische zu vermuten, war daher nicht unberechtigt.

Die Experimente bestätigten unsere Vermutung.

Tabelle III.

- 3 Meerschweinchen (325 g) erhalten Diphtherieantitoxin subkutan.
- 20. XI. 1908 je 0,05 ccm Diphtherieantitoxin in 2 ccm.
 - 24. XI. 1908 „ 0,05 „ dgl.
 - 30. XI. 1908 „ 0,05 „ dgl.
 - 7. XII. 1908 ein Tier verblutet (M_1).
 - 9. XII. 1908 zwei Tiere verblutet (M_2 , M_3).

39*

3 Meerschweinchen (320—350 g) erhalten das gleiche Antitoxin neutralisiert mit Diphtherietoxin (= 5-fach).

20. XI. 1908 je 0,05 Antitoxin + 1 ccm Diphtherietoxin + 0,95 NaCl
2 Stunden bei 37°.

24. XI. 1908 dgl.

30. XI. 1908 dgl.

7. XII. 1908 verblutet ein Tier (Ma).

7. XII. 1908 zwei Tiere verblutet (Mb, Mc).

8. XII. 1908 Serum M₁, Ma.

	Ser. M ₁	Pferdeser.	NaCl	2 ^a	3 ^a	5 ^a	8 ^a	20 ^a
1	0,4	0,1	0,5	⊖	⊖	trüb	trüb	+
2	0,4	0,01	0,5	⊖	?	trüb	trüb	+
3	0,4	0,001	0,5	⊖	⊖	⊖	⊖	?
4	0,4	—	0,6	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
5	—	0,1	0,9	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

	Ser. Ma	Pferdeser.	NaCl	2 ^a	3 ^a	5 ^a	8 ^a	20 ^a
1	0,4	0,1	0,5	trüb	≠	≠	##	##
2	0,4	0,01	0,5	trüb	≠	≠	##	##
3	0,4	0,001	0,5	⊖	⊖	⊖	⊖	+
4	0,4	—	0,6	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
5	—	0,1	0,9	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

9. XII. 1908 M₂, M₃, Mb, Mc.

Mit jedem Serum dieser Tiere wurde folgender Versuch angestellt.

	Meerschweinchenser.	Pferdeserum	NaCl
1			
2	0,3	0,1	0,6
3	0,3	0,01	0,6
4	0,3	0,001	0,6
5	0,2	0,1	0,7
6	0,2	0,01	0,7
7	0,2	0,001	0,7
8	0,1	0,1	0,8
9	0,1	0,01	0,8
10	0,1	0,001	0,8
11	—	—	0,7
		0,1	0,9

	Nach 2 ^a				Nach 3 ^a			
	M ₂	M ₃	Mb	Mc	M ₂	M ₃	Mb	Mc
1	⊖	⊖	?	?	trüb?	+	##	+
2	⊖	⊖	⊖	?	⊖	trüb?	trüb	##
3	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	?
4	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb?	trüb?	+	+
5	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb	trüb
6	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
7	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb?	?	trüb	trüb
8	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	trüb	trüb
9	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
10	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
11	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Das Diphtherietoxin erwies sich als ein die Präzipitinbildung unterstützender Faktor.

Den gleichen Einfluß desselben auf die Produktion der anaphylaktischen Reaktionskörper anzunehmen, ist wohl nicht unberechtigt.

Wir prüften nun auch die Wirkung des Tetanustoxins auf die Ausbildung der Anaphylaxie.

Frey hat einen hemmenden Einfluß des Tetanustoxins auf die Serumüberempfindlichkeit der Meerschweinchen beschrieben. Diese Tatsache wäre wegen des nervösen Charakters der anaphylaktischen Erscheinungen und der starken Affinität des Tetanustoxins zu den Nervenzellen nicht uninteressant.

Unsere in dieser Richtung angestellten Versuche lehrten, daß das Tetanustoxin die Ausbildung der Serumüberempfindlichkeit nicht hemmt. Die Tiere zeigten ganz analoges Verhalten, wie die mit Diphtherietoxin vorbehandelten. Ein Versuch folgt (Tabelle IV).

Tabelle IV.

1. VIII. 1908. Eine Reihe von Meerschweinchen erhält in 1 ccm NaCl 0,001 Tetanustoxin (die 10-fach letale Dosis) + 0,01 ccm Antitoxin Höchst 5-fach subkutan.
13. IX. 1908. 4 Tiere, 5 ccm Pferdeserum ip.
 - 2 Tiere nach 10 Minuten unter anaphylaktischen Erscheinungen tot.
 - 2 Tiere nach $\frac{1}{2}$ Stunde sehr schwer krank.
 Ein Tier am 20. X. ein Junges geboren.
 Dieses am 27. X. mit 1,5 ccm Pferdeserum ip. injiziert.
 Schwere anaphylaktische Erscheinungen.
 Serum dieser Tiere enthält anaphylaktischen Reaktionskörper.

2.

Seit dem Abschluß unserer Arbeit ist die Symptomatologie der Serumüberempfindlichkeit von verschiedenen Autoren bearbeitet worden.

Ein besonderes Interesse beansprucht die Arbeit von Biedl und Kraus über die Anaphylaxie der Hunde. Wir wollen nur in aller Kürze auf unsere Erfahrungen eingehen.

Die Betrachtung eines anaphylaktische Erscheinungen darbietenden Meerschweinchens läßt Zirkulationsstörungen, seien sie kardial oder peripher ausgelöst, vermuten. Da Blutdruck-

senkung mit Temperaturabfall verbunden zu sein pflegt, nahmen wir regelmäßig Temperaturmessungen vor und stellten fest, daß der anaphylaktische Symptomenkomplex, wenn er nicht akut mit dem Tode endet, von einer Temperatursenkung begleitet ist. Unabhängig von uns ist auch Pfeiffer zu denselben Resultaten gelangt.

Kontrollversuche, die wir mit Kochsalzlösung bei anaphylaktischen, und mit Pferdeserum bei unvorbehandelten Tieren ausgeführt haben, zeigten uns, daß es unter diesen Bedingungen nie zu einer nennenswerten Temperatursenkung kommt. Hervorgehoben muß werden, daß vorübergehende Temperaturschwankungen selbst um mehr als 1° beim Meerschweinchen schon ohne Injektion bei wiederholten Messungen vorkommen, die bei Einverleibung von sonst indifferenten Flüssigkeiten (Kochsalzlösung, normales Pferdeserum) häufiger beobachtet werden. Doch können dieselben mit der die anaphylaktischen Erscheinungen begleitenden Temperatursenkung nicht verwechselt werden, da diese viel größer ist (2—7°) und längere Zeit andauert. Betonen müssen wir noch, daß sich unsere Erfahrungen nur auf das normale Pferdeserum beziehen. Ob andere Sera (Menschenserum, Rinderserum) schon bei unvorbehandelten Meerschweinchen temperaturerniedrigend wirken, zogen wir nicht in den Bereich unserer Untersuchungen. Einige wenige diese Tatsachen betreffenden Versuchsprotokolle sollen wiedergegeben werden.

Tabelle V.

Meerschweinchen, 430 g.

29. V. 1908. 0,004 Diphtherieantitoxin + 0,95 Diphtherietoxin.

7. VII. 1908. 9^{1/4} 37,7°.

9^{1/2} 5 ccm Pferdeserum ip.

9^{3/4} Reizerscheinungen 36,5°.

10^b 35°, krank.

10^{1/2} schwer krank, 32°.

Meerschweinchen, 325 g.

5. X. 1908. 5 ccm anaphylaktisches Meerschweinchenserum ip.

7. X. 1908. 5 ccm Pferdeserum ip. Temp. 37,5.

1/2 Stunde nach der Injektion schwere Erscheinungen,
Temp. 32,8°.

Nach 1 Stunde 32,2°.

Nach 2 Stunden krank, 32,2°.

Meerschweinchen, 300 g.

30. VI. 1908. $\frac{1}{2}$ 4^h 38,2°
 3^h 45' 6 ccm Pferdeserum ip.
 4^h munter, 37,2°
 5^h 35' keine Erscheinung, 37,5°.

Meerschweinchen, 300 g.

18. X. 1908. $\frac{2}{4}$ 10^h 36,7°, 5 ccm Pferdeserum ip.
 10^h 10' 37°, keine Erscheinung
 10^h 45' 37°
 11^h 30' 37°
 12^h 37°.

Zahlreiche analoge Versuche ergaben das gleiche Resultat.

Meerschweinchen, 350 g.

15. X. 1908. 9^h 17' 38,9°
 9^h 46' 5 ccm NaCl 37°
 10^h 20' 37,6°
 11^h 17' 38,4°
 12^h 5' 39,1°
 1^h 40,5°
 3^h 39,7°
 5^h 15' 39°.

Analoges Verhalten zeigten zahlreiche andere Kontrolltiere.

Um die primäre Ursache der Temperatursenkung festzustellen, verfolgten wir zunächst die Blutdruckverhältnisse während des anaphylaktischen Shocks (Kraus und Biedl, Friedberger). Wir stießen auf große technische Schwierigkeiten, da sich das Meerschweinchenblut durch seine rasch eintretende Gerinnbarkeit auszeichnet.

Die ausgeführten Experimente lehrten uns, daß die Blutdrucksenkung nicht die primäre Ursache des Ueberempfindlichkeitsphänomens sein kann, da sie erst nach längerem Bestehen der anaphylaktischen Erscheinungen zu konstatieren ist. Es besteht darin ein Unterschied zu der Anaphylaxie der Hunde (Biedl und Kraus). — Wir haben eine ganze Reihe von Versuchen angestellt, um zu prüfen, ob aus dem Pferdeserum im überempfindlichen Tier ein Gift gebildet wird. Wegen der negativen Resultate soll auf die ausführliche Wiedergabe unserer Versuchsergebnisse verzichtet werden und nur kurz sei erwähnt, daß das Blut der unter anaphylaktischen Symptomen verstorbenen Meerschweinchen, normalen Tieren injiziert, keinerlei Krankheitssymptome hervorruft (Otto).

Auch Kochsalzextrakte aus Nebennieren und Gehirn von an Serumkrankheit eingegangener Meerschweinchen, Kaninchen und Meerschweinchen intravenös injiziert, erzeugen keine andere Wirkung als Extrakte aus Organen normaler Tiere.

3.

Wir wollen nun zu der wichtigen Frage übergehen, ob die Serumüberempfindlichkeit auf artfremde Tiere übertragbar ist. Von Otto und später auch von Doerr und Raubitschek ist festgestellt worden, daß man mit anaphylaktischem Kaninchenserum die Ueberempfindlichkeit auf Meerschweinchen übertragen kann. Diese Tatsache bildet eine Analogie zu anderen aus der Immunitätslehre bekannten Serumwirkungen, und ist daher für die Auffassung der Anaphylaxie von größter Wichtigkeit. Die Annahme, es handle sich bei der Serumüberempfindlichkeit um eine Antigen-Antikörperwirkung (Friedberger), hat durch diese fundamentale Tatsache eine Stütze erhalten. Da aber die Immunserumwirkung nicht nur vom Kaninchen auf das Meerschweinchen übertragbar ist, sondern auch auf andere Tierarten, so stellten wir Uebertragungsversuche mit dem Serum überempfindlicher Tiere auf solche an, bei denen aktiv Anaphylaxie zu erzeugen ist. Wir bedienten uns hierzu Kaninchen, Meerschweinchen und weißer Mäuse. Ein Versuch folgt.

Tabelle VI.

Kaninchen, schwarzweiß, 2800 g.	
3. XII. 1908 bis 26. I.	mit je 5 ccm Pferdeserum iv. vorbehandelt (6 Injektionen).
	0,1 ccm des Serums reagierte stark (+) mit 0,001 ccm Pferdeserum.
Kaninchen, gelb, 1040 g.	
19. II. 1908.	5 ccm Pferdeserum präzip. Kaninchenserum subkutan.
20. II. 1908.	Kein Infiltrat.
22. II. 1908.	10 ^h 45' 4 ccm Pferdeserum 37° iv.
	5 " " 37° subkutan.
11 ^b	39°, keine Erscheinungen
11 ^{1/2} ^h	} 39,2°, keine Erscheinungen.
12 ^a	
Kaninchen, schwarz, 1060 g.	
19. II. 1908.	5 ccm präz. Serum subk.
20. II. 1908.	Kein Infiltrat.

22. II. 1908. 10^b 45' 4 ccm Pferdeserum iv.
 5 " " subk.
 11^b 38°, keine Erscheinungen.
 11^b 15' 38°, " "
 11^{1/2} 38,2°, " "
 12^b keine Erscheinungen.
- 2 weiße Mäuse (20 g).
 19. II. 1908. 2 ccm präzip. Serum subk.
 20. II. 1908. Kein Infiltrat.
 22. II. 1908. 10^b 50' 1 ccm Pferdeserum ip.
 11^b keine Erscheinungen.
 11^b 30' " "
 12^b " "
- Meerschweinchen, 280 g.
 19. II. 1908. 5 ccm präz. Serum subk.
 20. II. 1908. Großes Infiltrat.
 22. II. 1908. Infiltrat kleiner.
 10^b 35' 5 ccm Pferdeserum ip.
 Temp. 38,4°.
 10^b 50' Anaphylaxie, 35°.
 11^b 15' liegt.
 11^b 45' totale Lähmung, 31,3°.
 12^b tot.
- Gleiches Resultat erzielten wir mit einem stark wirksamen Kaninchen-
 serum. Dasselbe flockte sofort bis zur Verdünnung 1:10000 aus.
17. II. 1909. 2 Meerschweinchen, die am 19. XII. 1908 mit Toxin-
 Antitoxin (0,02 Pferdeserum) vorbehandelt wurden, ver-
 blutet = anaphylaktisches Serum.
- Meerschweinchen, 250 g.
 17. II. 1909. 4 ccm anaphylaktisches Serum subk.
 20. II. 1909. 3^b 15' 36,8°.
 3^b 30' 5 ccm Pferdeserum ip.
 3^b 37' Anaphylaxie.
 3^b 50' schwer krank.
 4^b 35,2°.
 4^b 30' keine Erscheinungen, 36°.
- 2 weiße Mäuse (20 g).
 18. II. 1909. 1 ccm anaphylaktisches Serum subk. +
 1 " " " ip.
 20. II. 1909. 1 " Pferdeserum ip.
 4^b—6^b 15' keine Erscheinungen.
- 2 Kaninchen (1020, 1040 g).
 18. II. 1909. 5 ccm anaphylaktisches Serum subkutan.
 20. II. 1909. 5 " Pferdeserum iv.
 10^b—12^b keine Erscheinungen.

Wie aus dem angeführten und analogen Versuchen hervorgeht, läßt sich mit anaphylaktischem Kaninchen- und Meerschweinchenserum nur auf Meerschweinchen die Ueberempfindlichkeit regelmäßig übertragen, nicht dagegen auf junge Kaninchen und weiße Mäuse.

Zu gleichen Resultaten wie wir sind auch in bezug auf weiße Mäuse Doerr und Russ gelangt.

Dieses Versuchsergebnis ist um so merkwürdiger, als es ja bekannt ist, daß man bei Kaninchen eine Serumüberempfindlichkeit erzeugen kann, und wir uns überzeugen konnten, daß auch weiße Mäuse anaphylaktisch werden können.

Gemeinsam ist beiden dieser Tierspecies, daß sie durch einmalige Behandlung mit Pferdeserum nicht überempfindlich werden, und daß nach wiederholten Injektionen nur ein kleiner Teil schwere Erscheinungen darbietet.

Ueber an Kaninchen ausgeführte Versuche zu berichten, ist überflüssig, da unsere Erfahrungen mit denjenigen anderer Autoren übereinstimmen. Nur über die entsprechenden Versuche an weißen Mäusen soll ausführlicher berichtet werden.

Nach einmaliger Injektion von Diphtherietoxin-Antitoxin oder von normalem Pferdeserum wurden weiße Mäuse nicht überempfindlich, und unsere Versuche bilden nur eine Bestätigung der Erfahrungen von Doerr, Frey und Trommsdorff. Durch wiederholte Injektionen ließ sich bei Mäusen eine Anaphylaxie erzeugen. Nur bei einem Teil der Versuchstiere äußerte sich diese in schweren Symptomen und endete mit dem Tode, bei einem großen Teil wurden nur vorübergehende Erscheinungen beobachtet, und manche Mäuse erwiesen sich völlig refraktär. Der Symptomenkomplex ähnelte dem beim Meerschweinchen und Kaninchen beschriebenen (Kratzen, Lähmungen, mühsame Atmung, Krämpfe. Bei der Sektion zeigen sich keine pathologischen Veränderungen. Das Blut ist gerinnbar). Das Nähere ist aus den Versuchsprotokollen zu ersehen.

Tabelle VII.

15 weiße Mäuse (14—20 g).

- 1) 22. IV. 1908. 1 ccm Pferdeserum subk.
- 2) 29. IV. 1908. 1 „ „ ip.

- 3a) 10. V. 1908. 5 von diesen Mäusen 1 ccm Pferdeserum ip.
 1 „ „ „ 1 „ „ „ subk.
 4^h 30' Injektion.
 4^h 50' eine Maus schwer krank.
 5^b liegt auf der Seite, moribund. Sekt.: ohne Befund
 5^b 20' zweite Maus krank, die übrigen 4 (darunter die
 subk. injizierte) munter.
 6^b Status idem.
11. V. 1908. Alle 5 überlebenden Mäuse munter.
- 3b) 11. V. 1908. 8 Mäuse von den am 22. IV. zuerst geimpften 11^b 5'
 1 ccm Pferdeserum ip.
 1 Maus 1 ccm Pferdeserum subk.
 nach 10' eine Maus schwer krank (14 g). Lähmung,
 Krämpfe, Tod.
 11^b 22' zweite Maus (16 g) schwer krank. Stirbt. Sektion
 bei beiden ohne Befund.
 11^{1/2} ^b dritte Maus krank. Erholt sich. 5 übrigen Mäuse
 keine auffälligen Erscheinungen.
12. V. 1908. Alle überlebenden 12 Mäuse munter.
- 4) 24. V. 1908. 5^b 12 Mäuse 1 ccm Pferdeserum ip.
 5^{1/2} ^b alle Mäuse machen krankhaften Eindruck.
 6^{1/2} ^b eine Maus moribund. Sektion ohne Befund.
 6^{3/4} ^b 3 Mäuse unwohl. Die übrigen erholen sich.
25. V. 1908. 11 Mäuse munter.
1. VI. 1908. 4^{1/2} ^b 1 ccm Pferdeserum ip.
 5^b 2 Mäuse: Lähmung, Krämpfe. Tod. Sektion ohne
 Befund (20 u. 22 g).
 3 Mäuse unwohl.
 3 Mäuse schwer krank (17 u. 19 g).
 4 große Mäuse (24—28 g). Keine Erscheinungen.
 6^b die schwer krank gewesenen Mäuse unwohl, die
 übrigen 7 munter.
14. VI. 1908. 5^b 9 Mäuse, 1 ccm Pferdeserum ip.
 5^b 20' 2 Mäuse, schwer krank (Lähmung, Krämpfe). Die
 übrigen machen krankhaften Eindruck.
 6^b 1 Maus tot.
 7^b alle anderen Mäuse erholt.
29. VI. 1908. 12^b 1 ccm Pferdeserum ip. Alle Mäuse krank.
 1^b 2 Mäuse tot. 1 Maus zeigt totale Lähmung der
 hinteren Extremitäten.
 4^b alle 6 Mäuse munter, nur beim vorerwähnten Tier
 hält der Zustand an.
30. VI. 1908. Die Maus noch immer gelähmt. Die übrigen Mäuse
 munter.
19. VII. 1908. 6^b 1 ccm Pferdeserum ip.
 6^{3/4} ^b 1 Maus tot. Alle übrigen krank.
 7^b alle Mäuse unwohl.

2. VIII. 1908. 6^{1/4}^h 1 ccm Pferdeserum ip.
 7^b krank 2 Mäuse. Ohne Erscheinungen 3 Mäuse.

Bei jeder Injektion sind als Kontrollen je 2 frische Mäuse mit 1 ccm des verwendeten Serums intraperitoneal injiziert worden.

Nachdem wir und Doerr und Russ festgestellt haben, daß es sich bei der Anaphylaxie um die Wirkung eines anti-körperartigen Körpers (Friedberger) handelt, läßt sich das Verhalten der Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse nur durch die Annahme erklären, daß die Verteilung und Lokalisation des eingeführten anaphylaktischen Reaktionskörpers bei den einzelnen Tierarten eine verschiedenartige ist: Beim Meerschweinchen ist das zentrale Nervensystem an der Aufnahme des Antikörpers im hohen Maße beteiligt, bei Kaninchen und Mäusen ist dies im geringeren Maße der Fall (Friedberger).

Von Behring, Ehrlich, Wassermann, Kretz usw. ist die Toxinüberempfindlichkeit auf sessile Rezeptoren zurückgeführt worden, und die Serumüberempfindlichkeit läßt wohl keine andere Deutung zu. Friedberger hat dies in seiner „Kritik der Theorien der Anaphylaxie“ des Näheren ausgeführt und durch eigene Untersuchungen bewiesen. Die Arbeit von Doerr und Russ und unsere Versuche bilden eine weitere Stütze dieser Theorie. Durch das Studium der Serumüberempfindlichkeit lernten wir aber, daß die im Blute kreisenden Rezeptoren auch von Zellen aufgenommen werden, welche an deren Produktion nicht beteiligt sind, und daß diese aufgenommenen Rezeptoren zum Bestande der Zelle werden. Wie könnte man sonst die passive Anaphylaxie erklären, und die Tatsache deuten, daß die Meerschweinchen vor dem Auftreten der Reaktionskörper im Blute nicht überempfindlich sind, ihre sessilen, aber nicht abgestoßenen, Rezeptoren also als Ursache der Anaphylaxie nicht angesehen werden können. In diesem Falle müßte ja die Ueberempfindlichkeit am stärksten ausgebildet sein unmittelbar vor dem Uebertritt der Rezeptoren ins Blut. Nicht der Antikörper, der in der Zelle neugebildet, sondern der von der Zelle aufgenommen wurde, ist die Ursache der Ueberempfindlichkeit. Durch die Aufnahme des Antikörpers wird allen Körperzellen die Fähigkeit der Reagierbarkeit mit dem Antigen gegeben.

4.

Wir gehen nun zur Besprechung der Frage über: Welches sind die Eigenschaften, und welches die Wirkungsweise des anaphylaktischen Reaktionskörpers. Zunächst wollen wir seine Eigenschaften beschreiben.

Die Tatsache, daß er nicht thermolabil ist, können wir bestätigen. In bezug auf seine Haltbarkeit verhält er sich anderen Antikörpern analog. Steril bei 0° aufbewahrtes anaphylaktisches Meerschweinchen- und Kaninchenserum war nach Monaten ebenso wirksam wie ein frisches.

Wie die anderen Antikörper wird auch derselbe mit der Globulinfraktion gefällt. Diesbezügliche Versuche brauchen wohl nicht ausführlich mitgeteilt zu werden.

Eine besondere Aufmerksamkeit bestrebten wir uns der Wirkungsweise des anaphylaktischen Reaktionskörpers zu schenken. Die wichtige Entdeckung der Inkubation bei der übertragenen Ueberempfindlichkeit (Otto, Friedemann, Anderson und Rosenau) bildete den Ausgangspunkt unserer Versuche.

Die verlangsamte Resorption von Unterhautzellgewebe, auf die in den Versuchen Ottos die Inkubation hätte zurückgeführt werden können, schalteten wir dadurch aus, daß wir präzipitierendes Meerschweinchen Serum in größerer Menge intravenös einführten. Ein diesbezüglicher Versuch ist in der folgenden Tabelle mitgeteilt.

Tabelle VIII.

1 Meerschweinchen, 300 g.	
12. II. 1909.	5 ^h 5 ccm anaphylakt. Meerschweinchen Serum iv. 6 ^h 35' Temperatur 35,6°.
15. II. 1909.	4 ^h 30' 37°.
	5 ^h 5 ccm Pferdeserum ip.
	5 ^h 10' Anaphylaxie.
	5 ^h 30' 34°.
	6 ^h keine Erscheinungen, 35,4°.
	7 ^h " " 37,5°.
2 Meerschweinchen, 300 g.	
12. II. 1909.	5 ^h 1/4 5 ccm anaphylaktisches Serum iv. 6 ^h 40' 37,2°.
	6 ^h 45' 5 ccm Pferdeserum ip.
	7 ^h 15' Unruhe, Kratzen, legt sich auf die Seite, 35,9°.
	7 ^h 35' krank, 35,7°.
	8 ^h 5' gesträubte Haare, sitzt ruhig, 36,4°.

3 Meerschweinchen, 300 g.

12. II. 1909. 5^{3/4}^h 5 ccm anaphylaktisches Serum iv.

8^{3/4}^h 37,2°.

3^{3/4}^h 5 ccm Pferdeserum ip.

7^h 30' keine Erscheinungen, 38°.

7^h 45' " " 38°.

8^h 5' " " 38°.

15. II. 1909. 4^h 40' 37,5°

5^h 5 ccm Pferdeserum ip.

5^h 35' keine Erscheinungen, 38°.

6^h " " 37,8°.

Aehnliches Resultat ergaben auch Versuche an 6 anderen Meerschweinchen.

Aus unseren Experimenten müssen wir schließen, daß die frei im Blute kreisenden Antikörper die Ueberempfindlichkeit nicht bedingen, sondern daß sie erst an die Organzellen gebunden werden müssen (Otto).

Nur einmal haben wir bereits 2 Stunden nach der Einverleibung des anaphylaktischen Serums durch intraperitoneale Pferdeseruminjektion Ueberempfindlichkeit auslösen können. Alle anderen Tiere, mit denen derartige Versuche angestellt wurden, verhielten sich wie die mit normalem Meerschweinchenserum intravenös vorbehandelten. Zum gleichen Resultat sind, unabhängig von uns, Doerr und Russ gelangt.

Es war auf Grund dieser Experimente naheliegend, zu untersuchen, ob sich bei überempfindlichen Tieren in den Organzellen Antikörper nachweisen lassen.

Zu diesem Zwecke wurden anaphylaktische Tiere aus der Carotis verblutet und die mit Kochsalzlösung ausgespülten Organe nach der von Wiechowski angegebenen Methode verarbeitet. Mit Extrakten aus Gehirn, Leber, Niere, Herz, Milz anaphylaktischer Tiere vorbehandelte Meerschweinchen erwiesen sich bei der 48 Stunden später erfolgten intraperitonealen Pferdeseruminjektion refraktär.

Auch durch Einverleibung der in Kochsalzlösung unlöslichen Organzellenbestandteile ließ sich Ueberempfindlichkeit nicht übertragen. Leber und Niere überempfindlicher wie normaler Tiere zeigten bei der intraperitonealen Injektion eine große Giftigkeit, die sich in einer starken peritonealen Reizung mit Schmerzhaftigkeit und Temperatursturz äußerte.

Das Gehirn wurde stets gut vertragen und ist zu unseren Versuchen frisch, mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben, verwendet worden.

Wir stellten auch Uebertragungsversuche mit Citratplasma überempfindlicher Tiere an, um zu prüfen, ob der im Serum vorhandene Reaktionskörper nicht vielleicht im Plasma in funktionstüchtiger Form enthalten ist, und die Inkubation dadurch bedingt ist, daß der Serumbestandteil erst im Blute aktiviert werden muß. Die Experimente fielen analog den Uebertragungsversuchen mit Serum aus. Auch nach intravenöser Injektion von Plasma bestand eine Inkubation.

Zuletzt soll über Versuche berichtet werden, die zur Beantwortung der Frage ausgeführt wurden, ob sich durch mehrmalige Vorbehandlung eine Vermehrung des anaphylaktischen Reaktionskörpers nachweisen läßt.

Diesbezügliche Versuche genau wiederzugeben erübrigt sich.

Es wurde die Menge des anaphylaktischen Serums bestimmt, welche bei intraperitonealer Einverleibung und der nach 48 Stunden erfolgten Reinjektion von 5 ccm Pferdeserum Ueberempfindlichkeit bedingt. Während vom Serum von Meerschweinchen, die einmal mit Toxin-Antitoxin injiziert wurden, gewöhnlich 3—5 ccm notwendig waren, ließ sich durch dreimalige Vorbehandlung mit 5 ccm Pferdeserum ein Serum gewinnen, das bereits in der Menge von 1 ccm Anaphylaxie übertrug. Solche Sera präzipitierten schwach. Wir konnten also eine Vermehrung feststellen.

Unabhängig von Doerr und Russ haben wir nachweisen können, daß im präzipitierenden Serum der anaphylaktische Reaktionskörper angehäuft ist.

Quantitative Untersuchungen darüber, ob dem Präzipitinhalt die Fähigkeit parallel geht, Anaphylaxie zu übertragen, wie dies Doerr und Russ taten, haben wir nicht angestellt, und halten uns daher nicht für berechtigt, die Präzipitine und die anaphylaktischen Reaktionskörper für identisch zu halten.

Zusammenfassung.

1) Das Diphtherietoxin wirkt auf die Antikörperproduktion begünstigend, und darin mag die Ursache liegen, daß mit Toxin-Antitoxin vorbehandelte Tiere schwerere Erscheinungen

darbieten als mit normalem Pferdeserum injizierte. Das Tetanustoxin hemmt die Entstehung der Anaphylaxie nicht, verhält sich gleich dem Diphtherietoxin.

2) Die anaphylaktischen Erscheinungen, die beim Meerschweinchen nervösen Charakters sind, werden von einer Temperatur- und Blutdrucksenkung begleitet. Toxische Eigenschaften wohnen weder dem Blute noch dem Gehirn und Nebennieren an Anaphylaxie verstorbener Tiere inne.

3) Nur auf Meerschweinchen läßt sich mit Meerschweinchen- und Kaninchenserum die Anaphylaxie regelmäßig übertragen. Nicht dagegen auf Kaninchen und weiße Mäuse.

4) Bei diesen läßt sich ebenso wie bei Kaninchen durch wiederholte Injektion eine Ueberempfindlichkeit erzeugen.

5) Der anaphylaktische Reaktionskörper zeigt analoge Eigenschaften wie das Präzipitin: Widerstandsfähigkeit gegenüber Temperatur, Lagerung, wird mit den Globulinen gefällt, läßt sich durch wiederholte Vorbehandlung in vermehrter Menge im Serum nachweisen. Durch Uebertragung lassen sich in den Organen sensibilisierter Tiere keine anaphylaktischen Antikörper nachweisen.

Auch bei intravenöser Injektion von anaphylaktischem Serum tritt die Ueberempfindlichkeit erst nach einer Inkubationsperiode auf. Das anaphylaktische Agens wirkt also nur durch Vermittlung des Organismus.

Nicht der Antikörper, der in der Zelle neugebildet, sondern der von der Zelle aufgenommen wurde, ist die Ursache der Ueberempfindlichkeit.

Literatur.

- Braun, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 37.
 — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 1909, Heft 6.
 Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, Heft 2; Bd. 3, Heft 7.
 — und Hartoch, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, Heft 6.
 Otto, v. Leuthold-Gedenschrift, Bd. 1, 1906.
 — Münch. med. Wochenschr., 1907.
 — Kolle-Wassermann, II. Erg.-Bd., Heft 2.
 Doerr, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 13.
 — und Raubitschek, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 33.
 — und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1909, Bd. 2, Heft 1; Bd. 3, Heft 2 und 7.

- Frey, Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankh.
in Bern, 1908, Heft 1.
Pfeiffer, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 1.
Trommsdorff, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 32, Heft 2.
Biedl und Kraus, Wiener klin. Wochenschr., 1909.
Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1893.
Friedemann, Münch. med. Wochenschr., 1907.
Wiechowski, Hofmeisters Beiträge, Bd. 9.
Uhlenhuth, Handbuch von Kraus-Levaditi.
Altmann, Centralbl. f. Bakt., Ref., 1908.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien;
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Ueber Bakterienanaphylaxie.

Dritte Mitteilung.

Von Prof. R. Kraus und Dr. Fürst S. Amiradžibi (Charkow).

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Dezember 1909.)

I.

Delanoë konnte die von Kraus und Doerr sowohl an aktiv als auch an passiv vorbehandelten Tieren nachgewiesene Spezifität der Bakterienanaphylaxie nicht bestätigen; er führt Versuche an, aus welchen hervorgeht, daß Meerschweinchen, die mit Tuberkelbacillen vorbehandelt sind, nach Reinjektion von Typhus, Coli, Paratyphusbacillen unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde gingen.

Es hat bereits Holobut in Fortsetzung der Versuche von Kraus und Doerr die von diesen Autoren festgestellten Tatsachen bestätigt und die Spezifität der Bakterienanaphylaxie konstatiert. Weitere Beweise in dieser Richtung bringen folgende Versuche.

Es wurden Meerschweinchen mit bei 70° durch 1 Stunde erhitzten Bakterien (Typhus, Coli, Cholera vibrio) durch 10 Tage mit $\frac{1}{100}$ ccm Agarkultur subkutan vorbehandelt und 14 Tage später mit erhitzten Kulturen reinjiziert.

1. Versuch: Meerschweinchen 475, vorbehandelt vom 1.—10. X. täglich mit $\frac{1}{100}$ Kultur B. Coli I abgetötet, am 25. X. Reinjektion intravenös 0,5 Coli I abgetötet, nach 10' Erscheinungen, erholt sich.

- Kontrolle: a) Gesundes Meerschweinchen 0,5 Coli I intravenös, keinerlei Erscheinungen.
 b) Meerschweinchen 486, vorbehandelt ebenso wie Meerschweinchen 475 mit Coli II vom 1.—10. X. am 25. X. Reinjektion mit 0,5 Coli I abgetötet intravenös, keine Erscheinungen.
2. Versuch: Meerschweinchen 469, vorbehandelt vom 1.—10. X. täglich mit $\frac{1}{100}$ ccm Kultur B. Coli III abgetötet, am 25. X. Reinjektion intravenös 0,25 Coli II abgetötet, sofort Erscheinungen, †.
- Kontrolle: a) Meerschweinchen 484, vorbehandelt mit Coli I, so wie 475, reinjiziert am 25. X. mit 0,25 Coli II, so wie 469 intravenös, keine Erscheinungen.
 b) Meerschweinchen 486, vorbehandelt mit Coli II wie 469, reinjiziert am 25. X. mit 0,5 Coli I intravenös, keine Erscheinungen.
 c) Meerschweinchen 476, vorbehandelt mit Coli II wie 469, am 25. X. mit 0,5 B. Flexner intravenös, keine Erscheinungen.
3. Versuch: Meerschweinchen 459, vorbehandelt vom 1.—10. X. täglich mit $\frac{1}{100}$ ccm Kultur B. typhi, abgetötet bei 70°, reinjiziert am 25. X. mit 1,0 Typhuskultur A, sofort Erscheinungen, †.
 Meerschweinchen 485 so wie 459 vorbehandelt am 25. X., reinjiziert mit 0,5 Typhuskultur B intravenös, sofort Erscheinungen, †.
- Kontrolle: Gesund. Mschw. 390, iv. 1,0 Kult. A, keine Erscheinungen
 „ „ 398, „ 1,0 „ B, dgl.
4. Versuch: Meerschweinchen, vorbehandelt vom 1.—10. X. täglich mit $\frac{1}{100}$ ccm Kultur V. cholerae, abgetötet am 25. X., reinjiziert mit 0,5 Kultur Choleravibrionen, abgetötet intravenös, sofort Erscheinungen, †.
- Kontrolle: Gesundes Meerschweinchen 462, intravenös 0,5 Kultur Choleravibrionen, keine Erscheinungen.
5. Versuch: Meerschweinchen 473, vorbehandelt vom 1.—10. X. täglich mit $\frac{1}{100}$ ccm Kultur B. Flexner, abgetötet am 25. X., reinjiziert mit 0,5 Kultur B. Flexner, abgetötet intravenös, sofort Erscheinungen.
- Kontrolle: a) Gesundes Meerschweinchen 487, intravenös 0,5 B. Flexner, keine Erscheinungen.
 b) Meerschweinchen 477, vorbehandelt wie 473 mit B. Flexner am 25. X., reinjiziert mit 0,5 Choleravibrionen intravenös, keine Erscheinungen.

Mit den Ergebnissen dieser Versuche ist wiederum die von Kraus und Doerr nachgewiesene Spezifität der Bakterienanaphylaxie mit aller Sicherheit bestätigt. Meerschweinchen, die mit einem Stamm B. Coli vorbehandelt sind, reagieren nur auf bestimmte Mengen des-

selben Stammes mit Erscheinungen der Anaphylaxie, während dieselbe Menge dieser Kultur bei gesunden oder andersartig vorbehandelten Meerschweinchen keine Erscheinungen auslöst. Die Spezifität zeigt sich auch darin, daß Tiere, mit einem bestimmten Colistamm vorbehandelt, nur auf die Reinjektion dieses Stammes reagieren, nicht aber auf einen anderen Stamm und umgekehrt. Es bestehen somit ganz ähnliche Verhältnisse wie sie von der Agglutination-Präzipitation her beim *Bact. coli* gekannt sind.

Auch die Versuche mit *B. typhi*, *V. cholerae* und *B. Flexner* ergaben, daß die mit diesen Bakterien vorbehandelten Tiere nur für diese Bakterienart bei der Reinjektion sich als empfindlich erweisen.

II.

Die passive Bakterienanaphylaxie ist bereits durch Kraus und Doerr nachgewiesen worden und auch neuere Versuche, die hier nicht wiedergegeben werden sollen, bringen eine diesbezügliche Bestätigung. Ob auch eine heterologe passive Uebertragung für die Bakterienanaphylaxie nachweisbar sei, wie sie seit Otto, Rosenau und Anderson u. a. für die Serumanaphylaxie bekannt ist, wurde bisher nicht gezeigt. Wir haben uns auch mit dieser Frage beschäftigt. Es zeigte sich hierbei, daß mit Serum vorbehandelter Kaninchen gesunde Meerschweinchen empfindlich gemacht werden können für die Bakterienarten, mit welchen die Kaninchen vorbehandelt waren.

Versuch.

Kaninchen 455 wird am 26. X., 4. XI., 9. XI., 13. XI., 19. XI. und 25. XI. mit steigenden Dosen 0,1—0,2—0,2—0,5—0,5—1,0 abgetöteter Typhusagarkultur vorbehandelt. Am 7. XII. wird das Tier entblutet und dessen Serum auf gesunde Meerschweinchen übertragen.

Meerschw. 433 perit. mit 3,0 Ser. Kan. 355, nach 24^h 0,5 Typhuskultur iv., sofort Erscheinungen.

Meerschw. 399 perit. mit 2,0 Ser. Kan. 455, nach 24^h 0,5 Typhuskultur iv., sofort Erscheinungen, †.

Kontrolle.

Meerschw. 569 perit. mit Ser. Kan. 455, nach 24^h iv. 0,5 *Coli* II, keine Erscheinungen.

Meerschw. 546 perit. mit Ser. Kan. 455, nach 24^h iv. 0,5 Chol.-Vibr., keine Erscheinungen.

Dieses Tier wird nach 24^h iv. mit 0,5 Typhuskultur injiziert, sofort Erscheinungen, †.

Zu ganz gleichen Ergebnissen sind wir auch mit dem Serum der Kaninchen 346, 447 gelangt, die auch mit Typhusbacillen vorbehandelt waren. Es läßt sich somit die Bakterienanaphylaxie auf Meerschweinchen nicht nur mit dem Serum derselben Tierart, sondern auch mit Serum anderer Tierarten, z. B. Kaninchen, passiv übertragen.

III.

Bis in die letzte Zeit galt als feststehend, daß das Gemenge: Serum aktiv sensibilisierter Tiere mit dem Antigen (i. e. Antisensibilisin, Sensibilisinogen), im gesunden Organismus keine Anaphylaxie hervorrufe. Allgemein wurde angenommen, daß die passive Anaphylaxie nur ausgelöst werden könne, wenn das Serum aktiv sensibilisierter Tiere dem gesunden Tier injiziert wird und erst nach einigen Stunden die Reinjektion des Antigens erfolgt. Die Versuche Friedemanns über Blutanaphylaxie und solche von Richet machten es wahrscheinlich, daß auch Gemische von Antikörper und Antigen giftig wirken können. Kraus und Biedl haben jüngst gezeigt, daß Serum vorbehandelter Meerschweinchen und Kaninchen, mit dem zugehörigen Antigen (Serum) gemischt und sofort injiziert, bei Meerschweinchen die Erscheinungen der Anaphylaxie auszulösen imstande ist. In Verfolgung der Frage, inwieweit die Bakterienanaphylaxie mit der genauer gekannten Serumanaphylaxie übereinstimmt, wurden auch nach dieser Richtung Versuche angestellt.

Versuch.

Das Serum des mit Typhusbacillen vorbehandelten Kaninchens 455 wird mit der bei 70° abgetöteten Agarkultur gemischt und sofort intravenös gesunden Meerschweinchen injiziert.

1,0 Ser. Kan. 455 + 0,5 Typhuskult. iv. M. 571	sofort Erscheinungen, †
1,0 " " 455 + 0,25 " " " 543	nach 5' Erscheinungen
0,5 " " 455 + 0,5 " " " 576	sofort Erschein., erholt sich
0,5 " " 455 + 0,25 " " " 594	dgl.
0,2 " " 455 + 0,5 " " " 561	keine Erscheinungen.

Kontrolle.

1,0 Ser. Kan. 455 + 0,5 Colikultur iv. M. 594	keine Erscheinungen.
1,0 " " 455 + 0,5 Cholerakult. " " 597	dgl.

Aus diesem Versuch kann geschlossen werden, daß auch Mischungen von Antikörper und Antigen schon giftig wirken können¹⁾. Aber so wie derartige Mischversuche bei der Serumanaphylaxie nicht mit jedem Serum vorbehandelter Tiere gelingen, so erwies sich ein Serum eines anderen Kaninchens, welches sich bei vorausgehender Injektion als wirksam erwies, im Mischungsversuch unwirksam. Interessant ist auch die Beobachtung, daß das wirksame Kaninchenserum (455) nach einem Monat seine Wirksamkeit im vitro-Versuch verloren hatte, wohl aber noch bei vorheriger Injektion sich als wirksam erwies. Es dürfte die von Kraus und Biedl bei der Serumanaphylaxie gemachte Annahme der Avidität des anaphylaktischen Reaktionskörpers auch für die Bakterienanaphylaxie Geltung haben.

Mit diesen hier mitgeteilten Versuchen ist die Analogie der Bakterienanaphylaxie mit der Serumanaphylaxie, die schon in der ersten Arbeit von Kraus und Doerr behauptet wurde, vollständig hergestellt. Die Bakterienanaphylaxie muß als eine analoge Form der Anaphylaxie wie die Serumanaphylaxie anerkannt werden.

Zusammenfassung.

1) Die Bakterienanaphylaxie ist ebenso spezifisch wie die Serumanaphylaxie und andere Antikörperreaktionen, z. B. Agglutination, Präzipitation.

2) Die Bakterienanaphylaxie läßt sich auf Meerschweinchen passiv übertragen, und zwar mit Serum derselben Tierart als auch mit Serum einer anderen Tierart.

3) Das Serum vorbehandelter Tiere kann unter Umständen schon in vitro mit dem Antigen reagieren, so daß die Injektion des Gemenges sofort Erscheinungen der Anaphylaxie auslöst.

Literatur.

Kraus und Doerr, Centralbl. f. Bakt., 1908.

Kraus und Biedl, Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, 1909.

— — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, 1909.

Holobut, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 1909.

1) Mag. pharm. Berger hat bei der Auswertung der Typhussera öfter beobachtet, daß im Mischversuch auf größere Dosen des Serums Tiere zugrunde gehen, bei kleineren Dosen aber am Leben bleiben.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien;
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Ueber Komplementabnahme bei den verschiedenen Formen der Anaphylaxie (Serum-, Bakterien-, Blut-, Pflanzenanaphylaxie) und über Einfluß normalen Serums auf den Komplementschwund.

Von Dr. Jusen Tsuru (Osaka).

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Dezember 1909.)

Es ist bekannt, daß bei der aktiven und passiven Anaphylaxie eine Komplementverarmung im Organismus auftritt. Noch nicht sicher entschieden ist aber, ob diese Abnahme des Komplementes als Folgeerscheinung oder Symptom der Ueberempfindlichkeit anzusehen ist oder ob sie bei der Anaphylaxie eine wichtige Rolle spielt.

Otto vertritt die Meinung, daß eine Komplementverankerung im Anschluß an die anaphylaktischen Erscheinungen nicht stattfindet. Sleeswijk behauptet aber, daß die Reinjektion bei aktiv anaphylaktischen Meerschweinchen eine Komplementverarmung im Organismus zur Folge hat. Diese Komplementabnahme bildet sich nach seinen Untersuchungen erst im Verlauf einer halben Stunde voll aus, nach 5 Minuten ist dieselbe noch nicht ausgesprochen. Daraus schließt Sleeswijk, daß Alexinverlust nicht die Vergiftungserscheinungen verursacht.

Friedberger und Hartoch haben jüngst eine ausführliche Mitteilung über diese Frage veröffentlicht. Sie konnten bei der aktiven und passiven Serumanaphylaxie eine konstante Komplementverarmung konstatieren, und zwar: bei der passiven Anaphylaxie ging die Abnahme in jedem Falle fast bis zum völligen Schwund; bei der aktiven Ueberempfindlichkeit war zwar auch eine konstante, aber eine weit geringere Komplementabnahme zu beobachten.

Aus der konstanten Verarmung des Komplementes bei der aktiven und passiven Anaphylaxie schließen Friedberger

und Hartoch auf einen gewissen ursächlichen Zusammenhang mit der Ueberempfindlichkeit. Diese Tatsache läßt sie vermuten, daß die Komplementabnahme eine ganz besondere Bedeutung für das Entstehen der Anaphylaxie hat, und daß die konstante Komplementverminderung in dem zirkulierenden Blut eine Verankerung des Komplementes an die sich bei der Anaphylaxie bildenden Eiweiß-Antieißverbindungen ist, und daß vielleicht das verankerte Komplement seinerseits erst den Vergiftungsprozeß auslöst.

Friedbergers Versuche beziehen sich nur auf die Anaphylaxie mit Serum erzeugt. Die passive Anaphylaxie haben Friedberger und Hartoch hauptsächlich mit heterologem Serum (Kaninchen) erzeugt. Auf Anregung des Herrn Prof. Kraus haben wir Versuche angestellt, die sich zunächst mit der Frage des Komplementschwundes bei aktiver Serumanaphylaxie bei Meerschweinchen und bei passiver homologer Serum-anaphylaxie beschäftigen. Anschließend an diese Versuche haben wir auch die anderen Formen der Anaphylaxie, wie Bakterien-, Blut- und Pflanzenanaphylaxie in dieser Richtung auf Komplementschwund untersucht.

Methodik.

Es wurde bei Meerschweinchen die Jugularis freigelegt, damit das zur Komplementtitration nötige Blut unmittelbar vor, sowie zu verschiedenen Zeiten nach der Reinjektion entnommen werden kann.

Die Entnahme des Blutes aus der Jugularis geschah in der Weise, daß dieselbe zentral abgeklemmt und peripher mit der Schere ein wenig eingeschnitten wurde.

Als Ambozeptor benützte ich ein inaktiviertes Kaninchen-Hammelblutserum. Der Ambozeptor wurde immer in 2-fach lösender Dosis verwendet; die Blutlösung bestand aus 3mal gewaschenem 5-proz. Hammelblut.

Die Komplementtitration geschah in der Regel binnen 5 Stunden nach der Blutentnahme.

Die Reinjektion der vorbehandelten Meerschweinchen erfolgte zum größten Teil intravenös (in die freigelegte Jugularis), teilweise auch intraperitoneal. Die Resultate der Versuche wurden nach einer Stunde bei 37 ° C abgelesen.

Versuche an aktiv mit Serum vorbehandelten Meerschweinchen.**I. Versuch.**

Eine Serie von Meerschweinchen wurde am 1. IX. mit je 0,1 ccm Pferdeserum subkutan injiziert, Reinjektion am 15. IX. (nach 15 Tagen).

Die erste Blutentnahme geschah unmittelbar vor der Reinjektion, die zweite zwischen 2' bis 38' nach der Reinjektion. Die Titration der Sera geschah nach der oben angegebenen Methode. Die Resultate der Komplementtitration sind nach 1 Stunde bei 37° abgelesen.

Tabelle I.
Komplementtitration am 15. IX. 1909.

Meerschw.- No.	Dosis der Reinjekt. (Pferde- serum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen					Symptome
			0,1	0,05	0,03	0,02	0,01	
798	0,5 ccm iv.	vor der Reinjektion 30' nach der „	k	k	k	k	Sp	keine Erschei- nungen
752	0,5 „ „	vor der Reinjektion 3' nach der „	k	k	k	k	p	typ. Erschei- nungen
720	0,5 „ „	vor der Reinjektion 2' nach der „	k	k	k	fk	p	typ. Erschei- nungen
725	0,25 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k	k	k	fk	P	ohne Erschei- nungen
724	0,25 „ „	vor der Reinjektion 3' nach der „	k	k	k	fk	Sp	typ. Erschei- nungen
743	2 „ „ ip.	vor der Reinjektion 38' nach der „	k	k	k	k	Sp	ohne besond. Erscheinung.
706	3 „ „	vor der Reinjektion 1 ^h nach der „	k	k	k	k	p	ohne besond. Erscheinung.
734	3 „ „	vor der Reinjektion 25' nach der „	k	k	fk	fk	ø	typische Er- scheinungen

iv. = intravenös, ip. = intraperitoneal, k = komplette Hämolyse, fk = fast komplette Hämolyse, P = großpartielle, p = kleinpartielle, Sp = Spürhämolyse.

Wie die Tabelle I zeigt, ist Komplementgehalt im Serum der Meerschweinchen bei der aktiven Serumanaphylaxie verschieden.

Ich konnte nicht, wie Friedberger, eine konstante Komplementabnahme beobachten. Während bei den Meerschweinchen No. 720, 724 (typische Erscheinung) eine minimale Komplementabnahme stattgefunden hat, zeigt Meerschweinchen No. 752, trotz der typischen Erscheinung, keine Komplementverarmung.

Dagegen konnte ich bei Meerschweinchen No. 725, 743, 706, bei welchen keine besonderen Erscheinungen zu sehen waren, auch eine minimale Komplementabnahme konstatieren.

II. Versuch.

Diese Serie von Meerschweinchen wurde am 27. IX. injiziert und hat für die Wertbestimmung des Diphtherieserums gedient. Die Blutentnahme geschah wie beim I. Versuch, Reinjektion des Pferdeserums am 2. XI. (nach 36 Tagen).

Tabelle II.
Komplementtitration am 22. XI.

Meerschw. No.	Dosis der Reinjekt. (Pferdeserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome	
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0		
935	5 ccm ip.	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	fk	Sp	ø	ø	ø	ø	typische Erscheinungen
		25' nach der „	k	k	k	k	k	p	ø	ø	ø	ø		
150	5 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø	dgl.
		14' nach der „	k	k	k	k	k	p	ø	ø	ø	ø		
277	5 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	k	fk	ø	ø	ø	ø	ohne besond. Erscheinung.
		30' nach der „	k	k	k	k	k	fk	fk	ø	ø	ø		
359	2 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	p	Sp	ø	ø	ø	ø	typ. Erscheinungen
		10' nach der „	k	k	k	k	k	p	Sp	ø	ø	ø		
341	3 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	p	Sp	ø	ø	ø	ø	typische Erscheinungen
		10' nach der „	k	k	fk	p	ø	ø	ø	ø	ø	ø		
483	1 ccm iv.	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø	ø	typ. Erscheinungen
		2' nach der „	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø		
437	0,5 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø	dgl.
		3' nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø		
384	4,0 ccm ip.	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	fk	ø	ø	ø	ø	ø	ohne besond. Erschein.
		25' nach der „	k	fk	p	Sp	ø	ø	ø	ø	ø	ø		
206	1 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	fk	Sp	ø	ø	ø	ø	dgl.
		20' nach der „	k	k	p	Sp	Sp	ø	ø	ø	ø	ø		
216	2 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø	ohne Erscheinungen
		30' nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø		

Dieser Versuch zeigt dasselbe Resultat wie die Tabelle I.

Meerschweinchen No. 359, 483, 437 zeigen trotz der typischen Erscheinung gar keine Komplementverarmung. Dagegen ist bei Meerschweinchen No. 277, 384, 206 (ohne besondere Erscheinungen) eine deutliche Komplementverarmung ersichtlich.

**Versuch an passiv vorbehandelten Meerschweinchen
(homologe passive Uebertragung).**

III. Versuch.

22. XI. Meerschweinchen No. 377, 397, 342, 459 erhielten je 2 ccm Serum des mit Pferdeserum aktiv sensibilisierten Meerschweinchens intraperitoneal.
22. XI. Meerschweinchen No. 292, 390, 384, 393 erhielten je 3 ccm Serum des mit Pferdeserum aktiv sensibilisierten Meerschweinchens intraperitoneal.
22. XI. Meerschweinchen No. 360 erhielt 2,5 ccm Serum des mit Pferdeserum aktiv sensibilisierten Meerschweinchens intraperitoneal.
22. XI. Meerschweinchen No. 398 erhielt 4 ccm Serum des mit Pferdeserum aktiv sensibilisierten Meerschweinchens intraperitoneal.
23. XI. Reinjektion des Pferdeserums.

Tabelle III.
Komplementtitration am 23. XI.

Meerschv. No.	Dosis der Reinjekt. (Pferdeserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0	
377	1 ccm iv.	vor der Reinjektion 3' nach der „	k k	k k	k k	k k	k k	fk fk	Sp Sp	ø ø	ø ø	ø ø	typ. Erscheinungen
292	1 „ „	vor der Reinjektion 2' nach der „	k k	k k	k k	k k	k fk	p Sp	ø ø	ø ø	ø ø	ø ø	typische Erscheinungen
397	1 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k k	k fk	k p	Sp ø	ø ø	ø ø	ø ø	ø ø	ziemliche Erscheinungen
342	1 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k k	k k	k fk	Sp Sp	Sp ø	ø ø	ø ø	ø ø	ohne besond. Erscheinung.
459	1 „ „	vor der Reinjektion 3' nach der „	k k	k k	k k	k k	k fk	p p	Sp ø	ø ø	ø ø	ø ø	typische Erscheinungen
390	1 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k k	k k	k k	Sp Sp	ø ø	ø ø	ø ø	ø ø	deutliche Erscheinung.
360	2 ccm ip.	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k p	k Sp	k ø	p ø	Sp ø	ø ø	ø ø	ø ø	ziemliche Erscheinungen
384	2 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k k	k k	k k	Sp Sp	ø ø	ø ø	ø ø	ø ø	Erscheinung
393	3 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k p	k Sp	k ø	p ø	ø ø	ø ø	ø ø	ø ø	ohne besond. Erschei.
398	3 „ „	vor der Reinjektion 30' nach der „	k k	k k	k k	k k	k k	Sp Sp	ø ø	ø ø	ø ø	ø ø	ohne besond. Erscheinung.

Wie schon früher erwähnt, behauptet Friedberger auf Grund seiner Untersuchungen, daß bei der passiven Anaphylaxie die Komplementabnahme fast bis zum völligen Schwund geht, während bei der aktiven Anaphylaxie zwar auch eine konstante, aber immer eine weit geringere Komplementverarmung stattfindet. Die Tabelle III läßt aber erkennen, daß bei der aktiven und der homologen passiven Anaphylaxie kein besonderer Unterschied, was den Komplementschwund anbelangt, zu konstatieren ist.

No. 377, 390, 384 (typische Erscheinung) weisen keine Verminderung des Komplementes auf. No. 342, 393 (ohne besondere Erscheinung) lassen eine ziemliche Komplementverarmung erkennen.

Wenn die Komplementabnahme in einem gewissen ursächlichen Zusammenhang mit der Entstehung der Anaphylaxie stehen dürfte, wie Friedberger vermutet, so muß immer die Komplementverarmung mit den anaphylaktischen Erscheinungen parallel gehen; das heißt: bei den typischen Erscheinungen muß eine deutliche Komplementverminderung stattfinden, während bei den Meerschweinchen, die keine besondere Erscheinung zeigen, entweder nur eine minimale oder gar keine Abnahme des Komplementes zu beobachten sein muß.

Das Resultat aus der Tabelle I und II (aktive Anaphylaxie), aus Tabelle III (homologe passive Anaphylaxie) und aus den weiteren Versuchen bestätigt aber das oben Gesagte nicht.

Beim III. Versuch habe ich zur passiven homologen Anaphylaxie Pferdeserum benützt. Um zu sehen, welche Resultate man bekommt, wenn noch andere Sera benützt werden, habe ich Rinder- und Schweineserum zur homologen passiven Anaphylaxie verwendet.

IV. Versuch.

- 26. X. Meerschweinchen No. 189, 307, 323 erhielten je 2 ccm Serum des mit Rinderserum sensibilisierten Meerschweinchens intraperitoneal.
- 27. X. Reinjektion des Rinderserums.
- 26. X. Meerschweinchen No. 321, 317, 313 erhielten je 2 ccm Serum des mit Schweineserum sensibilisierten Meerschweinchens.
- 27. X. Reinjektion des Schweineserums intravenös.

Tabelle IV.

Mschw. No.	Dosis der Reinjektion	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0	
189	0,5 ccm Rinderser. iv.	vor der Reinjekt. 1 ^h nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	ohne Erscheinungen
321	1,0 ccm Schweineser. iv.	vor der Reinjekt. 5' nach der „	k	k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	typische Erscheinungen
317	1,0 ccm Schweineser. iv.	vor der Reinjekt. 3' nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	dgl.
313	1,0 ccm Schweineser. iv.	vor der Reinjekt. 5' nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	typ. Erscheinungen
307	0,5 ccm Rinderser. iv.	vor der Reinjekt. 20' nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	Erscheinung
323	0,5 ccm Rinderser. iv.	vor der Reinjekt. 30' nach der „	k	k	k	k	k	k	θ	θ	θ	θ	ohne besond. Erscheinung.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, stimmen auch hier die Resultate mit denen der früheren Versuche überein.

Versuch an passiv vorbehandelten Meerschweinchen (heterologe passive Anaphylaxie.)

V. Versuch.

26. X. Meerschweinchen No. 311, 309, 305, 316 erhielten je 2 ccm Serum des mit Pferdeserum sensibilisierten Hundes intraperitoneal.
27. X. Reinjektion des Pferdeserums intravenös.

Tabelle V.
Komplementtitration am 27. X.

Meersch.-No.	Dosis der Reinjektion (Pferdeserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0	
311	1 ccm iv.	vor der Reinjektion 1 ^h nach der „	k	k	k	k	k	k	θ	θ	θ	θ	ohne Erscheinungen
309	1 ccm iv.	vor der Reinjektion 1 ^h nach der „	k	k	p	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	θ	ohne Erscheinungen
305	1 ccm iv.	vor der Reinjektion 1 ^h nach der „	k	k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	ohne Erscheinungen
316	1 ccm iv.	vor der Reinjektion 1 ^h nach der „	k	k	fk	p	p	θ	θ	θ	θ	θ	dgl.

Merkwürdig ist die Tatsache, daß bei Meerschweinchen No. 309, 316 schon vor der Reinjektion eine ziemlich deutliche Komplementverarmung zu beobachten ist. Die Erklärung dieser Tatsache erfolgt aus den weiteren Versuchen.

VI. Versuch.

- 19. X. Meerschweinchen No. 234 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeserum vorbehandelten Kaninchens No. 126 intraperitoneal; nach 24 Stunden:
- 20. X. Reinjektion von Hundeserum intravenös.
- 19. X. Meerschweinchen No. 166 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeserum vorbehandelten Kaninchens No. 186 intraperitoneal.
- 20. X. Reinjektion des Hundeserums.
- 19. X. Meerschweinchen No. 240 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeserum vorbehandelten Kaninchens No. 124 intraperitoneal.
- 20. X. Reinjektion des Hundeserums.
- 19. X. Meerschweinchen No. 243 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeserum vorbehandelten Kaninchens No. 152 intraperitoneal.
- 20. X. Reinjektion des Hundeserums.
- 19. X. Meerschweinchen No. 242 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeserum vorbehandelten Kaninchens No. 142 intraperitoneal.
- 20. X. Reinjektion des Hundeserums.
- 20. X. Meerschweinchen No. 227 erhielt 1 ccm des normalen Hundeserums intravenös. Kontrolle.

Tabelle VI.
Komplementtitration am 20. X.

Meerschw.-No.	Dosis der Reinjektion (Hundeserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen									Symptome		
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005		0	
234	1 ccm iv.	vor der Reinjektion	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	typische Erscheinungen
		3' nach der „	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	
166	3 ccm ip.	vor der Reinjektion	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	ohne besond. Erscheinung.
		30' nach der „	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	
240	2 ccm ip.	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	p	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	dgl.
		30' nach der „	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	
243	1 ccm iv.	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	p	Sp	⊕	⊕	⊕	⊕	typische Erscheinungen
		3' nach der „	p	Sp	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	
242	2 ccm ip.	vor der Reinjektion	p	p	Sp	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	ohne Erscheinungen
		30' nach der „	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	
227	1 ccm iv.	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	fk	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	dgl.
		30' nach der „	k	fk	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	

Eine so deutliche Komplementabnahme wie in diesen Versuchen konnte ich bei den früheren nicht feststellen.

Meerschweinchen No. 234 und 166 weisen schon vor der Reinjektion eine völlige Komplementverminderung auf, ohne daß dieselbe mit der Anaphylaxie einen Zusammenhang hat.

Der Grund dieser Komplementverminderung ist in dem vorher injizierten Kaninchenserum (vorbehandelt mit Hundeserum) zu suchen.

Meerschweinchen 240 und 243 lassen vor der Reinjektion fast keine Abnahme des Komplementes erkennen, während nach der Reinjektion eine sehr deutliche Komplementverminderung zu sehen ist. Die Ursache dieser Erscheinung kann zweierlei sein:

1) entweder haben wir hier einen Zusammenhang mit der Anaphylaxie vor uns, oder

2) es hat das reinjizierte Hundeserum eine komplementvermindernde Kraft sich.

Welche dieser beiden Vermutungen richtig ist, zeigt No. 227 (Kontrolltier). Hier sieht man ganz klar, daß Hundeserum wirklich eine komplementvermindernde Kraft besitzt.

Kontrollversuch (Kaninchen vorbehandelt mit Hundeblood, Reinjektion mit Hundeserum).

VII. Versuch.

- 24. X. Meerschweinchen No. 311 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeblood sensibilisierten Kaninchens No. 126 intraperitoneal.
- 26. X. Reinjektion Hundeserum.
- 24. X. Meerschweinchen No. 314 erhielt 1 ccm Serum des mit Hundeblood sensibilisierten Kaninchens No. 126 intraperitoneal.
- 26. X. Reinjektion Hundeserum.
- 24. X. Meerschweinchen No. 319 erhielt 2 ccm Serum des mit Hundeblood vorbehandelten Kaninchens No. 152 intraperitoneal.
- 26. X. Reinjektion Hundeserum.
- 24. X. Meerschweinchen No. 306 erhielt 1 ccm Serum des mit Hundeblood vorbehandelten Kaninchens No. 152 intraperitoneal.
- 26. X. Reinjektion Hundeblood.
- 24. X. Meerschweinchen No. 360 erhielt 1 ccm Serum des mit Hundeserum vorbehandelten Kaninchens No. 142.
- 26. X. Reinjektion Hundeserum.

Tabelle VII.

Meerschw. No.	Dosis der Reinjekt. (Hundeserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome				
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0					
311	2 ccm ip.	vor der Reinjektion 1 ^a nach der „	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ohne Erscheinungen
314	2 „ „	vor der Reinjektion 1 ^a nach der „	k	k	p	Sp	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	dgl.
319	2 „ „	vor der Reinjektion 1 ^a nach der „	k	k	k	k	k	p	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	dgl.
306	2 „ „	vor der Reinjektion 1 ^a nach der „	k	k	k	k	k	fk	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	dgl.
360	1,5 „ „	vor der Reinjektion	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	dgl.
		30' nach der „	k	k	k	k	k	k	Sp	ø	ø	ø	ø	ø	ø	ø	

Bei diesem Versuch habe ich das mit Hundeblood sensibilisierte Kaninchenserum benützt und ein ähnliches Resultat, wie beim Versuch VI, erzielt. Die Tiere hatten keine Erscheinungen der Anaphylaxie. Weiter muß hervorgehoben werden, daß die komplementvermindernde Kraft des Hundeserums nicht eine konstante ist, obwohl Ausnahmen nur sehr selten vorkommen.

Beim Versuch VI und VII habe ich eine völlige Verminderung des Komplementes beobachtet.

Bei den früheren Versuchen (aktive und homologe passive Anaphylaxie) war eine so deutliche Komplementabnahme nicht nachweisbar.

Früher schon habe ich erwähnt, daß Normalhundeserum allein eine komplementvermindernde Kraft besitzt.

Um über diese Tatsache Klarheit zu haben, habe ich eine Reihe von Versuchen unternommen.

Normalhundeserum bei gesunden Meerschweinchen.

VIII. Versuch.

17. XI. Meerschweinchen No. 446, 258, 321 erhielten je 0,4—0,5 ccm des normalen Hundeserums intravenös.
18. XI. Meerschweinchen No. 381, 375, 150, 420 erhielten je 1 ccm des normalen Hundeserums intravenös.

Tabelle VIII.
Komplementtitration am 17.—18. XI.

Mschw. No.	Dosis der Injektion (Hundeserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0	
381	1 ccm iv.	vor der Injektion 1 ^h nach der Injekt.	k	k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	ohne besond. Erscheinung.
			k	fk	p	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
375	1 „ „	vor der Injektion 1 ^h nach der Injekt.	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	θ	dgl.
			k	k	fk	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
150	1 „ „	vor der Injektion 1 ^h nach der Injekt.	k	k	k	k	fk	Sp	θ	θ	θ	θ	dgl.
			fk	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
420	1 „ „	vor der Injektion 1 ^h nach der Injekt.	k	k	k	k	fk	Sp	θ	θ	θ	θ	dgl.
			k	fk	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
446	0,5 „ „	vor der Injektion 20' nach der Injekt.	k	k	k	k	fk	θ	θ	θ	θ	θ	krank
			k	k	p	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
258	0,5 „ „	vor der Injektion 30' nach der Injekt.	k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	θ	dgl.
			k	k	fk	fk	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
321	0,4 „ „	vor der Injektion 30' nach der Injekt.	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	θ	
			k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	θ	

Es zeigt sich, daß in allen Fällen die Abnahme des Komplementes nach der Injektion eine ganz beträchtliche ist.

Normalkaninchenserum bei gesunden Meerschweinchen.

IX. Versuch.

20. XI. Meerschweinchen No. 423, 445, 236, 245 erhielten je 0,4—1 ccm des normalen Kaninchensersums.

Tabelle IX.
Komplementtitration am 20. XI.

Mschw. No.	Dosis der Injektion (Normalkaninchenserum)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	0,005	0	
423	0,5 ccm iv.	vor der Injektion 2' nach der Injekt.	k	k	k	k	k	fk	p	θ	θ	θ	schwere Erscheinungen
			k	p	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
445	1 „ „	vor der Injektion 2' nach der Injekt.	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	θ	dgl.
			k	fk	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
236	0,4 „ „	vor der Injektion 30' nach der Injekt.	k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	θ	krank
			k	k	fk	fk	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
245	0,4 „ „	vor der Injektion 30' nach der Injekt.	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	θ	θ	ohne besond. Erscheinung.
			k	k	k	k	p	θ	θ	θ	θ	θ	

Auch hier kann man, wie bei dem Versuch VIII, eine sehr deutliche Verarmung an Komplement nach der Injektion beobachten. Diese deutliche Abnahme ist nicht konstant, es kommen auch zum Teil Ausnahmen vor.

Aktive Blutanaphylaxie.

X. Versuch.

- 13. X. Meerschweinchen No. 438, 441, 442 erhielten je 0,1 ccm des gewaschenen Schweineblutes subkutan.
- 18. XI. Reinjektion von 0,5 ccm der gewaschenen Schweineblutaufschwemmung (1 Schweineblut + 3 Aq. dest.).

Tabelle X.
Komplementtitration am 18. XI.

Mschw. No.	Dosis der Reinjektion (Schweineblut)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen							Symptome	
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01		0,007
438	0,5 ccm (1 Schweineblut + 3 Aq. dest.) iv.	vor der Reinjekt. 3' nach der „	— k	— k	k k	k k	k k	k k	Sp θ	θ θ	typische Erscheinungen
441	0,5 ccm (1 Schweineblut + 3 Aq. dest.) iv.	vor der Reinjekt. 30' nach der „	— k	— k	k k	k k	k k	θ θ	θ θ	θ θ	keine Ersch.
442	0,5 ccm (1 Schweineblut + 3 Aq. dest.) iv.	vor der Reinjekt. 30' nach der „	— k	— k	k k	k k	k k	θ θ	θ θ	θ θ	Erscheinung

Bei der aktiven Blutanaphylaxie ist nach der Reinjektion fast keine Komplementverminderung nachweisbar.

Passive Blutanaphylaxie an gesunden Meerschweinchen (heterologe passive Blutanaphylaxie).

XI. Versuch.

- 26. X. Meerschweinchen No. 323, 234 erhielten 2 ccm Serum des mit gewaschenem Hammelblute vorbehandelten Kaninchens (intra-peritoneal).
- 27. X. Reinjektion von 1 ccm der gewaschenen Hammelblutaufschwemmung (1 ccm Hammelblut + 3 ccm Aq. dest.).
- 28. X. Meerschweinchen No. 275, 150, 935 erhielten 2 ccm Serum des mit gewaschenem Hammelblute vorbehandelten Kaninchens (intra-peritoneal).

29. X. Reinjektion von 1 ccm der gewaschenen Hammelblutaufschwemmung (1 ccm Hammelblut + 3 ccm Aq. dest.).
28. X. Meerschweinchen No. 321 erhielt 1 ccm Serum des mit gewaschenem Hammelblute vorbehandelten Kaninchens (intraperitoneal).
29. X. Reinjektion.
29. X. Meerschweinchen No. 329 erhielt 1 ccm Serum des mit gewaschenem Hammelblute vorbehandelten Kaninchens (intravenös).
Ohne Reinjektion. Kontrolle.

Tabelle XI.

Mschw. No.	Dosis der Reinjektion (Hammelblut)	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen							Symptome	
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01		0,007
323	0,5 ccm (1 Hammelblut + 3 Aq. dest.) iv.	vor der Reinjekt. 5' nach der „	k θ	k θ	k θ	p θ	fk θ	fk θ	θ θ	θ θ	typische Erscheinungen
234	1 ccm (1 Hammelblut + 3 Aq. dest.) iv.	vor der Reinjekt. 3' nach der „	θ θ	θ θ	θ θ	θ θ	θ θ	θ θ	θ θ	θ θ	dgl.
275	1 ccm (1 Hammelblut + 3 Aq. dest.) iv.	3' nach der Reinjektion	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	dgl.
150	0,5 ccm (1 Hammelblut + 3 Aq. dest.) iv.	4' nach der Reinjektion	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	dgl.
935	0,5 ccm (1 Hammelblut + 3 Aq. dest.) iv.	45' nach der Reinjektion	k	fk	Sp	θ	θ	θ	θ	θ	ohne Erscheinungen
321	0,5 ccm (1 Hammelblut + 3 Aq. dest.) iv.	3' nach der Reinjektion	k	k	k	k	k	fk	θ	θ	typische Erscheinungen
329	1 ccm Kaninchenserum (vorbehand. mit Hammelblut) iv.	30' nach der Reinjektion	k	fk	p	θ	θ	θ	θ	θ	krank

Meerschweinchen No. 323 zeigt schon vor der Reinjektion eine deutliche Verarmung des Komplementes. Bei No. 234 haben wir eine völlige Komplementabnahme vor der Reinjektion. Daraus kann man vermuten, daß dem Kaninchenserum (vorbehandelt mit Hammelblut) eine komplementvermindernde Kraft zukommt. Daß diese Vermutung tatsächlich zutrifft,

erkennt man bei No. 329. Dieses Meerschweinchen zeigt schon 30 Minuten nach der Injektion eine sehr deutliche Abnahme des Komplementes. Bei Meerschweinchen No. 275, 150, 935, 321 war es mir aus äußeren Gründen nicht möglich, vor der Reinjektion eine Blutentnahme zu machen.

Friedberger glaubt, daß die Anaphylaxie in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Verarmung des Komplementes steht.

Wenn diese Behauptung richtig ist, so muß die Abnahme des Komplements bei der aktiven und bei der homologen und heterologen passiven Anaphylaxie ganz gleich sein. Aus meinen Untersuchungen geht aber hervor, daß die Komplementabnahme bei der aktiven und homologen passiven Anaphylaxie ganz gering war, während bei der heterologen passiven Anaphylaxie eine sehr große Abnahme des Komplementes zu finden ist.

Versuch an gesunden Meerschweinchen bei homologer passiver Bakterienanaphylaxie.

XII. Versuch.

- 29. XI. Meerschweinchen No. 445, 476 erhielten je 2 ccm Serum des mit Coli (Kind) vorbehandelten Meerschweinchens intraperitoneal.
- 30. XI. Reinjektion von je 0,5 ccm der Coli-(Kind)Aufschwemmung (1 Agarröhrchen + 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalsodalösung).
- 29. XI. Meerschweinchen No. 437, 448 erhielten je 2 ccm Serum des mit Coli II vorbehandelten Meerschweinchens intraperitoneal.
- 30. XI. Reinjektion von je 0,5 ccm der abgetöteten Coli-II-Aufschwemmung. (1 Agarröhrchen + 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalsodalösung).
- 29. XI. Meerschweinchen No. 481 erhielt 2 ccm Serum des mit Typhus (Conradi) vorbehandelten Meerschweinchens intraperitoneal.
- 30. XI. Reinjektion von je 0,5 ccm der Coli-(Kind)Aufschwemmung (1 Agarröhrchen + 10 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsodalösung).
- 29. XI. Meerschweinchen No. 403, 392 erhielten je 2 ccm Serum des mit Cholera vorbehandelten Meerschweinchens intraperitoneal.
- 30. XI. Reinjektion Choleraaufschwemmung.
- 29. XI. Meerschweinchen No. 390, 398 erhielten 2 ccm Serum des mit Dysenterie (Flexner) vorbehandelten Meerschweinchens intraperitoneal.
- 30. XI. Reinjektion Dysenterie-(Flexner)Aufschwemmung.

Tabelle XII.

Mschw. No.	Dosis der Reinjektion	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen							Symptome	
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01		0,007
445	0,5 ccm intrav.	10' nach d. Reinj.	k	k	k	k	k	p	Sp	θ	typ. Ersch.
476	0,5 " "	10' " " "	k	k	k	k	fk	p	Sp	θ	" "
437	0,5 " "	1 ^b " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	ohne Ersch.
448	0,5 " "	30' " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	Erscheinung.
481	0,5 " "	1 ^b " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	ohne Ersch.
403	0,5 " "	2' " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	θ	typ. Ersch.
392	0,5 " "	3' " " "	k	k	k	k	k	fk	Sp	θ	" "
390	0,5 " "	1 ^b " " "	k	k	k	k	k	k	p	θ	ohne Ersch.
398	0,5 " "	" " "	k	k	k	k	fk	Sp	θ	θ	" "

In Uebereinstimmung mit der homologen passiven Serum-anaphylaxie sieht man auch bei diesem Versuch keine deutliche Verminderung des Komplementes nach der Reinjektion. Es wurde bei diesen Untersuchungen keine Blutentnahme vor der Reinjektion gemacht. Man kann also nicht ganz genau sagen, wie sich das Komplement vor der Reinjektion verhält. Auf Grund früher gemachter Versuche, aus welchen sich eine gewisse Konstanz des Komplementgehaltes normaler Tiere ergibt, kann man die Vermutung aufzustellen, daß das Komplement hier ebenfalls keine deutliche Abnahme erfährt. Wie in früheren Versuchen, so stehen auch hier die anaphylaktischen Symptome mit der Komplementverarmung in gar keinem Zusammenhang.

Versuche an gesunden Meerschweinchen bei heterologer passiver Bakterienanaphylaxie.

XIII. Versuch.

- 18. XI. Meerschweinchen No. 77 erhielt 1 ccm Serum des mit Typhus vorbehandelten Kaninchens intraperitoneal.
- 18. XI. Meerschweinchen No. 258 erhielt 2 ccm Serum des mit Typhus vorbehandelten Kaninchens intraperitoneal.
- 18. XI. Meerschweinchen No. 382 erhielt 3 ccm Serum des mit Typhus vorbehandelten Kaninchens intraperitoneal.
- 18. XI. Meerschweinchen No. 326 erhielt 4 ccm Serum des mit Typhus vorbehandelten Kaninchens intraperitoneal.
- 18. XI. Meerschweinchen No. 440 erhielt 5 ccm Serum des mit Typhus vorbehandelten Kaninchens intraperitoneal.

19. XI. Reinjektion von je 1 ccm der abgetöteten Typhusaufschwemmung
(1 Typhusagarröhrchen + 10 ccm $\frac{1}{10}$ n-Sodalösung).

Tabelle XIII.

Meerschw. No.	Dosis der Reinjekt.	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen							Symptome	
			0,1	0,07	0,65	0,04	0,03	0,02	0,01		0,007
77	1 ccm iv.	30' nach der Reinjekt.	k	k	k	k	k	Sp	θ	θ	ohne Ersch.
258	1 " "	30' " " "	k	k	k	k	k	p	θ	θ	dgl.
382	1 " "	7' " " "	k	k	fk	θ	θ	θ	θ	θ	typ. Ersch.
326	1 " "	30' " " "	k	fk	p	θ	θ	θ	θ	θ	ohne Ersch.
440	1 " "	30' " " "	fk	p	θ	θ	θ	θ	θ	θ	dgl.

Ähnlich wie bei der heterologen passiven Serum- und heterologen passiven Blutanaphylaxie, kann man auch bei der heterologen passiven Bakterienanaphylaxie eine deutliche Komplementverarmung nach der Reinjektion nachweisen.

Im Vergleich mit der erwähnten heterologen passiven Serum- und heterologen passiven Blutanaphylaxie sehen wir bei diesem Versuche auch eine Verarmung des Komplementes. Die Abnahme des Komplementes ist aber auch bei Tieren ohne Erscheinung der Anaphylaxie festzustellen.

Die Abnahme desselben ist aber eine große, wenn man diesen Versuch mit der homologen passiven Bakterienanaphylaxie vergleicht.

Die Komplementabnahme ist von der Quantität des injizierten Serums abhängig.

Versuch über aktive pflanzliche Anaphylaxie an Meerschweinchen.

In der letzten Zeit hat Kollege Dr. Karasawa unter Leitung des Herrn Prof. Kraus die pflanzliche Anaphylaxie studiert. Resultate, die er bei diesen Untersuchungen erzielt hat, wird er in kurzer Zeit veröffentlichen.

Pflanzenanaphylaxie.**XIV. Versuch.****Tabelle XIV.****Komplementtitration am 9. XI.**

Meerschw. No.	Dosis der Reinjekt.	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen								Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,007	
197	0,5 ccm iv.	3' nach der Reinjekt.	k	k	k	k	k	p	ϕ	ϕ	typ. Ersch.
260	1 " "	30' " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	ϕ	Erscheinung
198	1 " "	30' " " "	k	k	k	k	k	fk	Sp	ϕ	ohne Ersch.
125	1 " "	3' " " "	k	k	k	k	k	fk	ϕ	ϕ	typ. Ersch.
126	0,5 " "	20' " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	ϕ	ohne Ersch.
128	1 " "	2' " " "	k	k	k	k	k	k	Sp	ϕ	typ. Ersch.
127	1 " "	" " "	k	k	k	k	k	k	Sp	ϕ	ohne Ersch.

Gleich wie bei der aktiven Serum- und aktiven Blut-anaphylaxie habe ich auch bei diesem Versuch keine deutliche Abnahme des Komplementes beobachtet.

Zusammenfassung.

1) Die Komplementabnahme bei der aktiven und passiven Serum-, Blut-, Bakterien-, Pflanzenanaphylaxie ist nicht konstant.

2) Wenn die Verminderung des Komplementes in einem gewissen ursächlichen Zusammenhang mit der Anaphylaxie stehen sollte, so müßte die Abnahme immer konstant sein und parallel mit den anaphylaktischen Symptomen gehen. Wie aus meinen Versuchen hervorgeht, ist das nicht der Fall.

3) Bei der aktiven und homologen passiven Anaphylaxie ist die Komplementverarmung immer ganz gering, dagegen sehr deutlich bei der heterologen passiven Anaphylaxie. Die Ursache dieser deutlichen Abnahme des Komplementes dürfte in dem verwendeten Heteroserum zu suchen sein.

4) Normale Hunde- (und Kaninchen-)Sera erzeugen bei gesunden Tieren deutliche Komplementabnahme.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin.]

Der Einfluß der Reaktion auf die spezifische Hämolyse.
Zweite Mitteilung.

Von **Leonor Michaelis** und **Peter Skwirsky**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Dezember 1909.)

Wir zeigten, daß bei saurer Reaktion die Hämolyse gehemmt wird¹⁾, und daß diese Hemmung durch das Ausbleiben der Komplementbindung erklärt wird, während der Ambozeptor voll gebunden wird. Zunächst möchten wir ergänzend mitteilen, daß diese Hemmung, wenigstens durch das Phosphatgemisch „Y^s“, auch dann bestehen bleibt, wenn man, bei gleicher Komplementmenge, mit einem beliebig großen Ueberschuß an Ambozeptor arbeitet (s. Tabelle I).

Tabelle I.

Phosphatgemisch je 1,0 ccm Nach 2 Stunden bei Bruttemperatur und 24 Stunden Fisschrank. $\frac{Na_1}{Na_2} =$	k = komplette Hämolyse, 0 = keine Hämolyse.						
	Y ^s	Y ^r	Y ^g	Y ^f	Y ^t	Y ^z	Y ^h
1) Ambozeptor 6-fach Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5, 5% Blutk. 0,5	0	0	unvollk. Häm.	k	k	k	k
2) Ambozeptor 15-fach L. D. 0,5 Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5	0	0	k	k	k	k	k
3) Ambozeptor 30-fach 0,5 Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5	0	0	k	k	k	k	k
4) Ambozeptor 45-fach L. D. 0,5 Blutk. 0,5, Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5	0	0	k	k			
5) Ambozeptor 60-fach 0,5 Blutk. 0,5, Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5	0	etwas					
6) Ambozeptor 75-fach 0,5 Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5	0	etwas					
7) Ambozeptor 90-fach 0,5 Komplement ($\frac{1}{16}$) 0,5	0	etwas					

1) L. Michaelis und P. Skwirsky, Diese Zeitschrift, Bd. 4, 1909, p. 357.

Was nun die Komplementmengen betrifft, so zeigte es sich, daß man sie bei gleichbleibender Ambozeptordosis bis zu einem gewissem Grade steigern kann, ohne daß die Hemmung aufgehoben wird. Bei größerem Ueberschuß von Komplement kommt es schließlich zur Bindung und zu einer gewissen hämolytischen Wirkung, wie folgende Tabelle es zeigt.

Tabelle II.

je 1 ccm $\frac{Na_1}{Na_2} =$	$\frac{1}{1^6}$	$\frac{1}{1^2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
1) Komplement ($\frac{1}{10}$) 0,5 Amboz. 5-fach, Gesamtv. 3,0	0	0	unvollk. Häm.	k	k	k	k	k	k
2) Doppelte Kompl.-Menge Amboz. 5-fach, Gesamtv. 3,0	0	Spur Häm.	k	k	k				
3) Dreifache Kompl.-Menge Amboz. 5-fach, Gesamtv. 3,0	Spur gelöst	k	k						

Diese Tatsache mag zum Teil dadurch erklärt werden, daß eine Steigerung der Komplementmenge stets eine merkliche Steigerung der in dem Gemisch vorhandenen Serummenge hervorbringt, wodurch die Reaktion etwas alkalischer ausfällt, als dem Phosphatgemisch entspricht. Bei den von uns angewandten starken Ambozeptoren dagegen sind auch bei höchstem Ueberschuß die dadurch in das Gemisch hineingebrachten Serummengen fast verschwindend.

Es befinden sich nun bei solch absoluter Hemmung, wie sie besonders durch das Phosphatgemisch „ $\frac{1}{1^6}$ “ zustande kommt, beliebig stark sensibilisierte Blutkörperchen aufgeschwemmt in einer komplementhaltigen Flüssigkeit, ohne daß das Komplement sich bindet. Die Bedingungen sind also ähnlich denen bei den Kältentrennungsversuchen von Ehrlich und Morgenroth¹⁾. Es erwies sich aber bekanntlich, daß die Hemmung der Komplementbindung, wie sie durch Kälte hervorgebracht wird, nicht immer eine absolute war. Es tritt dabei in manchen Fällen, besonders aber bei längerem Verweilen oder Schwankung der Temperatur oberhalb des Gefrierpunktes um nur wenige Grade, entweder partielle Hämolyse ein, oder aber es kommt zu einem Zustande, wo das ganze

1) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1899—1901 (6 Mitteilungen).

Hämolysin, Ambozeptor und Komplement, gebunden sind, ohne daß zunächst bei den ungünstigen Bedingungen Hämolyse eintritt. (S. 1. Mitteilung.)

Ferner hatte Hans Sachs¹⁾ es als wahrscheinlich hingestellt, daß im gut gelungenen Kältetrennungsversuch die Trennung nicht zwischen Ambozeptor und Komplement, sondern zwischen Mittelstück und Endstück des Komplementes eintrete.

Unsere Beobachtungen sind nun folgende.

Wenn bei saurer Reaktion ($1\frac{6}{7}$) Blutkörperchen mit Ambozeptor und Komplement versetzt werden, so bindet sich der Ambozeptor an die Blutkörperchen, das Komplement bleibt aber ungebunden in Lösung. Das letztere haben wir so nachgewiesen, daß wir die ungelösten mit 3- bis 6-fachem Ambozeptor beladenen Blutkörperchen abzentrifugierten, den Abguß — nach Neutralisation — mit sensibilisierten Blutkörperchen versetzten, und dann komplette Hämolyse eintreten sahen. Es zeigte sich nun aber manchmal unter Bedingungen, die wir anfangs noch nicht genau erkannten, daß das Komplement in der Flüssigkeit nicht vollkommen wiedergefunden wurde. Zunächst konnte man die Vermutung haben, daß in solchen Fällen das Komplement einfach zu einem Teil gebunden war, jedoch fand sich weiterhin diese Vermutung nicht bestätigt, wie wir sogleich sehen werden. Diejenige Bedingung, von der es abhängt, ob wir das Komplement im Abguß ganz oder nicht ganz wiederfinden, ist, wie wir jetzt feststellen können, die Menge des angewandten Ambozeptors. Arbeitet man mit wenig Ambozeptor, so findet sich das ganze Komplement im Abguß wieder, bei größeren Ambozeptormengen hat die überstehende Flüssigkeit überhaupt keine Komplementwirkung. In einem solchen Falle findet sich das Komplement auch nicht an die Blutkörperchen gebunden, denn wenn man diese abzentrifugiert und in 0,85-proz. ClNa-Lösung aufschwemmt, so tritt, ungeachtet der großen Ambozeptormengen, mit denen solche Blutkörperchen beladen sind, keine Hämolyse ein. Das Komplement scheint also spurlos verschwunden zu sein. Wenn man aber in einem ebensolchen Gemische von Blutkörperchen, Ambozeptor, Komplement und saurem

1) Hans Sachs in Kraus-Levaditi, Handbuch.

Phosphatgemisch ($\frac{1}{16}$) nach beliebig langer Zeit die saure Reaktion aufhebt, so tritt schnell und kräftig Hämolyse ein: das Komplement ist also in Wahrheit keineswegs verschwunden, sondern in zwei qualitativ verschiedene Teile gespalten worden, von denen der eine im Abguß, der andere in den Blutkörperchen enthalten ist.

Versuchsordnung.

Es werden in einer Reihe Zentrifugengläschen Blutkörperchen mit steigenden Mengen von Ambozeptor, gleichen Komplement- und Phosphatmengen ($\frac{1}{16}$) versetzt, eine Stunde lang im Brutschrank stehen gelassen, oft geschüttelt — um dadurch etwa die Bindung der großen Ambozeptordosen zu begünstigen — und alsdann zentrifugiert. Die Abgüsse werden nun, nach Aufhebung der sauren Reaktion durch Zugabe des umgekehrten Phosphatgemisches ($\frac{1}{16}$) [oder — was noch sicherer ist — des reinen sekundären Phosphates ($\frac{1}{2}$ norm.)] mit vorher sensibilisierten Blutkörperchen versetzt, bis 2 Stunden bei Bruttemperatur unter häufigem Schütteln stehen gelassen und nun nachgesehen, ob Hämolyse eintritt. Die Bodensätze (Blutkörperchen) werden in 0,85-proz. ClNa-Lösung aufgeschwemmt und gleichfalls bei Bruttemperatur die etwa eintretende Hämolyse abgewartet.

Versuch I.

	A	B
$\frac{Na_1}{Na_2} =$	$\frac{1}{16}$ 1,0 ccm	$\frac{1}{16}$ 1,0 ccm
	Ambozeptor 60-fach 0,5 ccm Komplement 0,5 „ 5-proz. Blutkörperchen 0,5 „	Ambozeptor 6-fach 0,5 ccm Komplement 0,5 „ Blutkörperchen 0,5 „
	1 Stunde bei 37°, häufig (ca. 4mal) stark geschüttelt. Dann zentrifugiert.	
	1) Abguß + $\frac{1}{16}$ 1,0 ccm + 6-fach sensibilisierte Blutkörperchen 2 Stunden bei 37°. Resultat: keine Hämolyse 2) Bodensatz in 0,85-proz. ClNa-Lösung Resultat: keine Hämolyse	1) Abguß + $\frac{1}{16}$ 1,0 ccm + 6-fach sensibilisierte Blutkörperchen 2 Stunden bei 37°. Resultat: komplette Lös. 2) Bodensatz in 0,85-proz. ClNa-Lösung Resultat: keine Hämolyse

Versuch II.

	A	B	C	D
$\frac{Na_1}{Na_2} =$	$\frac{1}{2}$ 1,0	$\frac{1}{2}$ 1,0	$\frac{1}{2}$ 1,0	$\frac{1}{2}$ 1,0
	Ambozeptor 50-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{2}$) 0,5 5 % Blutk. 0,5 Nach 1 Stunde das umgekehrte Phosphatge- misch ($\frac{1}{8}$) 1,0 ccm zugesetzt Nach 20 Min. kompl. Hämolyse	Ambozeptor 50-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{2}$) 0,5 Blutk. 0,5 Nach 1 Stunde zentrifugiert 1) Abguß + 1,0 ccm $\frac{1}{8}$ + 4-fach sensibilis. Blut- körperchen Resultat: Keine Hämolyse 2) Bodensatz in 0,85 ClNa auf- geschwemmt. Resultat: Keine Hämolyse.	Ambozeptor 4-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{2}$) 0,5 Blutk. 0,5 Nach 1 Stunde zentrifugiert 1) Abguß + 1,0 ccm $\frac{1}{8}$ + 4-fach sensibilis. Blut- körperchen Resultat: Kom- plette Lösung 2) Bodensatz in ClNa bleibt un- gelöst.	Ambozeptor 4-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{2}$) 0,5 Blutk. 0,5 Nach 1 Stunde das umgekehrte Phosphatge- misch ($\frac{1}{8}$) 1,0 ccm zugesetzt Nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunde kompl. Hämolyse.

Versuch III siehe p. 634/35.

Aus diesen Versuchen läßt sich nun folgender Schluß ziehen. Bei Gegenwart von viel Ambozeptor wie bei saurer Reaktion das Komplement in zwei qualitativ verschiedene Komponenten gespalten, von denen jede einzelne auch bei günstiger Reaktion des Mediums ohne Komplementwirkung ist, während beide zusammen die Wirkung entfalten, die man dem „Komplement“ zuschreibt. Es handelt sich hier offenbar um dieselbe Trennung des Komplements in zwei Komponenten, die schon Ferrata¹⁾ im Morgenrothschen Laboratorium durch Dialyse, H. Sachs²⁾ durch Salzsäure, außerdem durch Kälteversuche, Liefmann³⁾ durch Einleiten von CO₂ in das Serum erreicht haben. Bei saurer Reaktion wird nach unseren Ver-

1) Ferrata, Berl. klin. Wochenschr., 1907, p. 366.

2) H. Sachs und Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16 bis 19.

3) Liefmann, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 41.

Versuch III.

	1	2	3	4	5
$\frac{Na_1}{Na_2} =$	$\frac{1}{5}$ 1,0	$\frac{1}{5}$ 1,0	$\frac{1}{5}$ 1,0	$\frac{1}{5}$ 1,0	$\frac{1}{5}$ 1,0
	Ambozeptor 3 $\frac{1}{9}$ -fach 0,5 Kopl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 10-fach 0,5 Kopl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 15-fach 0,5 Kopl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 20-fach 0,5 Kopl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 25-fach 0,5 Kopl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5
	1 Stunde bei Bruttemperatur,				
	1) Abguß + 1,0 Na ₃ Phosphat + 4-fach sensibilis. Blutk. Resultat: Kopl. Hämolyse (nach 1 $\frac{1}{4}$ Std.)	1) Abguß + 1,0 Na ₃ Phosphat + 4-fach sensibilis. Blutk. Resultat: Kopl. Hämolyse	1) Abguß + 1,0 Na ₃ Phosphat + 4-fach sensibilis. Blutk. Resultat: Kopl. Hämolyse	1) Abguß + 1,0 Na ₃ Phosphat + 4-fach sensibilis. Blutk. Resultat: Kopl. Hämolyse (nach 1 Std.)	1) Abguß + 1,0 Na ₃ Phosphat + 4-fach sensibilis. Blutk. Resultat: Kopl. Hämolyse
	2) Bodensatz (auf- geschwemmt in der entsprechen- den Menge 0,85 % ClNa-Lösg.) ungelöst	2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst

suchen das „Endstück“¹⁾ überhaupt nicht gebunden, während das „Mittelstück“ um so besser gebunden wird, je mehr Ambozeptor zugesetzt ist.

Bei der Beurteilung dieser Versuche ist noch folgendes zu bedenken. Diejenigen Abgüsse, die von Gemischen mit 45–75-fachen Ambozeptordosen stammen, enthalten, wie uns einige darauf angestellte Versuche zeigten, oft noch genügend ungebundenen Ambozeptor, um auch bei Zusatz nicht sensibilisierter Blutkörperchen, bei Anwesenheit einer gewöhnlichen Komplementmenge, hämolytisch zu wirken. Dieser Umstand wäre höchstens dazu angetan, dem von uns beobachteten Spaltungseffekt scheinbar entgegen zu wirken; denn die sensibilisierten Blutkörperchen, die als Reagens auf ganzes Komplement benutzt wurden, sind bei Berücksichtigung dieses Umstandes noch stärker sensibilisiert als wir annehmen, also nach den Versuchen von Morgenroth und Sachs²⁾ gegen Komplement noch empfindlicher, und bleiben trotzdem ungelöst.

1) Erwin Brand, Ueber das Verhalten des Komplements bei der Dialyse. Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.

2) Morgenroth und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 35.

Versuch III.

6	7	8	9	10
ψ 1,0	ψ 1,0	ψ 1,0	ψ 1,0	ψ 1,0
Ambozeptor 30-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 35-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,0	Ambozeptor 40-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 45-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5	Ambozeptor 50-fach 0,5 Kompl. ($\frac{1}{10}$) 0,5 Blutk. 0,5
häufig geschüttelt, zentrifugiert.				
1) Abguß + 1,0 Na ₂ + 4-fach sensibilis. Blutk.	1) Abguß + 1,0 Na ₂ + 4-fach sensibilis. Blutk.	1) Abguß + 1,0 Na ₂ + 4-fach sensibilis. Blutk.	1) Abguß + 1,0 Na ₂ + 4-fach sensibilis. Blutk.	1) Abguß + 1,0 Na ₂ Phosphat + 4-fach sensibilis. Blutk.
Resultat: Keine Hämolyse.	Resultat: Keine Hämolyse.	Resultat: Keine Hämolyse	Resultat: Keine Hämolyse	Resultat: Keine Hämolyse
2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst	2) Bodensatz un- gelöst

Zusammenfassung.

Bei saurer Reaktion wird das Endstück des Komplements von sensibilisierten Blutkörperchen überhaupt nicht gebunden, wohl aber das Mittelstück, vorausgesetzt, daß die Blutkörperchen mit einem großen Ueberschuß an Ambozeptor sensibilisiert sind.

Die Behandlung von Komplement mit stark sensibilisierten Blutkörperchen bei saurer Reaktion stellt also eine einfache Methode zur Gewinnung von reinem Endstück dar, während die abzentrifugierten Blutkörperchen mit Ambozeptor und Mittelstück beladen sind und daher ein Reagens auf freies Endstück darstellen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Weitere Untersuchungen über Eiweißanaphylaxie.

IV. Mitteilung.

Von **E. Friedberger.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Dezember 1909.)

I. Das Anaphylaxiegift („Anaphylatoxin“).

Daß die Anaphylaxie nach ihrem ganzen Symptomenkomplex eine Vergiftung darstellt, dürfte wohl allgemein anerkannt sein. Nach der auf Grund der zahlreichen in der Literatur bis dahin niedergelegten Tatsachen von mir in meiner ersten Mitteilung¹⁾ aufgestellten Theorie handelt es sich dabei um Wechselwirkungen zwischen dem zur Reinjektion benutzten Eiweißkörper und dem infolge der Vorbehandlung gebildeten Antikörper (Antieiweißkörper). Diese finden entsprechend der von Kretz, Wassermann etc. für die Toxinüberempfindlichkeit vertretenen Anschauungen an den Zellen statt. Meine Theorie hat in neuester Zeit durch die Untersuchungen von Doerr und Russ, Braun, Scott, H. Pfeiffer und durch eigene Befunde eine weitere wesentliche Stütze erfahren.

Wir konnten dann weiter zeigen, daß bei diesen Wechselwirkungen zwischen Eiweiß und Antieiweiß auch eine Komplementverankerung eintritt, die bei der aktiven Anaphylaxie freilich häufig nur sehr gering ist und nur mit exakter, quantitativer Methode, aber dann doch regelmäßig, sich nachweisen läßt²⁾. Daß diese Komplementverankerung mit

1) Diese Zeitschrift, Bd. 2, Heft 5.

2) Das ergeben auch die Resultate der Versuche von Doerr und Russ beim Hund, die von Joachim bei der Taube und neuere Versuche, die unter meiner Leitung Burckhardt bei anaphylaktischen Kaninchen und Meerschweinchen ausgeführt hat. Die Versuche, die unter den verschiedensten Bedingungen angestellt wurden, zeigen wieder mit absoluter Konstanz das Verschwinden des Komplementes bei der Reinjektion von

der Anaphylaxie in ursächlichem Zusammenhang steht, wurde dadurch sehr wahrscheinlich gemacht, daß Mittel, welche eine Komplementverankerung auch *in vitro* zu verhüten imstande sind (konzentrierte Salzlösungen), zugleich den Ausbruch der Anaphylaxie hintanhaltend können.

Wenn tatsächlich das Zusammenwirken dieser drei Komponenten nötig war, um im Tierkörper die so ungemein charakteristischen Erscheinungen der Anaphylaxie hervorzurufen, so war es zu erwarten, daß, wie es Friedemann schon für die Blutkörperchenanaphylaxie gezeigt hat, auch bei der Eiweißanaphylaxie (trotz der hier negativen Resultate dieses Autors) im Reagenzglas das Zusammenwirken dieser drei Komponenten jenes Gift erzeugt, das dann im Organismus wiederum die bekannten Symptome hervorzurufen imstande ist. Damit wäre zugleich der Beweis für die essentielle Rolle, die das Komplement bei der Anaphylaxie spielt, endgiltig geliefert. In der Tat konnte ich bereits in meiner III. Mitteilung über entsprechende Versuche kurz berichten. Ich schrieb damals (l. c. p. 702 u. 703): „Durch Zusatz von frischem Normalmeerschweinchenserum zu sorgfältig gewaschenem Präzipitat wird in einigen Stunden so viel Gift gebildet, daß das abzentrifugierte vom Präzipitat völlig befreite, artgleiche (!) Serum beim normalen Meerschweinchen schwere anaphylaktische Erscheinungen erzeugt.“ Diese Versuche sind nun weiter fortgesetzt und ausgebaut worden. Ueber die Resultate soll im nachstehenden zunächst berichtet werden.

Es wäre das einfachste gewesen, entsprechend den im Tierkörper obwaltenden Verhältnissen, die zur Bildung des Giftes notwendigen drei Komponenten, nämlich Eiweiß, Antieiß und komplementhaltiges Normalserum gemischt *in vitro* anzusetzen und dann nach gewisser Zeit die über dem Präzipitat befindliche Flüssigkeit auf ihren Giftgehalt an normalen Tieren zu prüfen. Einer derartigen Versuchsanordnung, wie sie im Anfang in der Tat von mir wiederholt angewandt wurde, stand jedoch eine Reihe von Bedenken entgegen. Als präzipitierendes Serum wäre hier Kaninchenserum in Betracht

kleinen, sonst indifferenten Antigenmengen. Es ist das ein ebenso regelmäßiges Symptom wie die Blutdrucksenkung (Biedl und Kraus, Friedberger, Braun) oder wie der Temperatursturz (H. Pfeiffer).

gekommen. Nun ist aber schon das normale Kaninchenserum in größeren Dosen an sich für das Meerschweinchen keineswegs indifferent, während präzipitierendes Serum unter Umständen bereits allein, namentlich bei intravenöser Zufuhr, Anaphylaxie auslösen kann, Verhältnisse, auf die ich in einem weiteren Teile dieser Arbeit noch ausführlicher zurückkommen muß. Ferner macht in einem solchen Falle auch noch der Eiweißgehalt des als Antigen benutzten Serums seine störende Wirkung geltend. Für mich war also a priori der Ueberschuß an dem Eiweiß des artfremden Antigens sowohl wie des entsprechenden Antiserums unnötig, und ich brauchte nur diejenigen Anteile der beiden Komponenten, die bereits miteinander in Reaktion getreten waren, was in der wahrnehmbaren Bildung eines Präzipitats zum Ausdruck kommt. Deshalb mischte ich zunächst nur Eiweiß und Antieweiß in vitro, zentrifugierte nach reichlicher Präzipitatbildung und versetzte das zunächst mehrmals gewaschene und so von allem anhaftenden Kaninchen- und Hammeleiweiß befreite Präzipitat mit dem Komplementserum. Nach in den einzelnen Versuchen verschieden langem Kontakt zwischen den beiden Komponenten, wobei für eine gründliche Aufschwemmung des Präzipitats im Komplementserum Sorge getragen wurde, wurde nochmals zentrifugiert und die obenhängende Flüssigkeit zur Auswertung ihrer giftigen Wirkung normalen Meerschweinchen intravenös injiziert.

Als Antigen diente in allen meinen Versuchen mit wenigen Ausnahmen normales Hammelserum, als Antikörper homologes präzipitierendes Kaninchenserum, als Komplement Meerschweinchenserum. Die Injektion des Giftes geschah stets zentralwärts in die Vena jugularis, und zwar ausschließlich bei Meerschweinchen.

Es handelte sich also bei der von mir gewählten Versuchsanordnung nur um die Injektion von durch sorgfältiges Zentrifugieren auch von den letzten Resten des Präzipitats völlig befreiten Serum derselben Species, das normal nach zahlreichen Kontrollversuchen völlig indifferent war.

Gleichwohl wirkte also dieses Serum nach Kontakt mit Präzipitat, wie bereits in der vorhergehenden Arbeit kurz erwähnt wurde, toxisch und löste typische, anaphylaktische Symptome aus. Als Träger dieser Giftwirkung sei, zunächst rein

hypothetisch, ein besonderer Körper angenommen, der im nachstehenden als „Anaphylatoxin“ bezeichnet werden mag.

In der früheren Arbeit hatte ich ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Symptome zwar qualitativ mit denen bei der schwersten Anaphylaxie identisch waren, aber doch nicht die gleiche Intensität zeigten. Durch entsprechende Steigerung der Präzipitinmenge, vor allem aber durch Injektion größerer Mengen dieses „Anaphylatoxins“ ist es jedoch nunmehr so gut wie regelmäßig möglich, den akuten Tod an Anaphylaxie innerhalb weniger Minuten herbeizuführen. Obwohl es sich dabei, wie bereits erwähnt, um die Injektion des artgleichen Serums handelte, so habe ich es doch für nötig gefunden, durch zahlreiche Kontrollen festzustellen, daß die von mir verwandten Mengen normalen Meerschweinchenserums an sich auch bei kleinen Tieren keine Symptome hervorrufen.

Im nachstehenden folgen einige entsprechende Kontrollversuche.

Es wurde bei diesen, wie überhaupt in allen Versuchen, nicht nur auf sichtbare Symptome geachtet, sondern vor allem auch die Temperaturmessung im Rectum vorgenommen.

Auf den Temperaturfall als ein wesentliches Symptom hat bekanntlich H. Pfeiffer zuerst aufmerksam gemacht. Wie auch Braun bereits erwähnt hat und wie ich hier ausdrücklich betonen will, bewährt sich der Temperatursturz bei Anaphylaxiearbeiten als ein unbedingt zuverlässiges objektives¹⁾ Phänomen zur Beurteilung der Anaphylaxie auf das beste. Der physiologische Temperatursturz, wie er beim Kontrollmeerschweinchen durch die Injektion von normalem Serum eintritt, ist wenigstens für die bei uns in Betracht kommenden kleinen Mengen Hammelserum sehr gering, so daß man auch die von Pfeiffer vorgeschlagene Inaktivierung sehr wohl entbehren kann, wenn man nur das Serum vorher auf Körpertemperatur erwärmt und eine lange Fesselung des Meerschweinchens und

1) Wir benutzten zur Messung ein stumpfwinkelig abgeknicktes Thermometer, das natürlich stets bis zur gleichen Stelle ins Rectum eingeführt wurde, aber wohl weniger tief als in den Versuchen von H. Pfeiffer, worauf die absoluten Temperaturdifferenzen zurückzuführen sind.

Blutverluste bei der intravenösen Injektion vermeiden. Bei der von uns angewandten Methode dauert aber die Fesselung höchstens 3—4 Minuten¹⁾ und ein Blutverlust findet bei der von mir angewandten Technik²⁾ nur äußerst selten statt.

Im nachstehenden folgen nun die Kontrollversuche, welche zeigen, daß die Injektion des artgleichen Serums auch in großen Mengen selbst bei kleinen Meerschweinchen keine Symptome und keinen Temperatursturz im Gefolge hat.

I. Versuch (Kontrolltier).

11. XI. 1^h 17 Meerschweinchen 240 g, erhält intravenös 4,0 normales Meerschweinchenserum. Tier bleibt völlig munter und zeigt im weiteren Verlauf keinerlei Symptome.

Temperaturen

vor der Injektion		37,8
nach der Injektion	1 ^h 19	36,0
	3 ^h	37,2
	4 ^h 25	37,6
	6 ^h 45	38,2
	9 ^h 15	37,9
	nach 24 Std.	37,7

Wir haben also, abgesehen von dem durch die Fesselung bedingten geringen Temperaturabfall unmittelbar nach der Injektion nicht nur keinen weiteren Temperatursturz, sondern im Gegenteil vielleicht eine geringe Steigerung der Temperatur infolge der Injektion des artgleichen Serums.

II. Versuch (Kontrolltier).

Meerschweinchen No. 315, 230 g, Normaltemperatur 38,4.

10. XII. 6^h 5,0 normales Meerschweinchenserum intravenös.

6^h 30 Tier ist völlig munter, Temperatur 36,8.

Weitere Messungen haben nicht stattgefunden, Tier bleibt am Leben.

Aber selbst von ganz jungen Tieren wird die Injektion von 5,0 normalen Meerschweinchenserums ohne Schaden vertragen, wie folgender Versuch zeigt.

1) Ich bediente mich dabei eines neuen, vom Institutsmechaniker Herrn Uhlig nach meinen Angaben konstruierten, für Halsoperationen beim Meerschweinchen sehr zweckmäßigen Kopfhalters, der von F. u. M. Lautenschläger in Berlin zu beziehen ist.

2) Es ist namentlich darauf zu achten, daß bei der Einspritzung in die Vena jugularis die Einstichstelle oberhalb des großen Seitenastes liegt, oder daß dieser vorher abgebunden wird.

III. Versuch (Kontrolltier).

Meerschweinchen No. 391, 190 g.

24. XII. 11^h 30 5,0 normales Meerschweinchenserum intravenös, keinerlei Symptome.

11^h 40 Temperatur 36,0.

12^h 15 Temperatur 36,2, Tier bleibt am Leben.

Derartige Versuche wurden sowohl noch mit frischem als auch bis zu 24 Stunden altem normalen Meerschweinchenserum wiederholt angestellt, stets mit demselben Resultat. Ganz anders aber gestaltete sich das Ergebnis, wenn das Meerschweinchenserum vorher mit einem aus Hammelserum und Antihammelserum gewonnenen Präzipitat in Kontakt gewesen war.

IV. Versuch.

Als präzipitierendes Serum wurde das Serum des Kaninchens No. 4 benutzt. Dieses Tier war vorbehandelt worden am 16. IX. mit 5,0 Hammelserum intravenös. Am 13. X. mit 2,0 do.

Am 20. X. entblutet. Das Serum ergibt mit Hammelserumverdünnung 1:1000 in der Kälte sofort starkes Präzipitat, mit 1:10 000 schwaches Präzipitat.

27. X. abends. 1 ccm Serum des mit Hammelserum gespritzten Kaninchens No. 4 + 30 ccm Hammelserum 1:50 kommen eine Stunde in den Brutschrank, dann über Nacht in Eisschranktemperatur. Das durch Zentrifugieren gewonnene, ziemlich reichliche Präzipitat wird zweimal mit großen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen; die Hälfte wird mit 2,0 normalen Meerschweinchenserums versetzt. Nach stärkerem Schütteln bleibt die Suspension 12 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen. Danach wird zentrifugiert und das obenstehende Meerschweinchenserum einem Normalmeerschweinchen No. 141, 320 g schwer, injiziert.

28. X. 1^h 20 Injektion, Temperatur vorher 38,4. Sofort nach der Injektion erscheint das Tier deutlich krank, zittert und sitzt mit gesträubtem Fell schwer atmend da.

1^h 40 Temperatur 36,3.

4^h 30 Temperatur 30,9. Das Tier ist schwer krank.

7^h Tier liegt auf der Seite, Temperatur 28,6. Am folgenden Tage tot.

Aus diesem Versuch ergibt sich also unverkennbar eine Giftwirkung des normalen Meerschweinchenserums, das trotz der geringen Mengen, die injiziert wurden, nach dem Kontakt mit dem Präzipitat schwere toxische Erscheinungen hervorrief.

42*

In analoger Weise verlief ein Versuch, bei dem das gesamte Präzipitat mit 2,0 normalen Meerschweinchenserums digeriert wurde.

V. Versuch.

29. X. Abends 13 ccm Serum, Kaninchen 4 (vorbehandelt mit Hammelserum) + 150 ccm Hammelserum 1:50, Behandlung wie vorher. Das Präzipitat wird jedoch nur 2 Std. mit 2,0 normalen Meerschweinchenserums in Kontakt gelassen; dann wird zentrifugiert.
30. X. 3^b 37 Der Abguß von normalem Meerschweinchenserum wird Meerschweinchen Nr. 241, 250 g schwer, intravenös injiziert, Temperatur vorher 39,1.
- 3^b 38 Tier schwer krank, sitzt mit gestäubtem Felle, kratzt sich, atmet sehr schwer.
- 3^b 45 Zittern am ganzen Körper, Schüttelfröste.
- 3^b 50 Zustand unverändert, Temperatur 35,9.
- 4^b 00 vereinzelte Krämpfe. Auf den Rücken gelegt, bleibt das Tier liegen.
- 4^b 20 Der Gang ist unsicher und taumelnd, Hinterbeine gelähmt.
- 5^b 30 Temperatur 33°. Stirbt in der Nacht.

Bei diesem Versuch wurde zugleich die Giftwirkung des Präzipitats untersucht, dessen Giftigkeit in Uebereinstimmung mit den Resultaten der Versuche von Doerr und Russ auch von uns beobachtet werden konnte.

30. X. Meerschweinchen No. 143, 270 g, erhält 4^b 15 das gesamte, fein verteilte, vorher gewaschene Präzipitat, in 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt intravenös.
- 4^b 15 Injektion. Temperatur vorher 38,9°.
- 4^b 16 Tier schnuppert, sitzt mit gestäubtem Fell, kratzt sich.
- 4^b 20 Das Tier taumelt, senkt den Kopf auf den Tisch, atmet schwer, auf den Rücken gelegt, bleibt es liegen.
- 4^b 30 Temperatur 34°.
- 4^b 35 Tier liegt mit vollständig abduzierten Beinen gelähmt.
- 4^b 45 Krämpfe.
- 4^b 47 Tier legt sich auf die Seite, vereinzelte agonale Atemzüge.
- 4^b 50 Reflexe erloschen.]
- 4^b 52 tot.

VI. Versuch.

In ganz analoger Weise mit Versuch V verlief ein Versuch, bei dem an Stelle des Hammelserums und des Antihammelserums vom Kaninchen Hühnerserum als Antigen und Antihühnerserum verwandt wurde. Das zu diesem Zweck benutzte Antiserum stammte vom Kaninchen Z. 1, das wie folgt behandelt war.

- 2. VIII. 0,5 Hühnerserum intravenös
 - 6. VIII. 1,0 " "
 - 9. VIII. 1,0 intraperitoneal
 - 13. VIII. 1,0 "
 - 9. X. 1,0 intravenös
 - 16. X. 1,0 "
 - 23. X. Blutentnahme.
- Präzipitation mit Hühnerserum bis 1:10000, sofort positiv.
- 29. X. 10,0 Serum des Kaninchens Z. 1 + 100 ccm Hühnerserum 1:50 angesetzt. Das wie gewöhnlich gewonnene und gewaschene Präzipitat wird mit 1,5 normalen Meerschweinchenserums versetzt. Nach 12 Stunden Aufenthalt bei Eisschranktemperatur und weiteren 4 Stunden bei Zimmertemperatur wird zentrifugiert, das obestehende Serum wird einem Meerschweinchen von 250 g intravenös injiziert.
 - 30. X. 2^a 46 Injektion, Temperatur vorher 37°. Das Tier wird deutlich krank, kratzt sich, sträubt das Fell, ist zittert, aber sichtlich weniger leidend, als das vorhergehende, 3^b Temperatur 36,3. Tier bleibt am Leben.

Eine stärkere Wirkung zeigt sich wieder im folgenden Versuch mit Hammelserum und Antihammel-Kaninchenserum.

VII. Versuch.

Das in diesem Versuch benutzte Antikaninchenserum 101 stammte von einem Tier, das, wie folgt, behandelt war.

- 24. VII. 1,5 Hammelserum intravenös.
- 13. VIII. 2,0 " "
- 23. X. 2,0 " "
- 29. X. Tier entblutet, Titer annähernd wie beim vorherigen Tier.
- 4. XI. p. m. 20 ccm Serum des Kaninchens 101 + 200 ccm Hammelserum $\frac{1}{100}$ kommen eine Stunde in Temperatur von 37°, dann über Nacht in Eisschranktemperatur. $\frac{3}{4}$ des Bodensatzes wird nach Behandlung wie seither mit 4,0 normalen Meerschweinchenserums versetzt. Die Suspension kommt eine Stunde in 37°, 12 Stunden in Eisschranktemperatur, dann wird zentrifugiert. Die gifthaltige Flüssigkeit wird bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt.
- 6. XI. Meerschweinchen No. 148, 250 g, erhält 2 ccm des Anaphylatoxins intravenös.
 - 11^b 27 Injektion. Temperatur vorher 37,2°.
 - 11^b 28 Tier schnuppert, sträubt das Fell, beginnt sehr stark zu zittern.
 - 11^b 33 deutliche Krämpfe.
 - 11^b 37 Temperatur 34,0°. Hinterbeine gelähmt.
 - 12^b 10 " 35,2°.
 - 4^b 30 Tier liegt auf der Seite mit schweren Krämpfen. Stirbt.

Wie wir im Kontrollversuch zu Versuch V gesehen haben, wirkte entsprechend den bekannten Versuchen von Doerr und Russ auch das mit Normalmeerschweinchenserum erschöpfte Präzipitat an sich giftig. So war den vorstehenden Versuchen gegenüber immerhin der Einwand möglich, daß die Giftigkeit des abzentrifugierten Meerschweinchenserums nicht einem neugebildeten und in Lösung gegangenen „Toxin“ zuzuschreiben sei, sondern auf im Serum zurückgebliebenen Präzipitatresten beruhe, die beim Zentrifugieren nicht mit ausgeschleudert waren. So unwahrscheinlich das auch war, da wir stets längere Zeit bei 4000 Umdrehungen bis zur absoluten Klarheit der obenstehenden Flüssigkeit ausschleuderten, so haben wir doch, um diesem Einwand zu begegnen, noch einen Kontrollversuch angesetzt, in dem wir das Waschwasser, das bei der ersten Waschung des Präzipitats vor dem Zusatz des Meerschweinchenserums gewonnen war, zur Injektion benutzten. Wir haben in diesem Falle absichtlich nicht bis zur völligen Klärung des Waschwassers zentrifugiert, sondern den Abguß zu einer Zeit benutzt, wo er noch deutlich opaleszierend getrübt war. 3,0 dieses Waschwassers, intravenös gegeben, riefen keinerlei Symptome bei einem Meerschweinchen hervor. Uebrigens sprechen unten zu berichtende Versuche, in denen wir mit inaktiviertem Meerschweinchenserum arbeiteten, und keine entsprechende Giftwirkung erzielten, gleichfalls gegen den soeben erhobenen Einwand.

In allen seitherigen Versuchen gingen zwar die mit dem Gift behandelten Tiere mehr oder weniger schnell ein, doch waren die Symptome immerhin deutlich schwächer ausgesprochen als etwa bei dem gewöhnlichen Hergang der aktiven oder passiven Anaphylaxie. Akuter Tod und jene schweren Initialkrämpfe, wie wir sie dort in der Regel sehen, waren nicht zu verzeichnen. Das Resultat aber wurde schon ein anderes, als wir daran gingen, reichlicheres Präzipitat zu benutzen. In den folgenden Versuchen erfolgte zwar der Tod noch nicht akut, wie wir es später regelmäßig sahen, aber die Tiere zeigten doch schon ungemein schnell einsetzende und schwere Vergiftungserscheinungen.

VIII. Versuch.

Das zu diesem Versuch benutzte präzipitierende Serum stammte von dem Kaninchen No. 40, das, wie folgt, vorbehandelt war.

5. X. 1,0 Hammelserum intravenös.
6. XI. 3mal in mehrstündigen Intervallen je 1,0 Hammelserum intravenös.
12. XI. Blutentnahme. Das Serum zeigte mit Hammeleiweiß 1:1000, bei Zimmertemperatur starke Präzipitation, 1:10 000 erst nach einigen Minuten.
24. XI. abends. 3,0 dieses Serums wird mit 5 ccm Hammelserum und 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Die stark trübe Flüssigkeit kommt über Nacht in Eisschranktemperatur.

Da eine klare Zentrifugierung zunächst nicht zu erzielen ist, wird nochmals 2,0 Serum, Kaninchen 40, hinzugefügt, wonach eine erneute Präzipitatbildung und völlige Klärung beim Zentrifugieren eintritt. Der wie üblich mit Kochsalzlösung gewaschene Bodensatz wird mit 12 ccm normalen Meerschweinchenserums versetzt und über Nacht im Schüttelapparat bei Zimmertemperatur geschüttelt¹⁾. Das abzentrifugierte Meerschweinchenserum wird zur Injektion benutzt.

Meerschweinchen 231, 200 g, erhält 2,5 ccm des Abgusses.

12^h 16 Injektion. Temperatur vorher 38,4.

12^h 17^{1/2} Starke Sprünge.

12^h 18 Tier legt sich auf die Seite, hat starke Krämpfe.

12^h 30 liegt immer noch auf der Seite.

1^h Temperatur 31,8.

3^h „ 33,5. Etwas erholt.

4^h 45 „ 34,8. Stirbt in der Nacht.

Meerschweinchen 232, 220 g, erhält 2,0 ccm des gleichen Giftes.

12^h 57 Injektion. Temperatur vorher 38 °.

12^h 58 Sprünge, Tier legt sich auf die Seite, schwere Krämpfe.

1^h 20 Tier liegt immer noch auf der Seite. Temperatur 35,8.

1^h 30 Tier erhebt sich wieder, aber noch sehr matt.

3^h Tier scheint völlig erholt, Temperatur 38,1.

3^h 30 kurzdauernde Krämpfe.

4^h 47 Temperatur 38,2. Tot in der Nacht.

Auch in diesem Versuche wurde der Bodensatz auf seine Giftigkeit hin geprüft.

Nach nochmaligem Waschen wird der gesamte Bodensatz in 12 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 20 Minuten im Schüttelapparat geschüttelt.

1) Jacoby und Schütze haben zwar die interessante Tatsache ermittelt, daß dabei das Komplement zerstört wird; da das aber bei Zimmertemperatur immerhin mehrere Stunden dauert, während das anaphylaktische Gift, wie noch weiterhin gezeigt wird, sich sehr bald abspaltet, so ist das Schütteln im obenstehenden Versuch wohl ohne schädigenden Einfluß auf die Giftbildung gewesen. Immerhin haben wir weiterhin längeres Schütteln vermieden.

26. XI. 4^b 9 Meerschweinchen No. 234, 220 g, erhält 2,5 ccm dieser Emulsion intravenös. Temperatur vorher 38,4. Erscheint zunächst vollständig munter.
- 4^b 17 Tier legt sich nieder, steht wieder auf und taumelt.
- 4^b 22 Tier liegt vollständig erschöpft da, streckt die Beine von sich wie gelähmt, atmet schwer.
- 4^b 35 wieder etwas erholt. Temperatur 35,2. Stirbt in der Nacht.

Während in dieser Versuchsreihe das Gift schon bedeutend wirksamer war, gelang es uns nunmehr, durch noch reichlichere Präzipitatbildung infolge von Verwendung größerer Mengen präzipitierenden Serums und meist auch größerer Injektionsdosen ein Gift mit dem Komplementserum zu extrahieren, das genau wie bei der typischen, hochgradigen, aktiven oder passiven Anaphylaxie und mit den gleichen Symptomen den akuten Tod des Versuchstieres herbeiführte.

IX. Versuch.

Zur Verwendung kam auch hier wiederum das im vorigen Versuch benutzte Kaninchenserum No. 40.

29. XI. abends. 13,2 ccm Serum des Kaninchens No. 40 + 5 ccm normales Hammelserum + 12 ccm physiologischer Kochsalzlösung kommen eine Stunde in 37°, bleiben über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Der wie üblich gewaschene Bodensatz wird in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch 15 Minuten langes Schütteln im Schüttelapparat fein emulsiert und dann in 2 Hälften geteilt. Beide Hälften werden zentrifugiert. Zu dem einen Bodensatz kommen 11 ccm Komplement, zu der anderen Hälfte die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung. Beide Emulsionen bleiben über Nacht bei Zimmertemperatur stehen und werden dann zentrifugiert. Diese Abgüsse sind im nachstehenden als „Serumabguß“ bzw. „Kochsalzabguß“ bezeichnet.
1. XII. 5^b 30 Meerschweinchen 273, 200 g schwer, erhält 2,0 „Serumabguß“.
- 5^b 43 Injektion. Temperatur vorher 37,8.
- 5^b 48 Tier sitzt mit gestäubtem Felle, deutlich krank, forcierte beschleunigte Atmung.
- 6^b Temperatur 35,4.
- 6^b 30 „ 36,4.
- 8^b „ 37,0, bleibt am Leben.
- Meerschweinchen 276, 210 g, erhält 2,5 ccm „Serumabguß“.
- 6^b 22 Injektion, Temperatur 38,2.
- 6^b 23 deutliche Dyspnoe. Tier sehr matt, auf den Rücken gelegt, bleibt es liegen.
- 7^b Temperatur 35,9.
- 8^b „ 36,0, stirbt in der Nacht.

1. XII. Meerschweinchen 272, 220 g, erhält 3,0 ccm Serumabguß.
 5^b 33 Injektion. Temperatur vorher 38,0. Sofort nachdem das Tier abgespannt ist, beginnen typische hohe Sprünge und Krämpfe. Das Tier wirft sich auf die Seite.
 5^b 35 vereinzelte tiefe agonale Atemzüge. Abgang von Urin.
 5^b 37 Reflexe erloschen. Tot.
 Blutentnahme unmittelbar post mortem.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß schon 2,0 des Serumabgusses genügend Gift enthalten, um das Meerschweinchen krank zu machen, 2,5 um den Tod etwa innerhalb von 12 Stunden herbeizuführen und 3,0 die sicher akut tödliche Dosis beträgt. Bei dem letzten Tier war, wie erwähnt, sofort nach dem Tode das Blut entnommen worden. Dessen Serum wurde nun auf seinen Komplementgehalt geprüft, denn es erschien mir von Interesse, zu sehen, ob auch bei dieser Form der Anaphylaxie, bei der ja nicht, wie gewöhnlich, erst das Gift unter dem Zusammentreffen von Eiweiß und Antieiß unter der Mitwirkung des Komplements im Organismus sich zu bilden braucht, sondern bei der das fertige Gift zur Injektion gelangt, ein wesentlicher Komplementschwund eintrete oder nicht. A priori war das in diesem Falle nicht zu erwarten und die Tatsache bestätigte diese Erwartung. Wir haben bei der Kleinheit des Tieres eine vorherige Blutentnahme, um das Versuchsergebnis nicht zu trüben, vermieden. Dagegen wurde gleichzeitig das Serum zweier gleich schwerer normaler Meerschweinchen zur Kontrolle ausgewertet. Die Resultate zeigt die folgende Tabelle.

Komplementtitration mit Hammelblut und Antihammelblutkaninchenserum ca. 50 Einheiten.

Komplement- mengen	Resultat mit		
	Norm.-Meersch.- Serum I	Norm.-Meersch.- Serum II	Serum 272
0,1	komplett	komplett	komplett
0,08	„	„	„
0,06	trüb	„	„
0,04	„	trüb	„
0,02	komplett	Kuppe	Kuppe

Es ergibt sich, daß sicherlich keine nennenswerte Komplementverarmung bei dieser Form der anaphylaktischen Vergiftung eingetreten ist, in-

dem das Serum, das unmittelbar nach dem Tode entnommen war, sogar einen höheren Titer zeigte, als das zweier normaler Kontrollmeerschweinchen¹⁾.

Gegen die Deutung aller dieser Versuche ließe sich noch der Einwand erheben, daß das Anaphylatoxin nicht etwa durch das normale Meerschweinchenserum erst in Freiheit gesetzt werde, sondern daß schon die einfache Digerierung des Präzipitats mit einer indifferenten Flüssigkeit, etwa mit der physiologischen Kochsalzlösung genüge, um das Gift zu extrahieren, so daß es sich also um eine einfache mechanische Ausschüttelung der toxischen Substanz handele und das Komplement dabei keine Rolle spielt. Zur Entscheidung dieser Frage war die Hälfte des Präzipitats in dem vorigen Versuche, wie erwähnt, statt mit normalem Meerschweinchenserum mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt worden und im übrigen in gleicher Weise behandelt worden, wie die mit Komplement versetzte Quote.

Der Abguß („Kochsalzabguß“) wird gleichfalls auf seine giftigen Eigenschaften am Meerschweinchen ausgewertet.

Meerschweinchen No. 274, 190 g schwer, erhält 3,0 des Kochsalzabgusses intravenös.

5^h 33 Injektion. Temperatur vorher 38 °.

Tier bleibt vollständig munter.

6^h 15 Temperatur 37,2.

7^h „ 36,2. Stirbt in der Nacht.

Meerschweinchen No. 275, 210 g, erhält 4,0 des Kochsalzabgusses.

6^h 13 Injektion. Temperatur vorher 38,0. Tier bleibt völlig munter.

6^h 50 Temperatur 37,4. Tier stirbt in der Nacht.

Im Gegensatz zu dem Serumabguß also, der in Mengen von 2,0 bereits schwere Vergiftung mit akutem Temperaturabfall, und in Mengen von 3,0 akuten Tod bewirkte, rief der Kochsalzabguß beim Meerschweinchen keinerlei wahrnehmbare Symptome hervor. Allerdings gingen auch hier die Tiere schließlich allmählich ein, so daß eine geringe, chronisch verlaufende Vergiftung nicht von der Hand zu weisen ist. Das rührt aber, wie in späteren Versuchen noch gezeigt werden wird, wohl zum großen Teil daher, daß bei der hier statt-

1) Anmerkung bei der Korrektur: In späteren Versuchen, in denen vor und nach der Vergiftung Blut entnommen wurde, war eine regelmäßige minimale Komplementverankerung zu konstatieren.

gehabten Verwendung von frischen Seris zur Präzipitatbildung offenbar die Komplemente der Präzipitatkomponenten (Hammelserum und Antihammel-Kaninchenserum) im Niederschlag geringe Mengen des Giftes frei gemacht haben. Bei der später erfolgten Verwendung inaktiven Eiweißes und Antieiweißserums hat sich, wie weiterhin gezeigt werden wird, diese minimale Giftwirkung der wäßrigen Präzipitalextrakte noch weiter verringert.

X. Versuch.

Das mit Kochsalzlösung erschöpfte Präzipitat des vorigen Versuches wird am 2. XII. wiederum mit 10,0 normalen Meerschweinchenserums versetzt, 5 Minuten geschüttelt, 4 Stunden bei 37° gehalten, nochmals aufgeschüttelt, abzentrifugiert. Die obenstehende Flüssigkeit wird auf ihren Anaphylatoxingehalt an Meerschweinchen ausgewertet.

Meerschweinchen No. 278, 220 g, erhält 3,0 des Serumabgusses intravenös.

6^h 7 Injektion, Temperatur vorher 38,0.

6^h 8—9 anhaltende Sprünge. Krämpfe dauernd bis 6^h 20, dann erscheint das Tier leidlich erholt.

6^h 30 Temperatur 37,0.

6^h 50 „ 36,0.

9^h „ 35,9. Stirbt am andern Morgen.

Meerschweinchen No. 280, 200 g, erhält 5,0 des gleichen Abgusses, nachdem dieser 1/2 Stunde auf 55° erhitzt war.

7^h 3 Injektion, Temperatur vorher 38,4.

7^h 3 1/2 schwache Krämpfe und Sprünge.

7^h 5 Tier atmet schwer, wirft sich auf die Seite, vereinzelte agonale Atemzüge, Reflexe erhalten.

7^h 15 Tier liegt noch immer auf der Seite, aber die Atmung hat sich gebessert, versucht aufzustehen.

7^h 17 Temperatur 36,6.

7^h 25 Tier sitzt wieder aufrecht. Die Hinterbeine scheinen jedoch gelähmt.

8^h Temperatur 35,4.

9^h Temperatur 30,4. Stirbt in der Nacht.

Aus diesem Versuche ergibt sich, daß durch die 1 1/2-stündige Erhitzung auf 55° eine nennenswerte Abschwächung der Giftwirkung nicht erreicht wird, in späteren Versuchen wird dagegen gezeigt, daß höhere Temperaturen das Gift zerstörten.

Wir haben bereits gesehen, daß das akut wirkende Gift nur durch die Ausschüttelung mit normalem Meerschweinchenserum, nicht aber durch die Ausschüttelung mit Kochsalzlösung in Freiheit gesetzt wird. Wenn es nun tatsächlich der normale

Komplementgehalt des Meerschweinchenserums ist, welchem dieses seine Giftigkeit nach dem Kontakt mit den Präzipitaten verdankt, so mußte bei der Verwendung von inaktiviertem Meerschweinchenserum an Stelle von frischem kein Gift in Lösung gehen. Es wurde deshalb ein weiterer Versuch angestellt, in dem je eine Hälfte desselben Präzipitats einmal mit der gleichen Menge ein und desselben frischen, das andere Mal mit inaktiviertem Normalmeerschweinchenserum digeriert wurde.

XI. Versuch.

10. XII. Das zu diesem Versuch benutzte präzipitierende Kaninchenserum G 3 präzipitierte Hammelserumverdünnung 1:10000 bei Zimmertemperatur sofort und stammte von einem Tier, welches, wie folgt, vorbehandelt war: 28. X. 1,5 Hammelserum intravenös, 25. XI. 1,0 dgl., 26. XI. 1,0 dgl. 6. XII. entblutet.

6. XII. abends. 20 ccm Kaninchenserum G 3 + 10 ccm Hammelserum + 250 ccm physiologischer Kochsalzlösung kommen 1 Stunde in 37° und dann 16 Stunden in Zimmertemperatur. Das Präzipitat wird wie üblich gewaschen, in Kochsalzlösung fein aufgeschwemmt und in zwei Hälften geteilt. Dann wird nochmals zentrifugiert, zu dem einen Bodensatz kommt 12 ccm Normalmeerschweinchenserum, zu dem anderen 12 ccm desgleichen, jedoch vorher $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erhitztes Meerschweinchenserum. Beide Emulsionen kommen 1 Stunde in den Brutschrank und bleiben über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann wird scharf zentrifugiert, die obestehenden Flüssigkeiten (Abguß des aktivierten bzw. inaktivierten Serums „Aktivabguß“ — „Inaktivabguß“) werden auf ihren Giftgehalt geprüft.

A. Auswertung des „Aktivabgusses“.

Meerschweinchen No. 294, 220 g, erhält 1,0 des Abgusses.

1^b 15 Injektion, Temperatur vorher 38,4, Tier bleibt völlig munter.

4^b Temperatur 36,8.

8^b Temperatur 37,4, Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 293, 230 g, erhält 3,0 des „Aktivabgusses“.

12^b 45 Injektion, Temperatur vorher 38,4.

12^b 47 Tier sehr matt, atmet schwer, auf den Rücken gelegt bleibt es unbeweglich liegen. Hinterbeine gelähmt.

1^b 10 Zustand noch immer unverändert, vereinzelte Krämpfe und Sprünge. Temperatur 36,0.

4^b Temperatur 36,6.

8^b Temperatur 37,4, bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 290, 220 g, erhält 5,0 des Aktivabgusses.

11^b 13 $\frac{1}{2}$ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

11^b 15 Tier völlig matt, Hinterbeine gelähmt, legt sich auf die Seite.

11^b 20 schwere Krämpfe, vereinzelte Atemzüge.

11^b 25 Reflexe erloschen.

11^b 27 tot.

Aus diesem Versuche ergibt sich also, daß von dem komplementhaltigen Abguß 3 ccm sicher das Tier schwer krank machen, 5 ccm akuten anaphylaktischen Tod herbeiführen. Ganz anders aber verhält sich nun der „Inaktivabguß“.

B. Auswertung des „Inaktivabgusses“.

Meerschweinchen No. 291, 220 g, erhält 5,0 des Inaktivabgusses.

11^h 47 Injektion, Temperatur vorher 38,0. Das Tier bleibt völlig munter, läuft im Käfig herum.

12^h Temperatur 36,2. Das Tier frißt spontan.

4^h Temperatur 34,6. Das Tier ist gleichwohl munter; stirbt in der Nacht.

Wir haben also in diesem Falle zwar einen geringeren Temperaturabfall und verspäteten Tod zu verzeichnen, die Wirkung steht aber doch in gar keinem Verhältnis zu der des komplementhaltigen Giftes. Die geringe Giftigkeit entspricht etwa der, wie sie die mit dem Präzipitat in Kontakt gewesene physiologische Kochsalzlösung zeigt, und die auf Giftreste im Präzipitat selbst zurückgeführt wurde. Es ist aber übrigens nicht ausgeschlossen, daß auch durch die bloße, mechanische Ausschüttelung geringe Mengen der Eiweiß-Anti-eiweißverbindung in Lösung gehen, aus denen dann im Organismus des Meerschweinchens, dem sie injiziert werden, durch Hinzutritt von dessen Komplement, eine geringere Menge Gift abgespalten wird. Daß übrigens selbst die großen Mengen des „Inaktivabgusses“ nicht in jedem Fall den verspäteten Tod der Tiere ohne anaphylaktische Symptome herbeiführen, zeigt folgendes Protokoll.

Meerschweinchen No. 292, 200 g, erhält 5,0 des gleichen Abgusses wie das vorige.

12^h 30 Injektion, Temperatur vorher 38,2. Das Tier bleibt absolut munter, zeigt einen ganz geringen Sturz.

1^h Temperatur 36,6.

4^h „ 36,6.

8^h „ 38,2. Bleibt am Leben.

Vollständig mit Versuch XI identisch verlief der folgende Versuch.

XII. Versuch.

Das zu diesem Versuch benutzte Serum von Kaninchen 3c stammte von einem Tier, welches wie folgt vorbehandelt war.

5. X. 1,0 Hammelserum intravenös.
 6. XI. 3mal in mehrstündigen Intervallen je 1 ccm Hammelserum.
 12. XI. Blutentnahme. Das Serum wird im Frigo aufbewahrt.
 16. XII. abends. 7 ccm Hammelserum, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt, werden mit 20 ccm gleichfalls $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktivierten Serums des Kaninchens 3c versetzt. Sofort gute Präzipitatbildung. Die Mischung bleibt über Nacht in Zimmertemperatur stehen und wird, wie üblich, 2mal gewaschen.

Zu der einen Hälfte des Präzipitats kommen 12 ccm frisches, normales Meerschweinchenserum, zur anderen Hälfte die gleiche Menge des gleichen, jedoch vorher $\frac{1}{2}$ Stunde bei $60-62^{\circ}$ inaktivierten Serums. Die Emulsionen bleiben über Nacht bei Eisschranktemperatur, dann wird zugefügt und die beiden Abgüsse werden wie im vorigen Versuch auf ihren Anaphylatoxingehalt ausgewertet.

A. Auswertung des Aktivabgusses.

- Meerschweinchen No. 343, 200 g, erhält 2,0 des Aktivabgusses.
 3^b 48 Injektion, Temperatur vorher 38,0.
 4^a Tier sitzt mit aufgerichteten Vorderbeinen und atmet schwer, deutlich krank, Hinterbeine gelähmt.
 4^b 10 Temperatur 36,0.
 5^b 20 Tier erholt, Temperatur 38,8. Bleibt am Leben.
- Meerschweinchen No. 342, 200 g, erhält 3,0 des gleichen Abgusses.
 12^b 13 Injektion, Temperatur vorher 38,0.
 12^b 14 Tier legt sich auf die Seite, schwere Krämpfe.
 12^b 15 Reflexe erloschen, vereinzelte Atemzüge.
 12^b 17 Tot. Blutentnahme sofort post mortem.
- Meerschweinchen No. 344, 200 g, erhält die gleiche Dosis wie das vorige Tier.
 4^b 14 Injektion, Temperatur vorher 38,0. Tier legt sich sofort auf die Seite, zeigt schwerste Krämpfe und vereinzelte Atemzüge.
 4^b 16 Reflexe bereits erloschen.
 4^b 17 vereinzelte Atemzüge.
 4^b 18 tot, sofort Blutentnahme.

B. Auswertung des Inaktivabgusses.

- Meerschweinchen No. 341, 200 g, erhält 3,0 dieses Abgusses intravenös.
 12^b 34 Injektion, Temperatur vorher 38,0. Keinerlei Symptome.
 12^b 57 Temperatur 35,6.
 1^b 5 „ 36,0.
 3^b „ 38,0. Bleibt am Leben.
- Meerschweinchen No. 345, 200 g, erhält 5,0 wie voriges.
 4^b 25 Injektion, Temperatur 38,0. Keinerlei Symptome.
 5^b 10 Temperatur 36,3. Tier munter, bleibt am Leben.

Bei den mit aus aktivem Serum gewonnenem Abguß behandelten und an aktiver Anaphylaxie eingegangenen Tieren

war unmittelbar post mortem, wie in den Protokollen vermerkt, Blut entnommen worden. Die nachstehende Tabelle enthält die Komplementtitration im Vergleich mit einem normalen Meerschweinchenserum als Kontrolle. Sie zeigt wiederum, daß höchstens eine ganz verschwindende Abnahme des Komplementgehaltes bei den vergifteten Tieren zu verzeichnen ist.

Komplementtitration mit dem gleichen System wie im vorigen Versuch.

Komplement- mengen	Resultat mit		
	Normal-Meerschw.- serum	Serum 342	Serum 344
0,2	komplett	komplett	komplett
0,1	”	”	”
0,08	”	”	”
0,06	”	”	”
0,04	”	”	”
0,02	”	Hauch	Hauch
0,01	Hauch	trüb	trüb

Um zu sehen, ob durch die einmalige Behandlung mit Komplement alles Gift bereits aus dem Präzipitat extrahiert ist, wurden die beiden zu dem vorigen Versuch verwendeten Präzipitatquoten nochmals mit normalem Meerschweinchenserum digeriert, aber diesmal beide mit aktivem.

XIII. Versuch.

Zweimal je 10 ccm Meerschweinchenserum bleiben mit den Präzipitaten vom 18. XII. abends bis 20. XII. früh bei Eisschranktemperatur in Kontakt, ferner 2 Stunden bei 37°. Dann wird zentrifugiert und der Giftgehalt der Abgüsse geprüft.

Dabei ergab sich, wie a priori ja nicht anders zu erwarten war, daß die eine Präzipitathälfte durch die einmalige Behandlung mit normalem, aktivem Meerschweinchenserum keineswegs erschöpft war, vielmehr wirkten 4,0 des Abgusses noch akut giftig, wie folgendes Protokoll zeigt.

Meerschweinchen No. 346, 200 g, erhält 4,0 des zum zweiten Male mit aktivem Serum behandelten Präzipitatabgusses.

12^h 46 Injektion, Temperatur vorher 38,0.

12^h 47^{1/2} Krämpfe, Tier legt sich auf die Seite.

12^h 49 vereinzelte agonale Atemzüge, Reflexe erloschen.

12^h 50 tot. Blutentnahme post mortem.

Es waren also bei der zweiten Behandlung mit aktivem normalen Meerschweinchenserum immer noch genügende Mengen von Gift aus dem Präzipitat abspaltbar. Erst bei der dritten Behandlung ließ sich, wie in einem anderen Versuch gefunden wurde, eine gewisse Erschöpfung konstatieren.

Man sollte nun erwarten, daß die das erste Mal mit inaktiviertem Serum behandelte Quote des Präzipitats, aus der durch das 60° Serum kein Gift extrahiert worden war, bei der Nachbehandlung mit aktivem normalen Meerschweinchenserum zum mindesten eine gleiche, eher noch eine intensivere Giftausbeute liefere. Es ergab sich jedoch der unerwartete Befund, daß das zum ersten Male mit 60° Serum, zum zweiten Male mit aktivem Serum extrahierte Präzipitat nunmehr einen Abguß lieferte, der nicht oder doch nur in minimalem Grade toxisch war. Dies zeigen die beiden folgenden, gleichzeitig mit den dem vorstehenden angestellten Versuche.

XIV. Versuch.

Meerschweinchen No. 347, 200 g, erhält 4,0 des Abgusses der zweiten, das vorige Mal mit inaktivem Serum behandelten Quote des Präzipitats.

12^h 47 Injektion, Temperatur vorher 38,2.

1^h Tier kratzt sich und sträubt etwas das Fell, aber sonst munter.

1^h 15 Temperatur 33,2.

4^h „ 36,2.

5^h „ 37,0. Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 348, 200 g, wird gleich behandelt wie das vorige.

5^h Injektion, Tier zeigt keinerlei Symptome.

5^h 30 Temperatur 37,0. Tier bleibt munter und am Leben.

In einem später mitzuteilenden Versuch (s. p. 658) wurde ganz das gleiche Resultat erzielt und erst bei der dritten Extraktion mit normalem aktiven Serum war der Abguß deutlich etwas giftig. Wie ist das paradoxe Verhalten des zuerst mit inaktivem Serum digerierten Präzipitats zu erklären? Man könnte annehmen, daß durch die Vorbehandlung mit inaktivem Serum eine sogenannte „Komplementoidverstopfung“ des Präzipitats erfolgt, so daß dieses nachher nicht mehr imstande ist, in einer zur Abspaltung eines wirksamen Giftes genügenden Quantität,

das bei der zweimaligen Digerierung zugesetzte Komplement des frischen Normalserums zu verankern. Ich bin mir des hypothetischen Charakters dieser Annahme wohl bewußt, für die man allerdings als Analogon die von Ehrlich beobachtete „Komplementoidverstopfung“ des hämolytischen Ambozeptors anführen kann.

In den seitherigen Versuchen wurde stets das Präzipitat mit dem Komplementserum relativ lange, mindestens 4, meistens aber 12 Stunden und mehr im Kontakt gelassen, in der Annahme, daß dadurch eine reichere Ausbeute an Gift erzielt werde. Es stellte sich jedoch in weiteren Versuchen heraus, daß schon in kürzester Zeit, fast momentan, ein wirksames Gift aus dem Präzipitat durch normales Meerschweinchen-serum sich gewinnen läßt.

XV. Versuch.

Das in diesem Versuch benutzte präzipitierende Kaninchenserum stammte von zwei Kaninchen No. 188 und C6. Beide Tiere hatten am 13. XI. 2,0 Hammelserum intravenös erhalten, am 11. XII. in mehrstündigen Intervallen 2mal je 1,0. Am 18. XII. präzipitierten beide Sera Hammeleiweiß 1:10000 bei Zimmertemperatur sofort. Tiere entblutet. Es wurden folgende Mischungen angesetzt.

19. XII. 15,0 Serum von Kaninchen 188, auf 56° erhitzt, + 15,0 normales Hammelserum auf 56° erhitzt.

20. XII. 31 ccm Kaninchenserum 188 + 300 Hammelserum 1:25, ferner 40,0 Kaninchenserum C6 + 40,0 Hammelserum 56°.

Diese drei Mischungen kommen je eine Stunde in 37° und dann in Eisschranktemperatur. Am 21. XII. werden alle Präzipitate ausgeschleudert, zweimal gewaschen und dann vereinigt. $\frac{3}{4}$ des vereinigten Präzipitats wird mit 33 ccm normalen Meerschweinchen-serums, $\frac{1}{4}$ mit 11 ccm des gleichen, jedoch vorher $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erhitzten normalen Meerschweinchen-serums versetzt. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde Aufenthalt bei Brutschranktemperatur wird alles zentrifugiert und die Abgüsse („Aktivabguß“ bzw. „Inaktivabguß“) werden ausgewertet.

1. Auswertung des Aktivabgusses.

Meerschweinchen No. 362, 220 g, erhält 3,0 des Abgusses des nicht erhitzten Serums.

3^h 43 Injektion, Temperatur vorher 38,0.

3^h 45 Tier deutlich krank, atmet schwer und beschleunigt, auf den Rücken gelegt bleibt es liegen.

4^h 5 Temperatur 33,8.

4^h 15 Tier erholt.

5^b 15 Temperatur 38,0.

8^b 30 Temperatur 37,8, bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 365, 230 g, erhält 3,5 des gleichen Abgusses.

5^b Injektion.

5^b 1 Sprünge und Krämpfe. Tier legt sich auf die Seite.

5^b 2 Reflexe erloschen, Tier entblutet.

Meerschweinchen No. 361, 210 g, erhält 5,0 wie voriges.

1^b 26 Injektion, Temperatur vorher 38,2.

1^b 27 Tier springt mehrere Male hoch, legt sich auf die Seite, wälzt sich.

1^b 29 Reflexe erloschen, vereinzelte agonale Atemzüge.

1^b 30 tot. Blutentnahme post mortem.

2. Auswertung des Inaktivabgusses.

Meerschweinchen No. 363, 230 g, erhält 5,0 des inaktivierten, mit dem Präzipitat in Kontakt gewesenen normalen Meerschweinchenserums.

4^b 25 Injektion, Temperatur vorher 38,2.

4^b 27 keinerlei Symptome, auf den Rücken gelegt springt das Tier sofort wieder auf.

4^b 35 Temperatur 36,2.

8^b 30 Temperatur 37,8, bleibt am Leben.

Wir haben also in diesem Versuche trotz des kurzen Kontaktes zwischen Präzipitat und Serum bereits ein voll wirksames Gift erhalten, während das inaktivierte Meer-schweinchenserum dieses Mal vollständig ohne Einfluß war, was ich im wesentlichen darauf zurückführen möchte, daß das Präzipitat mit inaktivierten Komponenten hergestellt wurde.

Um nun weiteren Aufschluß über den Charakter des gebildeten Giftes zu erhalten, habe ich dessen Verhalten gegenüber der Erwärmung untersucht.

XVI. Versuch.

Der Rest des Anaphylatoxins von Versuch XV wird 25 Minuten auf 58° erhitzt.

Meerschweinchen No. 359, 190 g, erhält 5,0 des 25 Minuten auf 58° erhitzten Serums intravenös.

5^b 55 Injektion. Sofort nach der Abspannung schwere Krämpfe, Sprünge. Tier wirft sich auf die Seite.

5^b 57 Reflexe erloschen.

5^b 58 Entblutet.

Aus diesem Versuche ergibt sich also, daß die etwa halbstündige Erhitzung auf 58° das Gift nicht zu zerstören imstande ist (s. auch vorne p. 649), es wurde deshalb der Rest des Serums noch 20 Minuten lang einer Temperatur von 65° ausgesetzt.

Meerschweinchen No. 367, 230 g, erhält 5,0 des auf 65° erhitzten Serums.

6^h 53 Injektion, Temperatur vorher 38,4.

7^h 5 keinerlei Symptome, Temperatur 37,3.

7^h 40 Temperatur 37,0. Das Tier zeigt eine ziemlich beträchtliche Nachblutung aus der Operationswunde.

8^h 30 Tier völlig munter. Temperatur 36,6. Tier stirbt in der Nacht.

Dieser Versuch zeigt, daß eine Erhitzung des giftigen Serums auf 58° das Gift kaum beeinflußt, während durch die kurzdauernde Erhitzung auf 65° die toxische Komponente des Serums vollständig zerstört wird. Der nachträgliche Tod des Tieres ist wohl in diesem Falle, in dem ein nennenswerter Temperatursturz überhaupt nicht eingetreten ist und keinerlei Symptome zu beobachten waren, ausschließlich auf den Blutverlust zurückzuführen. Auch in diesem Versuche zeigten die Tiere, bei denen unmittelbar post mortem oder in der Agone Blut entnommen worden war, nur einen geringen Komplementschwund im Vergleich zu dem Kontrolltier, wie die folgende Tabelle zeigt.

Hämolytisches System wie im vorigen Versuch.

Komplement- menge	Resultat mit				
	Normal- Meerschw.- serum	Serum 346	Serum 359	Serum 361	Serum 365
0,1	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,08	”	”	”	”	”
0,06	”	”	”	”	”
0,04	”	”	”	”	”
0,02	”	Hauch	”	”	”
0,01	”	trüb	Hauch	Hauch	Hauch
0,008	trüb				

XVII. Versuch.

Zu diesem Versuche wurde das präzipitierende Serum des Kaninchens G4 benutzt, das wie folgt vorbehandelt war:

28. X. 1,5 Hammelserum intravenös.

25. XI. 1,0 ” ”

26. XI. 1,0 ” ”

6. XII. Tier entblutet.

8. XII. abends. 20,0 Serum Kaninchen G4 + 10 ccm Hammelserum kommen eine Stunde in 37°, bleiben dann 14 Stunden bei Zimmertemperatur, darnach wird zentrifugiert, der Bodensatz in der üblichen Weise gewaschen,

mit 19 ccm normalen Meerschweinchenserums 5 Minuten geschüttelt; nach 14 Stunden bei Eisschranktemperatur, 1 Stunde bei Brutschranktemperatur wird zentrifugiert. Der Abguß wird auf seine Giftigkeit geprüft.

Meerschweinchen No. 314, 230 g, erhält 3,0 des Serumabgusses intravenös.

12^h 40 Injektion, Temperatur vorher 38,6.

12^h 41 Tier legt sich auf die Seite, zeigt vereinzelte Krämpfe, bleibt dann wie gelähmt liegen. Atmung anfangs beschleunigt, später sehr verlangsamt. Tier bleibt wie gelähmt bis 1^h, dann richtet es sich spontan wieder auf. Temperatur 36,2.

4^h Temperatur 37,6.

8^h Temperatur 38,0, bleibt leben.

Meerschweinchen No. 313, 240 g, erhält 5,0 des gleichen Abgusses.

12^h 21 Injektion, Temperatur vorher 38,4.

12^h 22 Sprünge, starke Krämpfe, Tier wirft sich auf die Seite.

12^h 23 Reflexe erloschen, noch vereinzelte Atemzüge.

12^h 24 tot.

Von diesem giftigen Abguß werden 5,0 45 Minuten lang auf 65° erhitzt.

Meerschweinchen No. 316, 280 g, erhält 5,0 des erhitzten Abgusses.

7^h Injektion, Temperatur vorher 38,6. Tier bleibt völlig munter.

8^h Temperatur 36,8.

10^h Temperatur 37,0, am anderen Morgen 38,0, bleibt am Leben.

In ganz analoger Weise wie im vorigen Versuch ist also durch die Erhitzung auf 65° das Gift vollständig zerstört worden.

Die Präzipitatquoten des Versuches No. XV werden nun zum zweiten Male erschöpft, und zwar analog wie im Versuche XIV nur mit unerhitztem Meerschweinchenserum.

XVIII. Versuch.

21. XII. Die vorher mit aktivem Meerschweinchenserum digerierte Präzipitatquote wird mit 30,0 normalen Meerschweinchenserums versetzt. Die vorher mit inaktiviertem Serum digerierte Quote erhält 10 ccm des gleichen Serums. Beide Emulsionen kommen über Nacht in Eisschranktemperatur, am folgenden Morgen 1 Stunde in 37°, dann wird zentrifugiert.

In völliger Uebereinstimmung mit dem vorherigen Versuche zeigt der Abguß der ursprünglich mit inaktiviertem Serum in Kontakt gewesenen Quote keine toxische Wirkung, während aus der anderen Präzipitatquote ein wirksames Gift in Lösung gegangen war.

1. Auswertung des Giftes aus der zum ersten Male mit aktivem Serum in Kontakt gewesenen Präzipitatquote.

Meerschweinchen No. 375, 330 g, erhält 1,0 des Abgusses. Tier zeigt bald nach der Injektion leichte Krämpfe, ist aber schnell wieder erholt.
 4^a 40 auf den Rücken gelegt, steht es sofort wieder auf.
 4^a 45 Temperatur 37 °.
 6^a " 38,2.
 8^a 37 " 37,8, bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 374, 320 g, erhält 3,0 des Abgusses, wie das vorige.
 4^a 15 Injektion. Sofort nach der Abspannung schwere Krämpfe.
 Tier legt sich auf die Seite.
 4^a 17 Reflexe erloschen. Vereinzelte agonale Atemzüge.
 4^a 19 tot.

2. Auswertung des Giftes aus der zum ersten Male mit inaktivierten Serum in Kontakt gewesenen Präzipitatquote.

Meerschweinchen No. 376, 360 g, erhält 4,0 dieses Abgusses intravenös.
 Keinerlei Symptome.
 5^a 10 Temperatur 37,2.
 6^a " 36,2
 8^a " 36,8. Bleibt am Leben.
 Am folgenden Morgen Temperatur 37,2.

Meerschweinchen No. 377, 250 g, erhält die gleiche Injektion wie das vorige.
 5^a 25 Injektion. Temperatur vorher 38,4. Keinerlei Symptome.
 5^a 40 Temperatur 37,0.
 6^a " 36,0.
 8^a " 34,8. Bleibt am Leben.
 Am folgenden Morgen Temperatur 36,0, munter.

Wir haben also im Gegensatz zu der ersten Präzipitatquote bei der Digerierung der zweiten in vollständiger Uebereinstimmung mit dem vorerwähnten Versuche XIV wiederum einen Abguß erhalten, der keinerlei subjektiv wahrnehmbare Symptome beim Meerschweinchen in Dosen hervorrief, die von der nur mit aktivem Serum in Kontakt gewesenen Quote sicher akut tödlich wirkten. Nur in einem Falle war Temperaturabfall zu konstatieren gewesen (Meerschweinchen No. 377).

Wie alle die vorstehenden Versuche ergeben haben, gelingt es also tatsächlich, durch intravenöse Injektion des mit Präzipitat in Kontakt

gewesenen Meerschweinchenserums ganz akut die schwersten Vergiftungserscheinungen beim artgleichen Tier hervorzurufen.

Wir haben für die aktive und ebenso für die passive Anaphylaxie angenommen, daß sich der Vergiftungsprozeß im wesentlichen an den Zellen abspielt, indem hier an den sessilen Eiweißantikörpern, entsprechend der für die Toxinüberempfindlichkeit zuerst von Kretz ausführlich entwickelten Anschauungen, das Antigen verankert und durch Zutritt des Komplementes das Anaphylatoxin gebildet wird. Die jetzigen Versuche zeigen aber zur Evidenz, daß die Bildung des Giftes jedenfalls auch ohne Beteiligung der Körperzellen *in vitro* erfolgen kann. Die Bindung wird freilich auch bei der Injektion des fertigen Anaphylatoxins in letzter Linie an den Zellen statt haben. Die kurze Inkubationszeit spricht bei der günstigen Art der Applikation in unseren Versuchen ja keineswegs gegen eine Wirkung auf die Zellen.

Die aktive und passive Anaphylaxie einerseits und die Vergiftungen durch Anaphylatoxin andererseits würden sich also nur dadurch unterscheiden, daß in einem Fall die Giftbildung erst nach Bindung des Antigens an den Zellen erfolgt, das andere Mal das fertige Gift in die empfindlichen Zellen gelangt.

Da nun vor allem auf Grund der Narkoseversuche von Besredka und überhaupt auf Grund des ganzen Symptombildes der Anaphylaxie zunächst eine Einwirkung des Giftes auf die Gehirnzellen bei der aktiven und passiven Anaphylaxie angenommen wird, so erschien es mir von Interesse, den Einfluß des von mir bei der Eiweißanaphylaxie gefundenen Anaphylaxie erzeugenden Reagenzglasgiftes auf das zentrale Nervensystem zu untersuchen. Es wurde dazu der giftige Abguß aus Versuch No. XVII benutzt, der, in Dosen von 3 ccm sicher krank machend, in der Dosis von 5 ccm akut tödende Wirkung hatte. Es war auf Grund meiner Anschauung wahrscheinlich, daß, direkt ins Gehirn gespritzt, dieses Gift eine intensivere Wirkung entfalte, auch in kleineren Mengen; die Injektion zu großer Flüssigkeitsmengen verbot sich ja von vornherein. Es wurden folgende Versuche angestellt.

XIX. Versuch.

Meerschweinchen No. 311, 320 g schwer, erhält 0,5 des Anaphylatoxins nach Trepanation der Schädeldecke intracerebral.

10. XII. 12^h 5 Injektion. Das Tier zeigt bald nach der Injektion leichte Krämpfe und Zwangsbewegungen (Manegebewegungen). Die Krämpfe sind jedoch von ganz anderem Charakter, als bei der Anaphylaxie. Tier ist bald wieder erholt.

1^h Temperatur 34,8.

4^h „ 35,7.

8^h „ 36,8. Bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 312, 240 g.

Injektion von 0,8 des gleichen giftigen Abgusses, wie voriges Tier intracerebral.

12^h 13 Injektion. Temperatur vorher 38,4. Tier zeigt keinerlei Symptome.

1^h Temperatur 36,2.

4^h „ 36,2.

8^h „ 38,8. Bleibt am Leben.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß ein von der Blutbahn aus akut wirkendes anaphylaktisches Gift bei der direkten Einspritzung ins Zentralnervensystem, allerdings in entsprechend geringeren Dosen, keinerlei Vergiftungserscheinungen hervorruft. Dieser Befund steht mit der auf die Versuche Besredkas gestützten Anschauung, wonach beim aktiv anaphylaktischen Tier die Vergiftung durch Fixation des Giftes an den Zellen des Zentralnervensystems selbst erfolgt, keineswegs im Widerspruch. Denn wenn auch die sessilen Antieweißkörper, die wir an den Nervenzellen sitzend annehmen dürfen, sehr wohl im stande sind, das Antigen zu verankern und so eine Giftbildung an den Zellen selbst erfolgen zu lassen, so braucht doch keineswegs deshalb auch das fertig gebildete Gift eine besondere Affinität zu allen Nervenzellen zu besitzen. Wenn es auch auf dem Blutwege an die empfindlichen Zellen herankommt, so ist es andererseits nicht anzunehmen, daß es, in irgend eine Stelle des Großhirns injiziert, gleichfalls dahin diffundiert.

Bei der völligen Identität, die, entsprechend der von mir aufgestellten Theorie, die Anaphylaxie mit den übrigen Immunitätsreaktionen zeigt, war es a priori auch zu erwarten, daß das anaphylaktische Gift Antigencharakter hat. Dafür

sprach auch seine Thermolabilität (Zerstörung bei 65 °). Es wurde deshalb eine Reihe von Meerschweinchen, die früher eine subletale Dosis des durch Meerschweinchenserum abgespalteten Giftes erhalten hatten, von neuem intravenös mit einer sicher tödlichen Dosis behandelt. Als Anaphylatoxin diente ein mit Präzipitat digeriertes Serum, von dem 3,0 bereits akuten Tod herbeiführten. Die Resultate bei den mit Gift einmal vorbehandelten Tieren zeigen die folgenden Protokolle.

XX. Versuch.

a) Meerschweinchen No. 273, 260 g, war am 8. XII. mit 2,0 des in Versuch X benutzten Anaphylatoxins vorbehandelt und zeigte damals nur leichte Erscheinungen.

21. XII. Reinjektion mit 5,0 des Giftes.

3^h 58 Injektion.

4^h schwere Krämpfe. Tier legt sich sogleich auf die Seite.

4^h 1 Reflexe erloschen.

4^h 2 tot.

b) Meerschweinchen No. 179, 370 g, war am 11. XI. intravenös behandelt mit 2,0 eines Anaphylatoxins. Temperatursturz damals 10 Minuten nach der Injektion bis 32,4. Diese Temperatur war noch nach einer Stunde erhalten, dann allmählich ansteigend.

22. XII. Reinjektion mit 4,0 des gleichen Giftes, wie das vorige Tier.

4^h 54 Injektion. Temperatur vorher 38,4.

5^h 57 Tier kratzt sich etwas und taumelt beim Gehen, matt, sonst keinerlei Symptome.

6^h munter.

6^h 15 Temperatur 36,4.

8^h „ 38,0. Bleibt leben.

c) Meerschweinchen No. 244, 300 g, 26. XI. intravenös vorbehandelt mit 3,2 ccm eines durch Meerschweinchenserum extrahierten Anaphylatoxins. Tier zeigte damals leichte Symptome.

22. XII. Reinjektion mit 3,5 des Giftes.

5^h 35 Injektion. Temperatur vorher 38,2.

5^h 37 das Tier taumelt, springt in die Höhe, wälzt sich, legt sich auf die Seite, schwere Krämpfe, agonale Atmung, Reflexe erhalten.

5^h 40 Tier ist wieder etwas erholt, sitzt aufrecht.

6^h Temperatur 35,4.

8^h „ 37,6.

Am folgenden Morgen Temperatur 38,2.

d) Meerschweinchen No. 186, 450 g, war am 13. XI. intravenös vorbehandelt mit 5 ccm eines wenig wirksamen Anaphylaxiegiftes.

22. XII. 6^a 20 Injektion von 3,0 ccm des gleichen Giftes, wie die vorigen Tiere.
6^a 23 Tier taumelt, schwere Krämpfe, wälzt sich, wirft sich auf die Seite.
6^a 24 agonale Atemzüge, Reflexe erloschen.
6^a 27 tot.
- e) Meerschweinchen No. 151, 440 g, intravenös vorbehandelt am 6. XI. mit 4,0 ccm eines wenig wirksamen Giftes. Er hatte keinerlei Symptome gezeigt, nur Temperaturabfall um 2 $\frac{1}{2}$ Grad.
22. XII. Reinjektion mit 5,0 des im vorhergehenden Versuche (No. XIX) benutzten Giftes, das in der Dosis von 5,0 akut tötete.
6^a 30 Injektion. Temperatur vorher 38,6.
6^a 32 Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.
6^a 33 schwere Krämpfe. Vereinzelte Atemzüge. Reflexe erloschen.
6^a 38 tot.

Die Versuche geben kein klares Bild; bei der Mehrzahl der Fälle ist von einer antitoxischen Wirkung nichts zu spüren. Die zum zweiten Male behandelten Tiere starben genau zu der gleichen Zeit, wie die Kontrollen und ohne daß im Symptomenbild ein merklicher Unterschied bestand. Ein Tier kam nach dem Ueberstehen einer schweren Vergiftung gerade noch mit dem Leben davon; nur in einem einzigen Falle ist ein mit der sicher tödlichen Dosis vorbehandeltes Tier ohne wesentliche Symptome am Leben geblieben. Es ist auffallend, daß es sich hier um dasjenige Tier handelt, welches bei der Vorbehandlung seinerzeit die stärksten Vergiftungserscheinungen gezeigt hatte (Temperaturabfall bis auf 32,4).

Vielleicht werden bei einer planmäßigeren, wiederholten Vorbehandlung der Meerschweinchen mit untertödlicher Giftdosis und bei kürzeren Intervallen bis zur Reinjektion die Resultate sich günstiger gestalten. Ich behalte mir vor, demnächst über derartige Versuche zu berichten, ebenso über Versuche zur Gewinnung eines passiv übertragbaren Antitoxins durch längere Vorbehandlung größerer Versuchstiere.

Fassen wir die Resultate der Versuche über Anaphylatoxin zusammen, so ergibt sich folgendes.

- 1) Bei Einwirkung von normalem Meerschweinchenserum auf Präzipitat nimmt dieses Meerschweinchenserum giftige

Eigenschaften an. Das gebildete Anaphylatoxin ist imstande, bei normalen Meerschweinchen, intravenös injiziert, Anaphylaxie zu erzeugen.

2) Die Bildung des Anaphylatoxins erfolgt schon bei einer kurzen Einwirkung des Komplementserums auf das Präzipitat.

3) Bei der Behandlung der Präzipitate mit Kochsalzlösung oder mit inaktivierten normalem Meerschweinchenserum wird kein akut wirkendes Anaphylatoxin gebildet.

4) Im Verlauf der durch Anaphylatoxin hervorgerufenen Anaphylaxie findet nur ein minimaler Komplementschwund statt.

5) Durch Erhitzen des Anaphylatoxins auf 65° wird seine giftige Wirkung aufgehoben.

6) Bei direkter Injektion ins Gehirn wirkt das Anaphylatoxin nicht stark giftig.

7) Die Bildung eines Antitoxins gegen das Anaphylatoxin ist mir bisher noch nicht einwandfrei gelungen, jedoch ist sie wahrscheinlich.

8) Ist ein Präzipitat vorher mit inaktivem Meerschweinchenserum digeriert worden, so findet bei nachherigem Zusatz von aktivem Meerschweinchenserum zum Präzipitat keine oder nur eine unvollkommene Giftbildung statt. (Komplementoidverstopfung?)

II. Ueber die Anaphylaxie auslösende Wirkung von Antieiweißseris beim Meerschweinchen.

In meiner dritten Mitteilung hatte ich kurz Versuche erwähnt, bei denen es mir gelungen war, durch Vorbehandlung von aktiv anaphylaktisierten Meerschweinchen mit größeren Mengen Kanincheneiweißserums die Tiere vor der Wirkung nachheriger Injektion des betreffenden Antigens zu schützen. Im nachstehenden bringe ich einige hierher gehörige Versuche, denen allerdings, wie in der vorzitierten Arbeit erwähnt, eine große Reihe negativer gegenüberstehen.

XXI. Versuch.

Am 16. IX. wird eine Reihe von normalen Meerschweinchen mit 0,01 Hammelserum subkutan vorbehandelt, am 13. X. wird Hammelserum intravenös reinjiziert. Es ergibt sich, daß 0,05 Hammelserum bereits den akuten Tod an typischer Anaphylaxie zur Folge hatten (Tiere von ca. 400 g).

13. X. Meerschweinchen No. 9, 300 g, erhält 0,05 Hammelserum intravenös.
 4^b 54 Injektion.
 4^b 55 typische schwere Anaphylaxie.
 4^b 57 tot.
14. X. Meerschweinchen No. 21, 450 g, erhält die gleiche Dosis des gleichen Serums.
 11^b 43 Injektion.
 11^b 44 schwerste Anaphylaxie.
 11^b 47 tot.
14. X. Meerschweinchen No. 16, 420 g. Dosis wie voriges.
 12^b 17 Injektion.
 12^b 18 beginnende schwere Anaphylaxie.
 12^b 21 tot.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß eine Reinjektionsdosis von 0,05 den sichern Tod der Versuchstiere an schwerer Anaphylaxie bedingte. Ganz anders waren dagegen die Erscheinungen teilweise, wenn gleich schweren Tieren derselben Serie vorher präzipitierendes Serum injiziert wurde.

13. X. Meerschweinchen No. 15 erhält unmittelbar nach dem Kontrolltier No. 9 5^b 8 2,0 eines in der Verdünnung 1:20 000 noch prompt präzipitierenden Kaninchen-Antihammelserums. Nach 10 Minuten treten bei diesem Tiere Krämpfe auf, ganz vom Typus der anaphylaktischen. Das Tier ist aber bald erholt.

6^b 0,05 Hammelserum intravenös. Keine Symptome. Tier ist jedoch am anderen Morgen tot.

14. X. 11^b Meerschweinchen No. 25, 430 g, erhält 2,0 des Kaninchenantihammelserums intravenös.

1^b 5 0,05 Hammelserum intravenös. Tier ist nach der Operation matt, zeigt aber sonst keine Symptome.

14. X. Meerschweinchen No. 23, 370 g.

12^b 35 Vorbehandlung wie vorige.

1^b 23 Injektion von 0,05 Hammelserum intravenös.

1^b 25 schwere Anaphylaxie.

1^b 27 tot.

Es ist also in 2 Fällen gelungen, durch die Vorbehandlung mit präzipitierendem Serum Meerschweinchen vor der Reinjektion mit einer Dosis von Hammelserum zu schützen, der die Kontrollen sicher unterlagen, während in einem dritten Falle das präparierte Tier sich nicht anders verhielt als die Kontrollen. Aehnliche Resultate habe ich noch in einer Reihe weiterer Versuche erhalten, die hier kurz angeführt seien.

XXII. Versuch.

Am 14. X. wird eine Serie Meerschweinchen mit 0,01 Hammelserum subkutan präpariert. Die Prüfung dieser Tiere am 25. X. ergab, daß eine Reinjektionsdosis von 0,02 Hammelserum auf 100 g Tier Tod an akuter Anaphylaxie bewirkte und 0,01 pro 100 g Tier deutliche Symptome hervorrief. Während bei diesen Dosen von 0,02 resp. 0,03 auf 100 g Tier in jedem Falle die Tiere (7) an akuter Anaphylaxie eingingen, gelang es wiederum in einigen Fällen, die mit präzipitierendem Serum vorbehandelten Tiere am Leben zu erhalten. Das in diesem Versuche benutzte präzipitierende Serum stammt von dem Kaninchen 99. Ueber die Vorbehandlung dieses Tieres siehe oben.

XXIII. Versuch.

Aktiv anaphylaktische Meerschweinchen. Vorbehandelt am 14. X. Reinjektion am 25. X.

a) Kontrollen.

Meerschweinchen No. 59, 0,01 Hammelserum auf 100 g Tier, deutliche Anaphylaxie. Bleibt leben.

Meerschweinchen No. 62, gleiche Dosis. Typische, schwere Anaphylaxie. Tot in 5 Minuten.

Meerschweinchen No. 54, 0,03 Hammelserum auf 100 g Tier. Typischer Tod in 4 Minuten.

Meerschweinchen No. 57, 0,03 dgl. Typischer Tod in 3 Minuten.

In ganz analoger Weise verliefen diejenigen Kontrollversuche, in denen eine Vorbehandlung mit normalem Kaninchenserum stattfand.

25. X. Meerschweinchen No. 50.

6^h 47 2,0 normales Kaninchenserum intravenös.

7^h 0,03 Hammelserum auf 100 g Tier. Tot in 4 Minuten.

Meerschweinchen No. 52.

5^h 18 2,5 normales Kaninchenserum intravenös.

5^h 36 0,02 Hammelserum pro 100 g Tier. Typische Anaphylaxie und Tod in 4 Minuten.

Meerschweinchen No. 56.

5^h 59 2,5 normales Kaninchenserum.

6^h 11 0,3 Hammelserum. Typische Anaphylaxie und Tod in 5 Minuten.

26. X. Meerschweinchen No. 65.

5^h 20 2,5 normales Kaninchenserum intravenös.

5^h 45 0,02 Hammelserum auf 100 g Tier. Typischer Tod in 3 Minuten.

Meerschweinchen No. 67.

5^h 35 2,0 normales Kaninchenserum intravenös.

5^h 50 0,015 Hammelserum auf 100 g Tier. Typischer Tod in 5 Minuten.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß die Reinjektionsdosis von 0,02 bzw. 0,03 in allen Fällen für die aktiv anaphylaktischen Tiere letal war, und daß die vorherige Behandlung mit normalem Kaninchenserum keinen Einfluß auf den Ablauf der Anaphylaxie hatte. Dagegen gelang es mir wiederum, bei einigen Tieren durch die Vorbehandlung mit präzipitierendem Serum die Anaphylaxie zu verhüten.

Im nachstehenden folgen diese Versuche.

25. X. Meerschweinchen No. 60, 340 g.

3^a 31 2,5 Serum von Kaninchen No. 99 intravenös.

3^b 46 0,03 Hammelserum pro 100 g Tier.

3^b 50 Tier etwas matt, Atmung beschleunigt aber sonst keine Symptome. Tier bleibt bis zum Abend leben, am anderen Morgen tot.

25. X. Meerschweinchen No. 58, 340 g.

3^a 40 2,5 Antihammelserum von Kaninchen No. 88 intravenös.

3^a 56 0,03 Hammelserum pro 100 g Tier.

4^a Ganz leichte Krämpfe.

4^a 3 Tier wieder völlig erholt, nur noch etwas matt, bleibt leben, stirbt am anderen Tage.

Diesen beiden Versuchen, in denen es mir gelang, die Meerschweinchen vor der akuten Anaphylaxie zu bewahren, stehen in der gleichen Serie eine Reihe negativer gegenüber, in denen zwischen den vorbehandelten Tieren und den Kontrolltieren keine Unterschiede zu bestehen schienen. Allerdings war das Intervall bis zur Reinjektion zum Teil etwas kürzer. Es schwankte zwischen 3 und 12 Minuten, doch war auch bei der Reinjektion nach 15 bzw. 20 Minuten der Erfolg einige Male negativ. Im ganzen stehen in dieser Versuchsserie 2 positiven Tieren 9 negative Resultate gegenüber. Wir haben aber immerhin in ca. 20 Proz. der Fälle die akute Anaphylaxie durch die Vorbehandlung verhüten können, während die Kontrollen, wie sich aus dem Vorhergehenden ergibt, in 100 Proz. unter den gewählten Versuchsbedingungen der akuten Anaphylaxie prompt erlagen.

Eine deutliche Schutzwirkung durch das präzipitierende Serum ist auch in dem folgenden Versuch zu verzeichnen.

XXIV. Versuch.

Kontrolle.

18. XI. Meerschweinchen No. 116, 320 g, am 26. X. mit 0,01 ccm Hammelserum präpariert, erhält 7^h 30 7 mg Hammelserum pro 100 g Tier.
7^h 32 schwache Krämpfe, springt hoch, wirft sich auf die Seite.
7^h 35 Reflexe erloschen. Tot.
- Meerschweinchen No. 111, der gleichen Serie wie voriges, 400 g, erhält 6^h 14 2,5 präzipitierendes Mischserum Kaninchen 1, 2, 3 intravenös.
Das Tier ist deutlich aber leicht krank.
- 7^h Injektion von 0,01 Hammelserum auf 100 g Tier. Keinerlei Symptome mehr, doch stirbt das Tier in der Nacht.

Analoge Resultate, wie sie im vorstehenden bei der aktiven Anaphylaxie gezeitigt wurden, konnten auch bei passiv anaphylaktischen Meerschweinchen erzielt werden. Auch hier gelang es, einzelne Tiere durch entsprechende Präparierung zu retten, bei Reinjektionsdosen, denen die Kontrollen in 100 Proz. erlagen. Im nachstehenden seien einige hierhergehörige Protokolle angeführt.

XXV. Versuch.

22. X. Meerschweinchen No. 95 bis 98 erhalten 0,2 Antihammeleiweiß-Kaninchenserum 99 pro 100 g Tier intraperitoneal.

Die Prüfung auf passive Anaphylaxie am nächsten Tage ergab folgendes.

a) Kontrollen.

23. X. Meerschweinchen No. 95, 250 g, 0,02 Hammelserum pro 100 g Tier.
Tod an typischer Anaphylaxie in 8 Minuten.
- Meerschweinchen No. 96, 270 g, 0,01 Hammelserum pro 100 g Tier. Tod an typischer Anaphylaxie in 6 Minuten.

b) Meerschweinchen No. 98.

- 1^h 20 2,0 Kaninchenserum No. 99 intravenös.
1^h 49 0,01 Hammelserum pro 100 g Tier.
1^h 54 Tier ganz munter, nur etwas matt.
1^h 58 Tier läuft wieder im Käfig herum. Am folgenden Tage tot.

Analog verlief ein weiterer Versuch.

XXVI. Versuch.

23. X. Meerschweinchen No. 99 bis 104 erhalten 0,15 Antihammeleiweiß-Kaninchenserum No. 99 auf 100 g Tier intraperitoneal.
24. X. Reinjektion mit Hammelserum.

a) Kontrollen.

- Meerschweinchen No. 102, 230 g, 0,025 Hammelserum auf 100 g Tier.
Typische Anaphylaxie und Tod in 8 Minuten.

Meerschweinchen No. 101, 220 g, 0,015 Hammelserum pro 100 g Tier.
Typische Anaphylaxie, Tod in 5 Minuten.

Meerschweinchen No. 100, 0,005 Hammelserum pro 100 g Tier. Typische schwere Anaphylaxie, bleibt leben.

b) Meerschweinchen No. 104, 200 g.

1^h 9 2,0 Kaninchenserum No. 99 intravenös.

1^h 45 0,025 Hammelserum pro 100 g Tier.

1^h 50 Tier etwas matt, sonst aber munter, stirbt in der Nacht.

Meerschweinchen No. 99, 210 g.

1^h 22 Vorbehandlung wie voriges.

1^h 57 Hammelserum wie voriges.

2^h deutliche Krämpfe. Tier legt sich auf die Seite.

2^h 3 tot.

Es war also auch hier wiederum gelungen, mit einem sicheren Multiplum der letalen Dosis in einem Falle beim passiv anaphylaktisch gemachten Tier durch Vorbehandlung mit präzipitierendem Serum die Anaphylaxie zu verhüten.

In der vorigen Arbeit hatte ich für diese schützende Wirkung von Antieißseris die Annahme gemacht, daß ein Ueberschuß von Antieißserum in der Blutbahn, wie er ja durch die intravenöse Vorbehandlung mit dem präzipitierenden Serum erzeugt wird, das reinjizierte Eiweiß vor dem Zutritt zu den Zellen abfange und damit die Anaphylaxie verhüte. Freilich war es schwer zu verstehen, weshalb nur in wenig Fällen der Schutz durch das präzipitierende Serum unter diesen Umständen in Erscheinung trat.

Nun habe ich im ersten Versuche (siehe Protokolle) und auch in einer Reihe weiterer die Beobachtung gemacht, daß die intravenöse Präparierung mit dem Antieißserum bei den Meerschweinchen zuweilen Krampferscheinungen auslöste, die mit denen der Anaphylaxie unverkennbare Aehnlichkeit besaßen. Im weiteren Verlauf dieser Versuche habe ich derartige Erscheinungen mit den präzipitierenden Seris noch in ausgedehnterem Grade gesehen. Es zeigte sich nämlich, daß unter Umständen schon das präzipitierende Serum allein beim aktiv präparierten Tier nicht nur, wie das bei den früheren Seris beobachtet wurde, typische Krämpfe hervorrief, sondern auch in relativ kleinen Dosen den akuten anaphylaktischen Tod.

Im nachstehenden folgen einige hierher gehörige Experimente.

XXVIII. Versuch.

Die in diesem Versuch benutzte Meerschweinchenserie 105—120 war am 26. X. mit 0,01 Hammelserum subkutan vorbehandelt. Bei der Reinjektion am 15. XI. erwiesen sich 5 mg als akut tödlich, 3 mg pro 100 g Tier als die sicher krankmachende Dosis. Bei der intravenösen Präparierung eines Tieres dieser Serie ergab sich nun, daß 2,5 ccm eines präzipitierenden Antihammel-Eiweiß-Kaninchenserums No. 38 typische Anaphylaxie mit Exitus hervorriefen.

16. XI. 5^h 40 Meerschweinchen No. 112, 430 g, erhält 2,5 Serum Kaninchen 38. Sofort nach der Abspannung schwere Krämpfe. Tier wirft sich auf die Seite, wälzt sich, agonale Atmung.
 5^h 43 Reflexe erloschen.
 5^h 45 tot.

Das gleiche Resultat wurde zwei Tage später bei Tieren der gleichen Serie erzielt, mit einem andern präzipitierenden Serum, dem Mischserum K. 1—3.

Meerschweinchen No. 115, 400 g, erhält 2,5 Serum Kaninchen 1—3.

- 6^h 30 Injektion. Sofort nach der Einspritzung Sprünge. Schwere anaphylaktische Krämpfe. Tier legt sich auf die Seite.
 6^h 33 Reflexe erloschen.
 6^h 36 tot.

Meerschweinchen No. 117, 300 g.

- 7^h 2,0 wie voriges intravenös.
 7^h 1 schwere Krämpfe.
 7^h 2 Tier legt sich auf die Seite. Vereinzelte agonale Atemzüge und Krämpfe.
 7^h 5 tot.

Daß wir in dieser Menge die Grenzdosis des giftig wirkenden Serums vor uns hatten, zeigt das vorher aufgeführte Meerschweinchen No. 111 (Versuch XXIV), bei dem die Dosis von 2,5 ccm nur leichte anaphylaktische Erscheinungen hervorgerufen hatte. Die Resultate dieser Versuche waren höchst auffallend. Ich habe zwar wiederholt Gelegenheit gehabt, bei der durch intraperitoneale Injektion präzipitierender Sera bewirkten Präparierung zur passiven Anaphylaxie zu beobachten, daß die Tiere nach der Injektion matt waren, beschleunigte Atmung, zeigten, daß hier und da auch einige Tiere innerhalb der 24-stündigen Vorbereitungsperiode eingingen, aber wegen der weniger eingreifenden Applikationsweise (intraperitoneal) und

der kleineren Dosis waren Krämpfe oder akuter Tod doch nie zur Beobachtung gelangt.

Die nunmehr bei intravenöser Injektion erzielten Resultate veranlaßten mich, die Erklärung, die ich in der vorigen Arbeit für die schützende Wirkung präzipitierender Sera bei anaphylaktischen Tieren gegeben hatte, wieder zu verwerfen.

Die Tiere dieser Serie waren so hochgradig anaphylaktisch, daß, wie wir aus den Kontrollversuchen gesehen haben, Dosen von 5 mg akuten Tod an Anaphylaxie herbeiführten. Das Antihammel-Eiweißserum, welches diesen Tieren zum Teil gegeben wurde, war durch mehrmalige Injektion von Hammelserum an Kaninchen gewonnen worden. Wenn in einem derartigen Kaninchenorganismus Reste von Hammeleiweiß zurückgeblieben waren, so war es sehr wohl möglich, daß sie bei einem aktiv präparierten Tier einmal eine partielle Absättigung der spezifischen Rezeptoren bewirkt hatten (Antianaphylaxie), ein anderes Mal aber auch bei einem empfindlichen Tier und in großen Mengen infolge ihres Hammel-eiweißgehaltes aktive Anaphylaxie erzeugen konnten. So wird es uns verständlich, weshalb in einzelnen Versuchen diese Sera die aktiven Tiere leicht krank machten, aber zugleich anti-anaphylaktisch, und so die Tiere vor den Folgen der zweiten Hammelseruminjektion schützen, während andererseits größere Dosen vermöge ihres stärkeren Restgehaltes an homologem Eiweiß die Anaphylaxie ebensogut auslösten wie natives Hammelserum an sich.

Daß in einem Serum Antigen und Antikörper nebeneinander auftreten können, ohne miteinander in Reaktion zu treten, ist ja eine in der Immunitätslehre bekannte Tatsache. Im Nachstehendem soll gezeigt werden, daß auch rechnerisch bezüglich der Anaphylaxie auslösenden Wirkung die zahlenmäßigen Verhältnisse mit unserer Vorstellung durchaus zu vereinen sind. Bei dem Kaninchen 38 z. B. war am 26. November 2,5 ccm Hammelserum intravenös gegeben worden, nachdem etwa einen Monat vorher 1,0 Hammelserum vorausgegangen war. Wenn wir allein die zweite Injektion in Rechnung setzen wollen und annehmen, daß beim Gewicht des Tieres von 2 kg und rund 100 ccm Serum ursprünglich pro 1 ccm Serum 0,025 Hammelserum vorhanden waren, so bestände immerhin die Möglichkeit,

daß nach 8 Tagen davon noch $\frac{1}{7}$, das sind etwa 0,0035 pro 1 ccm übrig geblieben sind, was in 2 ccm 7 mg entspricht, eben jener Dosis, die nach den Kontrollen noch hinlänglich ausreicht, die akute Anaphylaxie zur Auslösung zu bringen. Wir dürfen aber nicht vergessen, daß in einem solchen Serum neben dem Antigen ja auch der Antieweißkörper in großen Mengen vorhanden ist, und so wird es ohne weiteres verständlich, daß derartige Sera nicht nur bei aktiv präparierten Tieren, sondern in entsprechender Menge bei intravenöser Injektion auch bei Normaltieren Anaphylaxie auslösen¹⁾.

Allerdings ist bei diesen Versuchen stets die Giftigkeit, die dem normalen Kaninchenserum für das Meerschweinchen zuweilen zukommt, zu berücksichtigen. Mit 5,0 normalen Kaninchenseras vermochte z. B. ich häufig, zuweilen aber auch noch mit 4 ccm Meerschweinchen von 250 g innerhalb von 10 Minuten unter Krämpfen zu töten, während die in den obigen Versuchen benutzte Dosis von 2,5 ccm stets vertragen wurde; vergl. auch die Kontrollversuche von p. 666. Die Dosen von präzipitierendem Serum aber, welche bei normalen Tieren akute Anaphylaxie bewirken, sind oft mehr als 20mal geringer.

Nachdem schon in der II. Mitteilung mit Hartoch die Komplementabnahme durch die einfache intraperitoneale Injektion von präzipitierendem Serum beschrieben worden war, ist es ja ohne weiteres verständlich, daß auch bei der intravenösen Behandlung von normalen Meerschweinchen mit präzipitierenden Kaninchenseras stets eine beträchtliche Komplementabnahme eintritt.

Daß die Anaphylaxie durch Injektion von Antieweiß-Kaninchenseras tatsächlich nur auf deren Gehalt an Antigen und Antikörper zurückzuführen ist, und nicht etwa ein Uebergreifen der Reaktion auf das Eiweiß einer vom Hammel so entfernten Tierspecies wie das Meerschweinchen statthat, ergibt sich wohl sicher daraus, daß auch ganz schwach präzipitierende, nach einmaliger Vorbehandlung mit Hammelserum ge-

1) Die Anaphylaxie auslösende Wirkung normaler Sera ist in jüngster Zeit auch von meinem ehemaligen Schüler Hartoch beschrieben worden.

wonnene Antisera in kleinen Dosen anaphylaxieauslösend wirken. So bewirkte z. B. das Serum eines mit 0,5 Hammelserum pro 100 kg Tier gespritzten Kaninchens, von dem vorher 3,0 ccm vertragen wurden, nach 13 Tagen in einer Dosis von 0,25 bereits akute Anaphylaxie und exitus; das Serum präzipitierte zu dieser Zeit das homologe Eiweiß in Verdünnung 1:100.

Ferner spricht für meine Annahme die Tatsache, daß es auch mit Antieißseris von Meerschweinchen gelingt, artgleiche Tiere bei der intravenösen Zufuhr genügend großer Dosen mit akuter Anaphylaxie zu töten.

Allerdings scheinen für derartige Versuche nicht Sera von einmal mit kleinen Dosen vorbehandelten Meerschweinchen geeignet zu sein, sondern es ist offenbar eine wiederholte Vorbehandlung der Tiere nötig. Als Beispiel führe ich den folgenden Versuch an.

XXVIII. Versuch.

Meerschweinchen No. 175 ist mit Hammelserum wie folgt vorbehandelt:

- 9. XI. 0,01 subkutan.
- 17. XI. 0,5 intravenös.
- 23. XII. wird das Tier entblutet.

Meerschweinchen No. 387, 220 g, erhält 5,0 Serum dieses Tieres intravenös.

- 6^h 47 Injektion. Temperatur vorher 38,2. Sofort schwere Krämpfe. Das Tier legt sich auf die Seite, wälzt sich, Atmung sehr beschleunigt.
- 6^h 25 erhebt sich wieder, ist etwas erholt.
- 7^h Neue schwere Krämpfe.
- 7^h 5 tot.

Meerschweinchen No. 384, 250 g, erhält 3,0 desselben Serums.

- 5^h Injektion. Keine deutlichen Symptome, bleibt leben.

Wir sehen also aus diesem Versuche, daß in der Tat das artgleiche Antieißserum imstande ist, bei intravenöser Injektion in geeigneten Dosen typische und schwere Anaphylaxie hervorzurufen.

Wenn meine Vorstellungen über die toxische Wirkung des Antieißserums an sich richtig waren, so mußte demgemäß auch durch Präparierung mit untertödlichen Dosen

eines derartigen Serums sich bis zu einem gewissen Grade eine Antianaphylaxie erzeugen lassen. Mit anderen Worten, die Präparierung mit subletalen Dosen eines Antieißserums erzeugt nicht nur passive Anaphylaxie, d. h. Empfindlichkeit für die nachfolgende Injektion des entsprechenden Eiweißkörpers, sondern auch bis zu einem gewissen Grade Unempfindlichkeit für die Reinjektion toxischer Dosen des Antieißserums selbst. Wir hätten hier also für das Normaltier ganz ähnliche Verhältnisse wie wir sie soeben als Erklärung für die Tatsache angenommen haben, daß es durch Vorbehandlung mit großen Dosen von präzipitierendem Serum gelingt, bei dem aktiv anaphylaktischen Tier unter Umständen den anaphylaktischen Zustand aufzuheben.

Im nachstehenden folgt ein Versuch, der die Antianaphylaxieerzeugung durch präzipitierendes Serum bei passiv präparierten Tieren zeigt.

XXIX. Versuch.

21. XII. Eine Reihe von Meerschweinchen No. 368—373 war, wie folgt, mit Antihammeiweißkaninchenserum intraperitoneal vorbehandelt:

368	3,0	Serum Kaninchen 190
369	3,0	„
370	2,0	„
371	2,0	„
372	1,0	„
373	1,0	„

Das hier verwandte Kaninchen No. 190 hatte erhalten:

- 13. XI. 2,0 Hammelserum intravenös.
- 11. XII. die gleiche Dosis.
- 19. XII. entblutet.

Am 23. XII. wird bei den präparierten Tieren und bei entsprechenden Kontrollen die Giftigkeit eines präzipitierenden Serums, das aus einer Mischung des Serums 190 + eines in analoger Weise hergestellten Antieißhammelkaninchenserums (No. X) bestand, bestimmt. 3,0 dieses Mischserums bewirkte beim Kontrolltiere in jedem Falle allerschwerste Anaphylaxie.

a) Kontrolle.

Meerschweinchen No. 384, 250 g, erhält 3,0 des Mischserums.

5^h 20 Injektion. Temperatur vorher 38,2.

5^h 22 Tier taumelt, wirft sich auf die Seite, schwere Krämpfe.

5^h 23 Tier ist wieder etwas erholt.

5^h 35 Temperatur 36,2.

7^h 36 „ 36,2, bleibt leben.

Meerschweinchen No. 385, 240 g, erhält 3,0 wie voriges.

5^a 50 deutliche Krämpfe, anfangs leichte, aber immer stärker werdend.

6^a Tier legt sich auf die Seite, schwerste Krämpfe.

6^a Reflexe erloschen.

6^a 10 tot.

Meerschweinchen No. 388, 220 g.

6^a 43 Injektion wie voriges. Temperatur vorher 38,0.

6^a 45 Krämpfe.

6^a 47 Tier legt sich auf die Seite.

6^a 48 Reflexe erloschen.

6^a 50 tot.

Wir sehen also, daß 3,0 dieses Serums beim normalen Meerschweinchen die sicher krankmachende, resp. bereits tödliche Dosis darstellt. Ganz anders aber verhalten sich die zwei Tage zuvor präparierten Tiere.

b) Meerschweinchen No. 368, 250 g, erhält 3,0 wie vorige.

5^a 10 Injektion. Temperatur vorher 38,2.

5^a 13 Tier atmet etwas beschleunigt, sonst ohne Besonderheit.

5^a 25 Temperatur 35,4.

8^a „ 37,0, bleibt leben.

Meerschweinchen No. 375, 210 g, erhält 3,0 wie vorige.

5^a 30 Injektion. Keine Symptome bis auf geringe Atembeschleunigung.

5^a 40 Temperatur 36,0.

7^a „ 36,4.

8^a „ 36,8, bleibt leben.

Meerschweinchen No. 369 erhält 4,0 wie vorige.

6^a 35 Injektion.

6^a 40 Tier etwas matt, sonst keine Symptome.

7^a Temperatur 33,4. Am andern Morgen tot.

Meerschweinchen No. 371, 220 g, erhält 3,2 wie vorige.

7^a 5 Injektion. Temperatur vorher 38,4. Keine Symptome.

8^a Temperatur 36,6, bleibt leben.

Meerschweinchen No. 370, 210 g, erhält 3,5 wie vorige.

7^a 25 Injektion.

7^a 30 keinerlei Symptome.

8^a munter, Temperatur 37,0, bleibt leben.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß in keinem Falle diejenige Dosis, welche bei den Kontrolltieren typische Anaphylaxie und Tod hervorrief, bei den vorher mit Antieißserum behandelten Tieren mehr toxisch zu wirken imstande war.

Betrachten wir die Resultate dieser Versuche im Zusammenhang mit jenen, bei denen es uns in einzelnen Fällen gelungen war, durch vorherige Injektion präzipitierender Sera aktiv anaphylaktische Tiere vor den Folgen der Reinjektion zu schützen, so haben wir das paradoxe Verhalten, daß ein Antieißserum, welches das Meerschweinchen in den Zustand der passiven Anaphylaxie versetzt, unter geeigneten Versuchsbedingungen auch imstande ist, sowohl ein aktives wie ein passives Meerschweinchen antianaphylaktisch zu machen. Diese Eigenschaft beruht wohl auf dem Gehalt des Serums an Antigenresten, während das gleichzeitige Vorhandensein des homologen Antikörpers die Giftigkeit der Sera bedingt, und es scheint ganz von dem wechselnden Gehalt an beiden Komponenten und dem jeweiligen Verhalten des Versuchstieres abzuhängen, welche Wirkung zutage tritt.

Auch die Giftigkeit der Antieißsera des Kaninchens wie des Meerschweinchens dürfte von Fall zu Fall von dem quantitativen Verhältnis zwischen Antikörper und Antigengehalt abhängen.

Es ist nun ohne weiteres verständlich, daß ein Antieißserum, welches an sich noch nicht giftig ist, dann toxische Fähigkeiten bekommt, wenn man das betreffende Tier durch Antigeninjektion anaphylaktisch macht. Es muß das zutage treten, wenn man das Serum vor und nach Ausbruch der Anaphylaxie miteinander vergleicht. Es kommt dann eben zu der an sich bereits vorhandenen, aber nicht genügend toxischen Wirkung des Antieißserums noch die während der Anaphylaxie gebildete Quote von Anaphylatoxin hinzu. Ein derartiger Versuch mit einem an sich nicht toxischen Serum von anaphylaktischen Meerschweinchen sei im nachstehenden gebracht.

XXX. Versuch.

Meerschweinchen No. 206, 215, 218, die am 18. XI. mit 0,01, am 24. resp. 25. XI. mit 1,5 Hammelserum subkutan vorbehandelt waren, wird am 17. XII. etwas Blut aus der Carotis entnommen, dann werden die Tiere durch intravenöse Injektion von 1,0 Hammelserum hochgradig anaphylaktisch gemacht und in der Agone oder unmittelbar post mortem wird diesen Tieren wieder Blut entnommen. Das Mischserum vor und nach der anaphylaxieauslösenden Injektion wird auf seinen Giftgehalt geprüft. Im Gegensatz zu dem Versuch XXVIII zeigt das Serum vorher keine toxische Wirkung, wie sich dies aus den nachstehenden Experimenten ergibt.

17. XII. Meerschweinchen No. 340, 200 g, erhält 5,0 des vor der Injektion entnommenen Mischserums der drei Tiere intravenös. Temperatur vorher 38,2.

6^h 18 Tier zeigt keinerlei Symptome.

6^h 40 Temperatur 37,0, bleibt leben.

Im Gegensatz dazu ist das nach der Reinjektion entnommene Serum hochgradig giftig für Meerschweinchen, wie das der folgende Versuch zeigt.

Meerschweinchen No. 340a, 240 g, erhält 5,0 des in der Agone den anaphylaktischen Tieren entnommenen Mischserums.

6^h 27 Injektion. Temperatur vorher 38,4. Sofort ist das Tier sehr krank.

6^h 30 Sprünge und schwere Krämpfe ungemein heftigen Charakters.

6^h 31 Diese Krämpfen dauern fort bis 6^h 34. Reflexe erloschen, vereinzelte agonale Atemzüge.

6^h 36 tot. Blutentnahme in der Agone.

Ein weiteres Tier, das 1,0 des gleichen Serums erhalten hatte, zeigt keinerlei Symptome. Daß hier die toxische Wirkung nicht nur auf das Anaphylatoxin allein zurückzuführen ist, sondern zum Teil wenigstens auch auf Antigen- und Antikörper¹⁾ des Meerschweinchenserums, ergibt sich auch daraus, daß bei den vergifteten Tieren im Gegensatz zu den mit reinem „Anaphylatoxin“ vergifteten ein völliger Komplementschwund zu verzeichnen ist. Die Auswertung des in der Agone entnommenen Serums ergab den in nachstehender Tabelle im Vergleich mit einem normalen Serum verzeichneten Wert.

Hämolytisches System wie bisher.

Menge des Komplements	Resultat mit	
	Normal-Meerschweinchenserum	Serum 340 a
0,1	komplett	trüb
0,08	„	„
0,06	„	Kuppe
0,04	„	0
0,02	„	0
0,01	Hauch	0

1) Wir wissen zwar aus den Untersuchungen von Scott, daß der Antikörper im Stadium der Anaphylaxie vollständig schwinden soll. Jedoch besteht nach den von mir in Gemeinschaft mit Joachim vorgenommenen Nachprüfungen zwar eine beträchtliche Reduktion („negative Phase“ — v. Dungern, Wright), aber doch nicht immer ein absoluter Schwund, und auch dann könnte sehr wohl der Antikörper durch die mit dem Antigen eingegangene Verbindung sich nur dem Nachweis entziehen.

Die gleiche toxische Wirkung des anaphylaktischen Meerschweinchen entnommenen Serums zeigen auch noch folgende Versuche.

XXXI. Versuch.

14. XII. Meerschweinchen No. 239, 290 g, No. 254, 270 g, No. 248, 240 g, am 26. XI. mit 1,0 Hammelserum subkutan vorbehandelt, werden am 14. XII. mit 0,3 bzw. 0,5 Hammelserum intravenös reinjiziert. Blutentnahme in der Agone.
14. XII. Meerschweinchen No. 323, 220 g, erhält 4,0 Serum der obigen 3 Tiere.
- 11^h 47 Injektion. Temperatur vorher 38,4.
- 11^h 49 Tier sehr schwer krank. Atmung beschleunigt (120 pro Minute).
- 12^h etwas erholt. Temperatur 34,4.
- 12^h 15 Tier liegt völlig matt auf der Seite. Hinterbeine gelähmt.
- 12^h 30 Temperatur 33,8.
- 1^h 26,0.
- 1^h 8 tot.

XXXII. Versuch.

14. XII. Vier Meerschweinchen, die am 18. XI. mit 0,01 Hammelserum subkutan vorbehandelt waren, werden am 22. resp. 23. XI. reinjiziert, und zwar erhalten Meerschweinchen No. 214, 320 g, No. 217, 290 g und No. 202, 330 g je 1,0, No. 219 0,5 Hammelserum. Blutentnahme in der Agone.

- Meerschweinchen No. 324, 200 g, erhält 5,0 des Serums dieser 4 Tiere.
- 1^h 23 Injektion. Temperatur vorher 38,2.
- 1^h 24 schwere Sprünge, Krämpfe. Tier wirft sich auf die Seite.
- 1^h 26 agonale Atmung. Reflexe erloschen. Blutentnahme in extremis.
- Meerschweinchen No. 325, 200 g, erhält 2,0, wie voriges Tier.
- 1^h 38 Injektion. Temperatur vorher 38,8. Tier bleibt munter, frißt bald.!
- 1^h 45 Temperatur 35,8.
- 2^h 20 36,4, bleibt leben.

Unter den gleichen Versuchsbedingungen kann das an sich ja für das Meerschweinchen sehr toxische präzipitierende Kaninchenserum einen solchen Grad der Giftigkeit annehmen, daß sogar die Uebertragung des Giftes von einem vergifteten Meerschweinchen auf weitere Tiere gelingt. Das zeigt der folgende Versuch.

XXXIII. Versuch.

13. XI. Kaninchen No. 5, ca. 1500 g schwer, am 26. XI. mit 1,0 Hammelserum intravenös vorbehandelt. Am 11. XII. erhält dieses Tier wiederum 1,0 Hammelserum intravenös. Sofort beginnt das Tier zu taumeln, zeigt schwere Krämpfe, wälzt sich, nach 2 Minuten sind die Reflexe erloschen. Nur noch vereinzelt Atemzüge. Blutentnahme post mortem aus dem noch gut pulsierenden Herzen¹⁾.

Es ist nach dem Vorstehenden ohne weiteres verständlich, daß größere Dosen dieses Serums giftig wirken. Ich führe folgendes Experiment an:

Meerschweinchen No. 317, 250 g erhält 5,0 obigen Kaninchenserums.

7^h 29 Injektion.

7^h 30 schwere Krämpfe. Tier wirft sich auf die Seite.

7^h 31 Reflexe erloschen. Vereinzelt agonale Atemzüge.

7^h 32 Blutentnahme in der Agone.

Interessant ist nun, daß auch wiederum das Serum dieses Meerschweinchens imstande war, einem normalen Tier der gleichen Species eingespritzt, bei diesem Anaphylaxie zu erzeugen.

Meerschweinchen No. 319, 230 g, erhält das Serum des vorhergehenden Tieres (2 ccm) intravenös.

7^h 49 Injektion. Temperatur vorher 38,4.

7^h 52 Tier liegt völlig matt auf der Seite, Atmung sehr beschleunigt, Beine scheinen gelähmt.

7^h 57 schwere Krämpfe.

7^h 59 Reflexe erloschen.

8^h 1 tot.

Wir haben aus dem Versuch No. XXX ff. deutlich gesehen, daß ein an sich wenig toxisches Serum stärker giftig wirkt, wenn man das betreffende Tier anaphylaktisch macht, d. h. also ihm eine Injektion des

1) Dieser Versuch zeigt, daß auch beim Kaninchen unter geeigneten Mengenverhältnissen Anaphylaxieformen auftreten, die sich in nichts in ihrem Symptomenbilde von denen des Meerschweinchens unterscheiden. Es sind Untersuchungen im Gange, für die Dosis zur Vorbehandlung die Reinjektionsdosis und namentlich das Intervall zwischen beiden die optimalen Bedingungen ausfindig zu machen. Eine Reihe von analog verlaufenen Versuchen sprechen dafür, daß unter gewissen Bedingungen eine Anaphylaxie beim Kaninchen erzeugt werden kann, die nicht nur bezüglich der Symptomenstärke, sondern auch bezüglich der Mortalität die gleich günstigen Resultate liefert, wie die des Meerschweinchens. Darüber soll demnächst berichtet werden.

homologen Antigens macht. Es lag nahe, den Prozeß, den das aktiv anaphylaktische Tier bei der Bildung dieses toxisch wirkenden Serums in seinem Organismus durchmacht, in das Reagensglas zu verlegen und auch hier durch Zusatz des entsprechenden Antigens und Komplements zu einem an sich unwirksamen Antieweißserums eine Giftwirkung zu erzielen.

Im nachstehenden folgen einige entsprechende Versuche.

XXXIV. Versuch.

11. XI. Je zweimal 1,5 des präzipitierenden Kaninchenserums 101 werden mit 8,0 normalen Meerschweinchenserums versetzt. Die Mischungen kommen eine Stunde in den Brutschrank, dann wird in dem einen Versuchsröhrchen (A) 0,2 Hammelserum zugesetzt. Das andere Röhrchen (B) bleibt ohne Zusatz von Hammelserum. Die Röhrchen kommen über Nacht in Eisschranktemperatur und werden am anderen Morgen zentrifugiert. Meerschweinchen No. 180, 220 g, erhält 2 cem des Abgusses von A.

6^h 18 Injektion. Temperatur vorher 37,4. Tier wird deutlich krank, beschleunigte Atmung, matt.

6^h 27 Temperatur 35,6.

7^h Temperatur 36,6.

9^h 15 Tier matt. Legt sich auf die Seite, stirbt.

Obwohl also die hier injizierte Dosis höchstens 0,02 des präzipitierenden Serums enthält, ist offenbar durch Zutritt des Antigens (Hammelserum) und in Gegenwart des Komplements soviel Gift abgespaltet worden, daß der subakute Tod des Tieres eintritt. Daß tatsächlich die Menge von 0,02 präzipitierendem Serum an sich nicht toxisch zu wirken vermag, zeigt der mit Abguß des Röhrchens B angestellte Kontrollversuch.

Meerschweinchen No. 181, 200 g, erhält 2,0 Abguß B.

6^h 40 Injektion. Temperatur vorher 37,9.

6^h 50 Temperatur 36,8.

7^h 30 Temperatur 36,6.

Tier bis dahin völlig munter, bleibt ohne Symptome. Lebt am anderen Morgen.

In ganz analoger Weise verlief ein mit dem gleichen Serum am folgenden Tage angestellter Versuch.

Daß bei dieser Versuchsanordnung auch dem Komplement in der Tat eine ausschlaggebende Rolle zukommt, zeigt der nachstehende Versuch.

Versuch XXXV.

23. XI. Es werden unter Benutzung des schon vorher erwähnten (Versuch No. XXVIII) Kaninchen - Antihammel - Eiweißserums No. 38 folgende Röhren angesetzt:

- A. 13,0 normales Meerschweinchenserum + 5,0 Serum 38.
- B. 13,0 physiologische Kochsalzlösung + 5,0 Serum von Kaninchen 38.
- C. 13,0 normales Meerschweinchenserum + 5,0 Serum von Kaninchen 38 (wie A).
- D. 13,0 Meerschweinchenserum + 5,0 physiologische Kochsalzlösung.

Die Röhren kommen für 3 Stunden in den Brutschank und dann wird zugesetzt zu A, B und D 0,6 Hammelserum, zu C statt dessen 0,6 physiologische Kochsalzlösung. Nochmals alle Röhren 1 Stunde in den Brutschank, dann über Nacht in Eisschranktemperatur, am anderen Morgen wird zentrifugiert und die Abgüsse werden auf ihre Giftigkeit geprüft. Meerschweinchen No. 222, 250 g, erhält 5,0 Abguß A.

- 5^h 59 Injektion, Temperatur vorher 38,8. Bald nach der Injektion Tier matt, auf den Rücken gelegt bleibt es liegen. Atmung beschleunigt, deutliche Dyspnoe.
- 6^h 10 Temperatur 36,4.
- 6^h 50 Tier liegt auf der Seite. Temperatur 35,2. Sehr schwer krank. Stirbt in der Nacht.

Meerschweinchen No. 226, 230 g, erhält die gleiche Dosis.

- 4^h 59 Injektion, Temperatur vorher 38,4. Sofort nach der Injektion hohe Sprünge, schwere Krämpfe. Tier wälzt sich, legt sich auf die Seite, vereinzelte agonale Atemzüge.
- 5^h 2 letzte Atemzüge, Reflexe erloschen.
- 5^h 5 tot.

25. XI. Meerschweinchen No. 227, 230 g, erhält 1,5 des Abgusses A.

- 5^h 45 Injektion, Temperatur vorher 38,4.
- 5^h 47 Tier beginnt zu springen.
- 5^h 48 starke Krämpfe.
- 5^h 50 legt sich auf die Seite, vereinzelte Atemzüge.
- 5^h 57 erholt.
- 6^h Temperatur 36,8.
- 8^h Temperatur 35,0, stirbt in der Nacht.

Wir haben also hier einen Abguß, der in der Dosis von 1,5 ccm beim Meerschweinchen noch sichere Krankheitssymptome und sogar verspäteten Tod herbeizuführen imstande ist. Im Gegensatz dazu zeigt der Abguß des Röhrens B, in dem das Komplement durch Kochsalzlösung ersetzt war, in keiner Weise eine entsprechende Giftigkeit, weil eben offenbar die Giftigkeit der zur Verwendung gelangenden Menge des Serums 38 allein nicht genügte und im übrigen kein Komplement da

war, um aus dem zugesetzten Hammelserum nach dessen Reaktion mit dem Präzipitin bereits in vitro Anaphylatoxin in Freiheit zu setzen.

Meerschweinchen No. 223, 290 g, erhält 5,0 des Abgusses B.

6^a 10 Injektion, Temperatur vorher 38,6. Tier völlig munter.

7^a Temperatur 37,4. Das Tier stirbt allerdings in der Nacht.

Es ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß nachträglich im Organismus eine Giftbildung aus dem Hammelserum und dem Antiserum unter Mitwirkung des Komplementes des Tieres statthat.

In einem weiteren Versuche traten auf Injektion des Abgusses von B überhaupt keinerlei Erscheinungen auf.

25. X. Meerschweinchen No. 230, 250 g.

6^a 26 die gleiche Injektion wie voriges Tier. Keinerlei Symptome.

8^a Temperatur 36,8, bleibt leben.

Zeigt dieser Versuch B, daß also bei unserer Versuchsanordnung zur Auslösung der akuten Wirkung die Gegenwart des Komplements in vitro unerläßlich ist, so ergibt sich aus dem folgenden Versuche, daß auch ohne Gegenwart des Hammelserums eine ausreichende Giftbildung nicht stattfinden kann.

Meerschweinchen No. 228, 230 g, erhält 5,0 des Abgusses C.

5^a 57 Injektion, Tier völlig munter.

6^a 22 Temperatur 36,4. Stirbt in der Nacht. (Verspätete Wirkung wohl durch das Serum Kaninchen 38 an sich.)

Daß die Mischung von normalem Meerschweinchenserum und Hammelserum allein nicht giftig ist, zeigt der folgende Versuch.

Meerschweinchen No. 229, 250 g, erhält 5,0 des Abgusses D.

6^a 9 Injektion, Temperatur vorher 38,6.

6^a 30 Tier bleibt völlig munter, frißt bald nach der Injektion.

6^a 30 Temperatur 37,4, bleibt leben.

Auch der folgende Versuch demonstriert die Bedeutung des Komplements für die Giftigkeit präzipitierender Sera.

XXXVI. Versuch.

Je 2mal 10,0 Serum Kaninchen G3 + 5 ccm Hammelserum werden versetzt in Versuch A mit 10,0 normalen Meerschweinchenserums, in Versuch B mit 10,0 auf 60° erhitzten Meerschweinchenserums. Beide Röhren

bleiben eine Stunde bei 37° und über Nacht bei Zimmertemperatur. Die Abgüsse werden auf ihre Giftigkeit geprüft.

Meerschweinchen No. 283, 220 g, erhält 5,0 Abguß A intravenös.

10^h 48 Injektion, Temperatur vorher 38,2.

10^h 49 Tier legt sich auf die Seite. Krämpfe.

10^h 53 tot. Blutentnahme post mortem aus dem noch pulsierenden Herzen.

Meerschweinchen No. 286, 230 g, erhält 5,0 Abguß A.

12^h 29 Injektion, Temperatur vorher 38,0.

12^h 30 Tier legt sich auf die Seite, vereinzelt Krämpfe, erschwerte Atmung.

12^h 32 Reflexe bereits erloschen, vereinzelt Atemzüge.

12^h 35 tot. Blutentnahme post mortem.

Meerschweinchen No. 284, 230 g, erhält 2,5 Abguß A.

11^h 6 Injektion, Temperatur vorher 38,4. Sofort nach der Injektion Krämpfe. Tier legt sich auf die Seite, erschwerte Atmung, richtet sich aber bald wieder auf, jedoch noch schwer krank.

11^h 25 Temperatur 34,2.

12^h „ 33,8.

4^h „ 37,0. Tier erholt sich, bleibt leben.

Im Gegensatz zu dem toxischen Abguß zeigt der Abguß B, wenn überhaupt, so nur eine minimale giftige Wirkung.

Meerschweinchen No. 288, 220 g, enthält 5,0 Abguß B intravenös.

10^h 43 Injektion. Temperatur vorher 38,4.

Das Tier ist vollständig munter bis 11^h 16. Jedoch Temperaturabfall auf 33,4.

4^h Temperatur noch 33,4.

8^h Temperatur noch 35,2. Tier erholt sich, bleibt leben.

Bei Tier 283 wurde nachher eine Komplementtitration des Serums vorgenommen, die ergab, daß das Komplement erst bei einer Dosis von 0,2 komplette Hämolyse hervorrief, während von einem Kontrollserum der Titer bei 0,01 lag. Wir haben also in diesem Falle wiederum im Gegensatze zu den Resultaten bei der Verwendung des Anaphylatoxins, wie nicht anders zu erwarten war, eine sehr beträchtliche Komplementverarmung zu verzeichnen.

Aus meinen Versuchen ergibt sich:

1) Es gelingt, sowohl bei aktiv wie bei passiv anaphylaktisch gemachten Tieren, durch eine Vorbehandlung mit Anti-eiweißserum den Ausbruch der Anaphylaxie bei der Reinjektion zu verhüten.

2) Es beruht das wohl darauf, daß der Restgehalt derartiger Sera an Antigen die Tiere antianaphylaktisch macht.

3) Doch ist es dem gleichzeitigen Gehalt eines solchen Serums an Antigen und Antikörper zuzuschreiben, daß die Sera bei präparierten Tieren nicht nur eine Antianaphylaxie, sondern unter Umständen auch eine akute Anaphylaxie auslösen.

4) Bei normalen Tieren kann natürlich durch derartige Sera nur die letztere Wirkung primär ausgelöst werden.

5) Daß die Anaphylaxie-auslösende Wirkung präzipitierender Sera auf ihrem Gehalt an Antigen und Antikörper zurückzuführen ist, ist deshalb höchst wahrscheinlich, weil die Auslösung der Erscheinung beim Meerschweinchen auch mit nur schwach präzipitierenden Kaninchenseris und auch mit artgleichen präzipitierenden Seris gelingt.

6) Bei der durch präzipitierendes Serum erzeugten Anaphylaxie findet ein sehr starker Komplementschwund statt.

7) Antieißsera, die an sich nicht toxisch sind, werden es, sobald das präparierte Tier anaphylaktisch gemacht ist.

8) In entsprechender Weise läßt sich auch im Reagensglas schwach toxisch wirkendes Antieißserum durch Zusatz von Antigen und Komplementserum wirksamer machen.

III. Der Einfluß der Verhinderung der Blutgerinnung auf die Anaphylaxie.

Biedl und Kraus sowie Richet haben zuerst beim Hunde beobachtet, daß während der Anaphylaxie die Gerinnbarkeit des Blutes aufgehoben ist, ähnlich wie bei der Peptoninjektion, und sie leiten daraus den Schluß ab, daß zwischen Peptonvergiftung und der Anaphylaxie gewisse Zusammenhänge bestehen, eine Ansicht, die auch durch die jüngsten Versuche von H. Pfeiffer eine Stütze erfahren hat. Um eine echte Peptonvergiftung handelt es sich bei der Anaphylaxie wohl kaum, aber vielleicht steht doch das von mir im ersten Teil dieser Arbeit in seiner Wirkung studierte hypothetische Anaphylatoxin dem Pepton in gewisser Beziehung nahe. Jedenfalls war es nicht ohne Interesse, zu sehen, ob die der Peptoninjektion und der Anaphylaxie identische Wirkung der Aufhebung der Blutgerinnungsfähigkeit irgendwie die

Anaphylaxie beeinflusse. Die Untersuchungen der vorerwähnten Autoren waren, wie bereits bemerkt, nur an Hunden angestellt worden. Beim Meerschweinchen, an dem ich ausschließlich experimentierte, lagen bisher Untersuchungen über den Einfluß der Anaphylaxie auf die Gerinnungsfähigkeit des Blutes überhaupt nicht vor. Einige darauf von mir in Gemeinschaft mit cand. med. Joachimoglu angestellte Vorversuche ergaben, daß die an sich ja sehr ausgesprochene Gerinnungsfähigkeit des Meerschweinchenblutes tatsächlich gleichfalls in der Anaphylaxie eine Abschwächung erfährt, die jedoch im Verhältnis zu der von Biedl und Kraus beim Hund beschriebenen als sehr gering zu bezeichnen ist. Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Kaninchen ¹⁾. Im nachstehenden folgen einige entsprechende Zahlen.

Gerinnungszeiten des Blutes aus der V. jugularis			
A. Bei aktiv anaphylakt. Meerschw.		B. Bei passiv anaphylakt. Meerschw.	
vorher	während der Anaphylaxie	vorher	während der Anaphylaxie
1'	3' 15"	2' 15"	3' 13"
3'	4' 45"	2' 30"	5' 20"
2' 15"	3' 40"		
1' 34"	2' 25"		
3' 10"	5' 25"		
2' 25'	5' 10"		
Aktiv anaphylaktische Kaninchen			
3' 26"	4' 35"		
3' 11"	5' 37"		
2' 49"	9' 4"		
3' 55"	6' 59"		

Nach den Untersuchungen, die Bodong im Laboratorium von Jacobj angestellt hat, beträgt die zur Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit notwendige Dosis beim Laboratoriumstier etwa 20—50 mg pro kg. Das Hirudin soll in diesen Dosen ohne weiteres vertragen werden. Ich selbst habe von einer 1-proz. Lösung des käuflichen Hirudins (bezogen von

1) Eine Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes findet bekanntlich auch bei der Erstickung statt. Da nun der Anaphylaxietod ein Erstickungstod ist, so erscheint es fraglich, ob die Verzögerung der Blutgerinnung nicht ein rein sekundäres Symptom ist.

Brückner & Lampe, Leipzig) in der Regel ca. 2 ccm der 1-proz. Lösung, d. h. also 0,02 Hirudin intravenös gespritzt. Das Gewicht der Tiere betrug im Durchschnitt 400 g. Das Hirudin ist in dieser Dosis imstande, die Gerinnung des Blutes für einige Stunden so gut wie vollständig aufzuheben.

Während nach den obigen Versuchen das normale Meerschweinchenserum im Durchschnitt etwa in 2 Minuten gerinnt, ergeben sich bei einem mit Hirudin behandelten Kontrolltier die folgenden Werte.

XXXVII. Versuch.

1. XII. 12^h 30 erhält normales Meerschweinchen, 400 g, 2,5 ccm der 1-proz. Hirudinlösung intravenös.
 - 1^a Blutentnahme. Gerinnungszeit 4—6 Stunden.
 - 3^b 30 Gerinnungszeit mehr als 7 Stunden.
 - 6^b 30 Tier entblutet. Gerinnungszeit wieder 2 Minuten.

Entsprechend den bereits von Jakob, Franz, Bodong erhobenen Befunden ergibt sich also, daß die Gerinnungsfähigkeit des Blutes sehr bald nach der Hirudininjektion aufgehoben ist, aber nach einigen Stunden bereits zur Norm zurückkehrt.

Daß das Hirudin nicht in jedem Falle in den hier angewandten Dosen für das Meerschweinchen indifferent ist, zeigt ein Kontrollversuch, in dem die Dosis von 0,02 Hirudin den Tod eines normalen Kontrolltieres herbeiführte.

XXXVIII. Versuch.

Meerschweinchen No. 127, 360 g, erhält am 1. XII. 11^h 45 2,0 Hirudinlösung, 1:100 intravenös. Das Tier zeigt sich nach einer Stunde matt und geht nach 4 Stunden unter leichten Krampferscheinungen ein.

Eine derartige toxische Wirkung wurde jedoch nur das eine Mal beobachtet¹⁾.

Ich habe nun bei aktiv anaphylaktischen Tieren durch Injektion von Hirudin die Gerinnungsfähigkeit des Blutes aufgehoben und bei solchen Tieren im Vergleich zu Kontrollen den Einfluß, den die sicher tötende Reinjektionsdosis auf den

1) Anmerkung bei der Korrektur: In einer eben erschienenen Arbeit berichtet auch Sievert über toxische Wirkung des Hirudins beim Kaninchen.

Verlauf der Anaphylaxie hat, studiert¹⁾. Die zu diesen Versuchen verwandten Tiere 123 bis 137 waren am 27. Okt. mit 0,01 Hühnerserum vorbehandelt. Die Prüfung auf den Grad der anaphylaktischen Empfindlichkeit mit frischem Hühnerserum am 18. Nov. ergab folgende Resultate.

Meerschweinchen No. 126, 440 g, erhält 5 mg Hühnerserum pro 100 g intrav.

- 4^b 25 Injektion. Temperatur vorher 38,6.
- 4^b 28 Tier kratzt sich, sonst keinerlei deutliche Symptome.
- 4^b 40 Temperatur 37,0.
- 5^b „ „ 32,4.
- 6^b 30 tot.

Meerschweinchen No. 125, 470 g, erhält 0,01 wie vorige.

- 4^b 5 Injektion.
- 4^b Krämpfe und Sprünge.
- 4^b 9 legt sich auf die Seite, agonale Atmung.
- 4^b 10 Reflexe erloschen.
- 4^b 11 tot.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß 0,005 g pro 100 g Tier die krankmachende und subakut tödliche, 0,01 g die sicher akut tödliche Dosis war. Eine Reihe von weiteren Tieren der gleichen Serie wurde nun mit Hirudin vorbehandelt und zu verschiedenen Zeiten mit Hammelserum nachgespritzt.

Meerschweinchen No. 130, 440 g, erhält

- 4^b 50 0,2 Hirudin.
- 4^b 51 0,02 Hühnerserum pro 100 g Tier.
- 4^b 55 Tier springt, wirft sich auf die Seite, Krämpfe bis 5^b. Tier liegt ruhig auf der Seite.
- 5^b 10 neue Krämpfe.
- 5^b 25 Tier vollständig matt, stirbt.

Meerschweinchen No. 124, 420 g, erhält

- 6^b 44 0,02 Hirudin intravenös.
- 6^b 47 0,01 Hühnerserum pro 100 g Tier.
- 6^b 49 Tier wirft sich auf die Seite, schwere Krämpfe.
- 6^b 53 tot.

Die Resultate waren nicht anders, wenn zwischen Hirudindosis und Reinjektion ein längeres Intervall lag, wenn also mit der Injektion gewartet wurde, bis die Gerinnungshemmung im Blut etwa ihr Maximum erreicht hatte.

1) Analoge Versuche sind soeben von Lesné und Dreyfus (Compt. rend. Soc. Biol., 1909, p. 440) kurz mitgeteilt worden. Der Autor ist zu einem mit dem meinigen übereinstimmenden Resultat gekommen.

Meerschweinchen No. 123, 420 g, erhält

5^h 8 0,02 Hirudin.

5^h 47 0,015 Hühnerserum pro 100 g Tier. Temperatur vorher 38,2.

5^h 49 Sprünge, Krämpfe.

5^h 51 Tier legt sich auf die Seite.

5^h 33 agonale Atmung.

5^h 55 tot.

Meerschweinchen No. 136, 400 g, erhält

5^h 35 0,02 Hirudin.

6^h 30 0,02 Hühnerserum pro 100 g Tier.

6^h 32 schwere Krämpfe.

6^h 35 Tier legt sich auf die Seite.

6^h 37 tot.

Es wurde nun noch eine zweite Versuchsreihe angestellt, in der unter Verwendung der gleichen Tierserie nur die einfache letale Dosis gegeben wurde und das Intervall zwischen Hirudininjektion und Seruminjektion noch größer gewählt wurde. Diese Versuche wurden am 1. Dez. angestellt mit Tieren der gleichen Serie wie die vorigen. Die Vorprüfung ergab, daß 0,01 g Hühnerserum pro 100 g in mehreren Versuchen akut tötete, während 7 mg nur leichte Erkrankung und geringen Temperatursturz hervorrief. Es wurde in allen Versuchen die einfache tödliche Dosis von 0,01 angewandt.

1. XII. **Meerschweinchen No. 133, 370 g, erhält**

4^h 22 2,0 Hirudin 1:100.

6^h 54 0,04 Hühnerserum.

6^h 55 sehr starke Krämpfe.

6^h 56 Tier legt sich auf die Seite. Reflexe erloschen.

6^h 59 tot.

Meerschweinchen No. 135, 350 g, erhält

4^h 37 2,0 Hirudins Serum 1:100.

7^h 8 0,01 Hühnerserum pro 100 g Tier.

7^h 9 sehr starke Krämpfe.

7^h 10 in der Agone entblutet.

Meerschweinchen, 460 g, erhält

11^h 15 3,0 Hirudin 1:100.

3^h 35 0,01 Hühnerserum pro 100 g Tier.

3^h 37 Krämpfe.

{ 3^h 40 vereinzelte Atemzüge. Tier liegt völlig matt bis

3^h 53 tot.

Auch ein längeres Intervall von 24 Stunden war gänzlich ohne Einfluß.

Meerschweinchen No. 137, 390 g, erhält

1. XII. 4^h 50 1,5 Hirudin 1:100 intravenös.
2. XII. 4^h 21 0,01 Hühnerserum pro 100 g Tier intravenös.
4^h 23 Krämpfe, Tier legt sich auf die Seite.
4^h 25 Reflexe erloschen. Vereinzelte agonale Atemzüge.
4^h 27 tot.

Es ergibt sich aus allen diesen Versuchen mit völliger Eindeutigkeit, daß die Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes durch das Hirudin bei der Anaphylaxie selbst gegenüber einem geringen Multiplum der tödlichen Dosis ohne Einfluß ist.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen:

- I. Ueber eine durch komplementhaltige Sera aus Präzipitaten abspaltbares „Anaphylatoxin“.
- II. Ueber die Einwirkung von Antieißserum auf normale und präparierte Meerschweinchen.
- III. Ueber den Zusammenhang zwischen Blutgerinnung und Anaphylaxie.

Die Resultate im einzelnen sind auf p. 663/64, 684, 689 näher zusammengefaßt.

Die Mittel zu den vorstehenden Untersuchungen verdanke ich der Gräfin Bose-Stiftung.

Literatur.

- Besredka, Annales Inst. Past., 1908.
 Biedl und Kraus, Wiener klin. Wochenschr., 1909.
 Bodong, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm., Bd. 52.
 Braun, Münch. med. Wochenschr., 1909.
 Doerr und Russ, Diese Zeitschr., Bd. 2; Bd. 3, p. 181, 706.
 Franz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm., Bd. 49.
 Friedberger, Diese Zeitschr., Bd. 2; Bd. 3, p. 692.
 Friedberger und Hartoch, Diese Zeitschr., Bd. 3, p. 581.
 Friedemann, Diese Zeitschr., Bd. 2.
 Hartoch, Petersb. med. Wochenschr., 1909.
 Jacoby und Schütze, Berl. klin. Wochenschr., 1909.
 Kretz, Zeitschr. f. Heilk., 1902.
 Richet, Compt. rend. Soc. Biol., 1909.
 Sievert, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap., Bd. 7, Heft 2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
 Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
 munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
 Dr. E. Friedberger).]

Weitere Untersuchungen über Eiweißanaphylaxie.

V. Mitteilung.

Gibt es eine passive Uebertragung der Meerschweinchen- anaphylaxie im präanaphylaktischen Stadium des aktiv präparierten Tieres?

Von Prof. Dr. E. Friedberger und Dr. J. L. Burckhardt (Basel).

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Dezember 1909.)

Die ersten Arbeiten über Anaphylaxie, die das Phänomen nur qualitativ studierten, haben eine Reihe von Tatsachen zutage gefördert, die eine Revision auf Grund unserer erweiterten Kenntnis und mit unserer verbesserten Methodik als wünschenswert erscheinen lassen.

Die Untersuchungen von Doerr und Russ lehrten uns zum ersten Male die Anwendung exakter quantitativer Methoden bei der Anaphylaxie, und die Arbeit dieser Autoren bedeutet so gewissermaßen einen Wendepunkt in der Anaphylaxieforschung.

Durch H. Pfeiffers Untersuchungen über den Temperatursturz bei der Anaphylaxie haben wir dann weiterhin ein ungemein bequemes objektives Symptom kennen gelernt, das uns von der subjektiven Beurteilung des Krankheitsbildes bis zu einem gewissen Grade frei macht.

Eine der auffallendsten Tatsachen, die in der Literatur bisher unwidersprochen sich findet und auch von keiner Seite nachgeprüft zu sein scheint, ist die Angabe Ottos (Münch. med. Wochenschr., 1907), daß aktiv vorbehandelte Meerschweinchen imstande sind, vermittels ihres Serums die Anaphylaxie passiv auf normale Tiere zu übertragen, noch ehe sie selbst in den anaphylaktischen Zustand eingetreten sind. Otto schreibt, „daß das Serum solcher überempfindlichen Tiere, die mit minimalen Dosen vorbehandelt waren, schon dann für andere Tiere, wenn auch nur in ge-

ringem Grade, anaphylaktisierend wirken kann, wenn die Serumspender selbst noch nicht überempfindlich waren, daß also auch diese später hoch überempfindlichen Tiere die kurze Zeit von einigen Tagen eine refraktäre Periode durchmachten“.

Er unterscheidet direkt eine Periode, „wo das Blut anaphylaktisierend wirkende Körper enthält, aber die Tiere selbst noch nicht überempfindlich sind“, und behauptet weiter, daß diese Periode „bei den mit minimalen Dosen vorbehandelten Tieren nur angedeutet ist, während sie bei den mit großen Serumdosen vorbehandelten Tieren sich über lange Zeit (mehrere Wochen) ausdehnen kann“.

„Während dieser langen Zeitperiode wirkt ihr Blut zwar anaphylaktisierend für andere Tiere, während sie selbst unempfindlich erscheinen.“

Diese auffallenden Befunde Ottos, die in seiner grundlegenden Arbeit „Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit“ niedergelegt sind, schienen uns auf Grund der jetzigen genaueren Methoden und mit objektiver Beobachtung der Symptome einer erneuten Prüfung wert zu sein. Wir waren bestrebt, diese Frage an einem größeren Tiermaterial unter möglicher Variierung der Versuchsbedingungen zu einer endgültigen Entscheidung zu bringen.

Wir haben die Versuche gleich Otto ausschließlich an Meerschweinchen angestellt, und zwar einerseits an aktiv anaphylaktischen, andererseits an passiv anaphylaktisch gemachten Tieren, und zwar an solchen, die 24 Stunden vorher intraperitoneal mit dem Serum der betreffenden aktiven Tiere behandelt worden waren. Wir haben zu dem Zweck den aktiven Tieren stets vor der Reinjektion eine entsprechende Blutmenge entnommen und das Serum zur passiven Uebertragung dem normalen Tier einverleibt. So steht jedem auf aktive Anaphylaxie geprüften Tiere ein passives gegenüber, das mit dem Serum des zugehörigen aktiven vorbehandelt war. Wir haben nicht die von Otto gewählte subkutane Vorbehandlung und intraperitoneale Nachbehandlung gewählt, weil nach den inzwischen gesammelten Erfahrungen für die Vorbehandlung zur passiven Anaphylaxie die intraperitoneale Vorbehandlung der subkutanen sich als überlegen gezeigt hat, und weil für die Reinjektion die intravenöse Applikation des Serums den Vorzug verdient. Ent-

sprechend der leichteren Resorption des intraperitoneal einverleibten aktiven Serums, haben wir auch als Intervall zwischen passiver Vorbehandlung und Reinjektion nie mehr als 24 Stunden gewählt. Die Unterschiede in der Versuchstechnik sind unter diesen Bedingungen jedenfalls derartig, daß ein positives Ergebnis im Sinne von Otto noch viel

Tabelle I. Meerschweinchen No. 158 bis 177,

Datum der Reinjektion	Tag nach der Vorbehandl.	No.	Gewicht	Dosis für die pass. Präp.	Reinjektionsdosis des Hammeiser.	Temperatur					
						vorher	nach 1/4 Std.	nach 1/2 Std.	nach 1 Std.	nach 2-4 Std.	am and. Morgen
12. XI.	3	a. ¹⁾ 163	300	.	1,5	.	33,8	.	.	37,0	.
		p. ²⁾ B 10	230	1,5	1,5	37,2	37,2
13. XI.	4	a. 170	300	.	ca. 1	37,2	37,8	.	.	36,0	37,6
		p. B 12	ca. 250	1,5	ca. 1	38,0	37,0	.	.	.	38,0
14. XI.	5	a. 168	ca. 270	.	1,5	.	35,0	.	.	.	38,0
		p. B 13	ca. 270	1,5	1,5	37,2	35,4	.	36,2	38,4	.
15. XI.	6	a. 159	ca. 270	.	1,5	38,0	35,4	35,7	37,2	37,4	38,6
		p. B 14	220	1,5	1,5	39,2	36,6	35,6	34,8	32,4	+
16. XI.	7	a. 172	ca. 270	.	1,5	38,8	38,2	33,0	29,4	26,4	.
		p. B 15	.	1,5
		a. 169	ca. 270	.	1,5	38,2	+
		p. B 16	270	1,5	1,5	38,8	.	37,8	38,6	37,4	.
		a. 174	270	.	1,5	38,6	35,6	35,2	36,0	36,4	38,4
		p. B 17	290	1,5	1,5	38,0	35,4	37,2	37,4	37,0	.
		a. 167	270	.	1,5	38,6	32,4	.	32,8	35,0	37,8
		p. B 18	300	1,5	1,5	38,4	35,4	36,2	.	36,8	+
17. XI.	8	a. 162	ca. 270	.	1,5	38,0	+
		p. B 23	240	1,5	1,5	37,0	36,2	37,6	38,0	38,4	+
		a. 173	290	.	0,5!	38,2	34,0	32,8	34,8	35,6	.
		p. B 20	270	1,5	1,0!	38,5	35,4	.	38,2	37,6	+
		a. 171	270	.	1,5	38,2	32,0	.	33,2	34,8	.
		p. B 24	200	1,5	2,0!	38,2	.	.	39,0	38,2	.
		a. 176	400	.	1,5	38,0	33,0	32,6	35,0	.	.
		p. B 22	240	2,5	1,5	38,0	.	37,6	.	37,6	.
		a. 158	390	.	1,5	38,2	.	31,2	.	30,4	+
		p. B 25
18. XI.	9	a. 165	390	.	1,5	38,4	35,4	36,6	36,8	.	.
		p. B 21	250	2,5	1,5	37,2	.	.	39,0	.	+
19. XI.	10	a. 175	350	.	1,5	37,5	+
		p. B 26	300	1,5	1,5	37,5	37,0	37,0	38,2	36,0	.
		a. 164	400	.	0,3!	38,8	35,4	36,2	37,6	.	+
		p. B 27	250	2,0	1,5	38,4	37,2	36,8	37,6	36,4	.
20. XI.	11	a. 161	350	.	0,5!	38,8	+
		p. B 28	300	2,0	1,5	37,6	38,2	38,6	.	.	37,4
21. XI.	12	a. 177	400	.	0,5!	38,2	34,2	30,0	.	27,6	+
		p. B 29	270	2,5	1,5	38,5	36,2	38,0	38,4	35,8	+

1) a. = aktives Tier. 2) p. = passives Tier.

leichter in Erscheinung treten mußte als bei seiner eigenen Versuchsanordnung. Zur Reinjektion wurde ausschließlich Hammelserum benutzt. Da schwere sichtbare Symptome gerade innerhalb der in Betracht kommenden kritischen Zeiten weder bei den aktiven noch bei den passiven Tieren zu erwarten waren, so wurde auf Temperaturmessung das größte

am 9. XI. mit 0,01 Hammelserum subkutan gespritzt.

Eintritt des Todes	Symptome
—	keine Symptome, frißt nach 5 Minuten
—	„ „ „ „ 3 „
—	„ „
—	„ „
—	„ „
—	starkes Zittern, krampfartig
spät ¹⁾	„ „ „ dann lebhaft
spät	[mißraten] „ „
akut	Krämpfe nach 4 Minuten, † nach 10 Minuten
—	keine Symptome
—	„ „
—	„ „ leichtes Zittern
spät	leichte Krämpfe, legt sich auf die Seite, Atmung steht fast still, sehr unruhig, leichtes Zittern, † in der Nacht. [erholt sich
akut	Krämpfe nach 2 Minuten, † nach 6 Minuten
spät	keine Symptome, frißt nach 4 Minuten, nachts †
—	Krämpfe und leichte Sprünge
spät	keine Symptome, frißt nach 5 Minuten
—	ganz leichte Krämpfe
—	keine Symptome, frißt nach 2 Minuten
—	keine Symptome
—	zittert, leichte Krämpfe, frißt nach 10 Minuten
spät	Zittern, Mattigkeit, Atmung beschleunigt, † in der Nacht
·	[mißraten]
—	Schwäche (Lähmung der Hinterbeine?), frißt nach 10 Minuten
spät	starkes Zittern, frißt nach 7 Minuten
akut	Krämpfe nach 1 Minute, † nach 3 Minuten
—	keine Symptome
spät	„ „ außer starkem Zittern
—	„ „
früh	Krämpfe sofort, † nach 2 Minuten
—	keine Symptome, sehr lebhaft, frißt nicht
subakut	Lähmung, besonders der Hinterbeine, † nach ca. 3 Stunden
spät	keine Symptome, † in der Nacht

1) Spät, d. h. in der Nacht.

Gewicht gelegt. So deutlich nämlich die subjektiv wahrnehmbaren Symptome der Anaphylaxie im höheren Stadium des anaphylaktischen Zustandes sind, so bedenklich ist es, ohne Beachtung der Temperatur aus leichten Symptomen Schlüsse zu ziehen, die nur zu leicht zu schweren Irrtümern und falschen Deutungen führen können.

Zunächst wurde eine Serie von Tieren mit 0,01 Hammelserum subkutan vorbehandelt, und vom 3. Tage nach der Behandlung fortlaufend bis zum 12. Tage wurden einige von diesen Tieren auf aktive Anaphylaxie geprüft. Ihr vor der Reinjektion entnommenes Serum wurde in Dosen von 1,5—2,5, in den einzelnen Versuchen wechselnd, normalen Tieren intraperitoneal eingespritzt und diese am folgenden Tage reinjiziert. Die Reinjektionsdosis schwankte zwischen 2,0 und 0,15. Stets ist dem aktiv behandelten Tier in der Tabelle das mit seinem Serum passiv anaphylaktisch gemachte gegenübergestellt. Alles nähere ergibt sich aus der Tabelle I.

Die Tabelle zeigt, daß vom 3.—6. Tage, abgesehen von ganz geringem Temperatursturz, keine Symptome zu beobachten waren. Die aktiv wie passiv anaphylaktisierten Tiere blieben vollständig munter. Schon bald nach der Injektion beginnen sie vorgelegtes Futter zu nehmen¹⁾.

Am 6. Tage ergab sich das scheinbar mit Ottos Befunden übereinstimmende Resultat, daß das aktiv anaphylaktische Tier, abgesehen von einem geringen Temperatursturz, keine Symptome darbot, während das mit 1,5 von dessen Serum vorgespitzte Normaltier bei der Reinjektion einen weit bedeutenderen Temperatursturz aufwies und schließlich auch einging. Wenn dieses Resultat zunächst im Sinne von Otto zu sprechen schien, so können wir gleichwohl dessen Schlußfolgerungen keineswegs beipflichten, weil, wie gleich vorweg bemerkt sei, unter unseren 44 Versuchen mit 88 Tieren dieses Resultat nur dies einzige Mal erzielt wurde. Hier dürfte es sich also um einen ganz

1) Diese „Freßprobe“ ist gleichfalls ein ungemein charakteristisches Symptom für die Bewertung des Zustandes nach der Injektion. Es ist zweckmäßig, die Tiere einige Stunden vor der Reinjektion hungern zu lassen; auch dann nimmt nie ein auch nur leicht erkranktes Tier in der ersten Zeit nach der Reinjektion Futter an.

exzeptionellen Fall gehandelt haben. Am 7. Tage zeigte bereits ein aktiv anaphylaktisiertes Tier (No. 169) typisch akuten Tod unter Krämpfen, während das mit seinem Serum behandelte passive kaum einen Temperatursturz beobachten ließ. In einem anderen Falle am gleichen Tage hat das aktive Tier (No. 167) typischen Temperaturfall um $6,2^{\circ}$ innerhalb einer Viertelstunde, das Kontrolltier nur um 3° . Allerdings ging dieses später doch ein, aber ohne daß im weiteren Verlaufe noch ein Temperatursturz zu verzeichnen gewesen wäre. Am 8. Tage haben wir wieder bei einem aktiv anaphylaktischen Tier akuten Tod unter typischen Symptomen, bei sämtlichen anderen Tieren (4) ausgesprochenen Temperatursturz um $5-6^{\circ}$, in einem Falle sogar um 7° , während die homologen passiven Tiere zum Teil keinen nennenswerten Temperatursturz aufwiesen. Nur in einem Falle, in dem das Tier später einging, trat eine Erniedrigung um $3,1^{\circ}$ ein (No. 270). Am 9. Tage besteht nur ein geringer Unterschied zwischen dem aktiven und passiven Tiere, von denen das erstere Temperaturfall, das letztere späteren Tod ohne Temperaturfall zeigte.

Am 10., 11. und 12. Tage gehen bereits alle aktiven Tiere, welche mit unserer gewöhnlichen Dosis (1,5 g) reinjiziert wurden, an akuter Anaphylaxie ein, während von den passiven entsprechenden Tieren 3 ohne größeren Temperaturabfall am Leben blieben, und nur eins, wiederum ohne Temperatursenkung, spät einging. Diese Versuche ergeben also, wenn wir von dem einen, bereits als exzeptionell dargestellten Fall absehen, in keiner Weise, daß die Anaphylaxie passiv übertragbar ist zu einer Zeit, in der das serumspendende Tier sich noch im präanaphylaktischen Stadium befindet. Dieses Resultat war um so auffallender, als die Dosen zur passiven Präparierung ja recht beträchtlich waren, und in der Mehrzahl der Fälle auch den passiven Tieren eine im Verhältnis zum Gewichte größere Reinjektionsdosis gegeben wurde, als den homologen aktiven.

Noch deutlicher zeigt die folgende Versuchsreihe, daß die passive Anaphylaxie nicht früher übertragbar ist, sondern daß so gut wie in jedem Falle die aktive Anaphylaxie in allen ihren Erscheinungsformen eher ausgebildet ist, als die passive.

Diese Versuche mit einer Reihe von Meerschweinchen, die am 18. Nov. mit 0,01 Hammelserum vorbehandelt waren, sind in der folgenden Tabelle II zusammengestellt.

Es ergibt sich hier zur Evidenz, daß die aktive Anaphylaxie in allen ihren Stadien ausgebildet ist, bevor das Serum imstande ist, ein Tier passiv zu präparieren.

Wenn wir vom 4. Tage an zunächst die aktiven Tiere betrachten, so sehen wir, daß anfangs geringer Temperaturabfall das einzige Symptom der Anaphylaxie darstellt, abgesehen von leichten Beschwerden, die nur zu leicht nach dem subjektiven Ermessen des Beobachters gedeutet werden können. Zu dieser Zeit zeigen die passiven Tiere überhaupt keinen Temperatursturz. Es beginnt dann ein zweites Stadium der aktiven Anaphylaxie (6.—8. Tag) mit meist sehr ausgesprochenem Temperatursturz und auch einmal schon mit akutem Tod. In dieser Zeit ist von passiver Anaphylaxie nicht einmal durch die H. Pfeiffersche Temperaturreaktion etwas zu beobachten. Mit dem 6., 7., 8. und 9. Tage beginnt bei allen aktiven Tieren der akute Tod. Erst jetzt zeigen die passiven Tiere ausgesprochenen Temperatursturz und späten Tod.

Wir haben zwar vollkommen die gleichen Stadien und Symptome, aber nicht gleichzeitig, sondern bei den passiven Tieren stets erst später in Erscheinung tretend, also ein ausgesprochenes Zurückbleiben der passiv anaphylaktischen Tiere.

Otto selbst berichtet ausschließlich über Versuche, in denen es sich um noch 5mal kleinere Dosen von Pferdeserum, allerdings zugleich mit Diphtherietoxin, handelt. Doch ist er, ohne daß freilich aus seiner Arbeit dafür die Unterlagen deutlich ersichtlich sind, der Meinung, daß das Stadium, in dem das Blut anaphylaktisierende Körper enthält, die Tiere aber noch nicht überempfindlich sind, sich gerade bei den mit großen Serumdosen vorbehandelten Tieren lange Zeit (mehrere Wochen) ausdehnen kann. Wir haben deshalb noch in einer weiteren Serie mit Meerschweinchen Versuche angestellt, die zum Teil am 26. Nov., zum Teil am 8. Dez., mit dem 100-fachen der früheren Dosis, nämlich mit 1 g Hammelserum

Tabelle II. Vorbehandlung mit 0,01 Hammelserum am 18. XI. subkutan.

Datum der Reinjektion	Tag nach der Vorbehandl.	No.	Ge- wicht g	Dosis für die pass. Präp.	Reinjektions- dosis des Hammelser.	Temperatur					Eintritt des Todes	Symptome	
						vorher	n. 1/4 Std.	n. 1 Std.	nach 2-4 Std.	am and. Morgen			
22. XI.	4 a. ¹⁾	219	350		1,5	38,4	36,6	37,6	38,4	37,8	38,6	—	starkes Zittern
	p. ²⁾	B 31	250	2,0	1,5	38,6	38,0	38,6	39,0	39,0	38,6	—	keine Symptome, frißt nach 2 Minuten
	a.	214	290		1,5	39,2	34,8	34,6		34,0	38,4	—	keine Symptome, Fressprobe —
23. XI.	p.	B 30	250	2,0	1,5	38,6	38,4	38,8	39,2	39,2	39,0	—	keine Symptome, frißt nach 3 Minuten
	a.	202	320		1,5	37,6	36,4	37,0	37,4	37,8		—	keine Sympt., außer leichtem Zittern, frißt n. 9 Min.
	p.	B 34	220	2,5	1,5	38,8	38,4	39,4	39,8			—	keine Sympt., außer leichtem Zittern, frißt n. 4 Min.
24. XI.	a.	217	300		1,5	38,6	35,4		37,0	38,6		—	Zittern, Schwäche, Ataxie
	p.	B 33	250	2,5	1,5	38,0	38,8	40,2	39,8			—	keine Symptome, außer leichtem Zittern
	a.	215	300		1,5	38,4	34,0	35,2	36,2	38,0		—	große Mattigkeit
25. XI.	p.	B 35	270	2,5	1,5	38,4	38,4		39,6	39,0	38,4	—	lebhaft, leichtes Zittern
	a.	211	290		1,5	38,2	37,0	37,6		39,0		—	keine Symptome
	p.	B 36	250	2,0	1,8	38,2	38,2		39,2	38,8	38,0	—	ohne Krämpfe, Lähmung
26. XI.	a.	213	290		1,5 Spur	38,2	31,0	27,2				subakut	„
	p.	B 37	220	2,5	1,5 viel	38,0	38,0	39,0	39,0	39,2	39,2	—	keine Symptome
	a.	218	280		1,5	38,8	35,4	35,8	36,4	37,8		—	starkes Zittern, frißt nach 1/3 Std.
27. XI.	p.	B 38	240	2,0	1,5	38,6	37,6	36,8	36,0	38,0	39,2	—	starkes Zittern
	a.	203	330		1,5	39,2						akut	Krämpfe nach 2 Min., † nach 5 Min.
	p.	B 39	230	2,5	1,5	36,8		36,8	37,2			—	keine Symptome, außer leichtem Zittern, Fressprobe
28. XI.	a.	200	300		1,01	38,6	34,2	32,0	30,0	28,6		spät	keine Krämpfe, aber Lähmung, † nach 8 Std.
	p.	B 40	220	1,5	1,5	38,2	38,0	38,4	38,4	38,4		—	keine Symptome, außer leichtem Zittern, Fressprobe +
	a.	204	300		1,5	38,6	34,4	34,4	31,4			subakut	Lähmungserscheinung sofort, keine Krämpfe, † nach 1 Std. 20 Min.
29. XI.	p.	B 41	170	2,0	1,5	38,2	36,0	36,0	33,1	34,3		„	frißt sofort, keine Symptome
	a.	209	280		1,5	38,0	37,0	36,8	34,8			subakut	[entblutet]
	p.	B 42	180	2,5	1,5	39,2						akut	sofort munter, frißt
30. XI.	a.	210	320		1,5	39,0	36,0	35,8	35,2			akut	sofort Krämpfe, Sprünge, † nach 4 Min.
	p.	B 44	220	2,5	1,5	39,0	36,0	35,8	35,2			spät	keine Symptome
	a.	207	290		1,01	38,4						akut	sofort Krämpfe, Sprünge, † nach 3 Min.
31. XI.	p.	B 43	230	1,5	1,01	38,3	37,2	37,4	37,2	37,6	35,0	—	Fressprobe +, nach 20 Min. leichte Sprünge, dann ruhig, † nach 24 Std.
	a.	201	310		0,15 ¹⁾	38,0						akut	Krämpfe, † nach 4 Min.
	p.	B 45	200	2,0	0,5	37,0	36,6	36,0				spät	Zuerst keine Symptome, Fressprobe +, nach 16 Min. Krämpfe, bald Erholung.

1) a. = aktives Tier. 2) p. = passives Tier.

vorbehandelt wurden. Aus der Tabelle III ergeben sich die Resultate dieser Versuche.

Es zeigt sich, daß bereits am 5. Tage in einem Falle bei dem aktiven Tier der Temperatursturz um $6,4^{\circ}$ eintrat, beim passiven keinerlei Symptome. Am 6. und ebenso am 7. Tage zeigt allerdings auch das passive Tier in diesen Versuchen Temperatursenkungen. Dagegen ergibt sich weiterhin wieder die auch in der vorigen Reihe beobachtete ausgesprochene zeitliche Distanz zwischen den starken Symptomen beim aktiven Tier und den schwachen beim passiven.

Vom 9. Tage an erliegen alle aktiv anaphylaktisierten Tiere ausnahmslos akut, bei den passiven zeigen sich zweimal überhaupt keine Symptome. Nur in 3 Fällen tritt ein verspäteter Tod unter Temperatursenkung ein.

Vergleichen wir noch einmal die aktiven Tiere in der Tabelle II und III allein, so ergibt sich, daß auch die in der Literatur von verschiedenen Seiten aufgestellte Behauptung, daß bei Vorbehandlung mit großen Dosen das präanaphylaktische Stadium wesentlich länger dauere, wenigstens für die intravenöse Reinjektion, nicht zutreffend ist.

Bei einer Reihe der aktiv präparierten Meerschweinchen haben wir mit dem vor der Reinjektion entnommenen Serum Präzipitations- und Komplementablenkungsversuche angestellt, die durchgehend negativ ausfielen und deshalb in den Tabellen nicht besonders erwähnt sind¹⁾.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Michaelis hat in der Sitzung der Berliner Physiologischen Gesellschaft vom 18. Januar in der Diskussion auf den Widerspruch hingewiesen, der darin liegt, daß *in vitro* keine Komplementablenkung mit dem Serum präparierter Meerschweinchen zu beobachten ist, während sie doch im Organismus des betreffenden Tieres stets deutlich in Erscheinung tritt. Dieser Widerspruch ist jedoch, wie Friedberger demgegenüber betont hat, nur ein scheinbarer. Denn *in vivo* kommen zu den frei zirkulierenden Antikörpern für die Komplementablenkung noch die sessilen Rezeptoren hinzu, die eventuell sogar mit stärkerer Affinität ausgestattet sind. So ist dieses Mißverhältnis zwischen ablenkender Fähigkeit des Vitroserums und dem Organismus des präparierten Tieres zu gunsten des letzteren geradezu ein weiterer wesentlicher Beweis für die Existenz sessiler Rezeptoren bei der Eiweißanaphylaxie.

Tabelle III.
Vorbehandlung mit 1,0 (Serie 296—302 am 8. XII., Serie 225—242 am 26. XI. subkutan gespritzt).

Datum der Reinjektion	Tag nach der Vorbehandl.	No.	Gewicht g	Dosis für die pass. Präp.	Reinjektionsdosis des Hammelser.	Temperatur					Eintritt des Todes	Symptome	
						vorher	n. 1/4 Std.	n. 1/2 Std.	n. 1 Std.	nach 2—4 Std.			am and. Morgen
12. XII.	4	a. 298	380	.	1,5	38,8	33,4	34,8	35,0	.	38,4	—	keine Symptome verunglückt leichte Zuckungen
13. XII.	5	p. 300 a. 301	440 270	.	1,5	38,4 38,8	36,6 37,4	37,2 38,6	39,0 38,6	.	39,0	—	” schwere Atmung, sonst keine Symptome starke Zuckungen legt sich bald, keine Krämpfe
14. XII.	6	p. 296 a. 297	270 300	2,5	1,5	38,4 38,2	36,7 33,0	38,2 33,0	38,8 34,6	38,6 37,2	39,0	spät	ganz leichtes Zittern keine Symptome außer Mattigkeit
15. XII.	7	p. 297 a. 298	210 370	2,5	1,5	38,2 38,8	33,0 34,6	33,0 35,4	34,4 36,6	35,0 37,2	.	—	” schnelle Atmung fehlt
17. XII.	8	a. . p. 299	. 350	legt sich nach 4 Minuten, keine Krämpfe, † nach 19 Minuten
18. XII.	10	p. 288 a. 290	270 290	2,5	1,5	38,6	34,0	34,0	35,8	38,0	.	—	leichtes Zittern † nach 2 Minuten mit Krämpfen mißraten
6. XII.		p. 235 a. 237	210 380	1,0	1,5	39,0 38,2	36,4 34,2	36,0 33,6	35,2 29,0	38,4	39,0	akut	† nach 1 Minute leichte Krämpfe
		p. 249 a. 237	240 380	1,0	1,5	38,2 38,2	34,2 32,2	33,6 32,2	33,6 29,0	29,0	.	spät	legt sich nach 5 M., keine Krämpfe, † nach 7 Std. taumelt, gelähmt, nach 5 Min. Rückenprobe †, † nach 30 Minuten
		p. 240	240	2,0	1,5	38,8	.	35,0	34,2	34,8	34,8	spät	zuerst ohne Symptome, † nach 6 Stunden

Zusammenfassung.

1) Die Uebertragung der passiven Anaphylaxie im prä-anaphylaktischen Stadium des Meerschweinchens ist uns im Gegensatz zu Otto nicht gelungen.

2) Bei Vorbehandlung mit großen Dosen ist das prä-anaphylaktische Stadium gegenüber der durch intravenöse Reinjektion auslösbaren Anaphylaxie nicht wesentlich länger als bei der Behandlung mit kleinen Dosen.

Nachdruck verboten.

Ein neues Verfahren zur Unterscheidung von Natur- und Kunsthonig.

Von Dr. Walther Carl,

Assistent an der medizinischen Klinik zu Königsberg i. Pr.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Dezember 1909.)

Von v. Rigler¹⁾ ist bereits der Nachweis geliefert worden, daß sich in dem Naturhonig geringe Eiweißmengen finden, gegen die er ein spezifisches Antiserum darstellen konnte. Mit Hilfe eines derartigen Antiserums gelang es ihm, Naturhonig gegenüber den verschiedenen zur Verfälschung benutzten Zuckerarten zu unterscheiden. Mit dem Naturhonig präzipitierte ein Honigantiserum, während das mit den verschiedenen Zuckerarten nicht der Fall war.

Es lag nahe, auch die Komplementablenkungsmethode zum Nachweis von Honig heranzuziehen, um feinere Ausschläge zu erzielen.

Bei diesen Versuchen ergab sich (Näheres siehe die Tabelle), daß das Antihonigserum, mit Naturhonig zusammengebracht, das Komplement verankerte. Die Bindung des Komplementes trat noch ein, wenn der Gehalt des Röhrchens an Honig 0,1 Proz. betrug; über diese Grenze hinaus trat Lösung ein, während sowohl Kunsthonig mit seinem ent-

1) v. Rigler, Die Serodiagnose in der Untersuchung der Nahrungsmittel. Oesterreichische Chemikerzeitung, 1902, No. 5.

sprechenden Antiserum als auch Kunsthonig mit Antihonigserum und Honig mit Antikunsthonigserum vollständig lösten. Honig und Kunsthonig allein lenken nicht ab.

Ich benutzte Lösungen von Naturhonig, den ich direkt vom Imker bezog, und von einem Produkt, das im Kleinhandel als Kunsthonig geführt wird. Ich stellte mir von beiden Stoffen 20-proz. und 40-proz. Lösungen in Wasser her und injizierte nun in Zwischenräumen von je 4 Tagen die in der Tabelle angegebenen Mengen, die sich auf die Originalsubstanz, nicht auf die Lösungen beziehen. Die Injektionen wurden von den Tieren gut vertragen.

21 Tage nach der ersten Injektion (3 Tage nach der letzten Injektion) wurde von den Tieren Blut entnommen, und das inaktivierte Serum zur Komplementablenkung benutzt. Als System diente eine 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung, ein Hämolyisin, das durchschnittlich in einer Verdünnung von 1:18000 noch komplett löste, und je 0,1 Meer-schweinchenserum.

In den Röhren, die einer Honiglösung von 4 Proz. und darüber entsprachen, fiel nach zweistündigem Verweilen im Brutschrank ein Umschlag der roten Blutfarbe in einen schmutzig gelbbraunen Farbenton auf. Die spektroskopische Untersuchung ergab eine Umwandlung des Hämoglobins zu Methämoglobin. Genauere Versuche zur Feststellung der entfärbenden Kraft des Natur- und Kunsthonigs für Blut zeigten, daß bei 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung oder -lösung die Umwandlung des Hämoglobins zu Methämoglobin für Bienenhonig bei 4 Proz. beginnt, während eine 20-proz. Lösung von Kunsthonig nicht entfärbt.

Tabelle.

Injektionen subkutan bei Kaninchen.

	Honig	Kunsthonig
8. X.	2 g	2 g
12. X.	4 "	4 "
16. X.	4 "	4 "
23. X.	4 "	4 "
27. X.	10 "	10 "

	Antihonigserum	Honig	
1)	0,1	0,1	0
2)	0,1	0,05	0
3)	0,1	0,01	0
4)	0,1	0,005	0
5)	0,1	0,001	wenig gelöst
6)	0,1	0,0005	komplett gelöst
7)	0,1	0,0001	" "
8)	0,1	0,00005	" "
9)	0,05	0,1	0
10)	0,01	0,1	komplett gelöst
11)	—	0,2	" "
12)	0,2	—	" "

	Antihonigserum	Kunsthonig	
13)	0,1	0,1	komplett gelöst
14)	0,1	0,05	" "
15)	0,1	0,01	" "
16)	0,1	0,005	" "
	Antikunsthonigserum		
17)	0,1	0,1	komplett gelöst
18)	0,1	0,05	" "
19)	0,1	0,01	" "
20)	0,1	0,005	" "
21)	—	0,2	" "
22)	0,2	—	" "
		Honig	
23)	0,1	0,1	komplett gelöst
24)	0,1	0,05	" "
25)	0,1	0,01	" "
26)	0,1	0,005	" "

Dazu je 0,1 Meerschweinchenserum, Hämolyisin 1:12000, und Hammelblutkörperchenaufschwemmung je 1 ccm, Auffüllung auf 5 ccm Volumen. Solcher Versuche ergaben drei dasselbe Resultat.

Eine Präzipitation des aktiven Antihonigserums in Honigverdünnungen von 100 bis 10000 ist nur bei den höheren Verdünnungsgraden aufgetreten und auch da zweifelhaft gewesen.

Nach diesen Versuchen ist also anzunehmen, daß im Bienenhonig eine Eiweißsubstanz enthalten ist, die den Kunstprodukten nicht zukommt, und daß die 0,76-proz. Stickstoffsubstanz¹⁾ des Naturhonigs ganz oder teilweise diesen Eiweißsubstanzen entsprechen.

Zusammenfassung.

1) Gegen Naturhonig läßt sich ein Antiserum darstellen, das bis 0,005 g Antigen eine deutliche Ablenkung zeigt.

2) Das Antiserum ist insofern spezifisch für Naturhonig, als es mit Kunsthonig keine Ablenkung gibt. Ebenso läßt sich gegen Kunsthonig kein spezifisches Antiserum machen.

1) Nach I. König, Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, 1889.

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. IV. No. 6.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hauptstädtischen Bakteriologischen Institut in Budapest (Leiter: Doz. Dr. Bernhard Vas).]

Experimentelle Beiträge zur Erklärung der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. Julius Kiss in Budapest.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. Januar 1910.)

Die vielen, zum Teil sehr phantastischen Erklärungen der Wassermannschen Reaktion stützen sich immer auf gewisse, schon bisher bekannte Erscheinungen der Physik, der Biologie und der Immunitätslehre. Die erste aller Hypothesen war, wie bekannt, die der spezifischen Immunitätsreaktion; sie wird heute noch von Wassermann und seiner Schule vertreten. Die jüngste der Hypothesen, welche zurzeit bloß in ganz unbestimmten Umrissen vorhanden ist, kann als die Hypothese der fermentativen Komplementvernichtung bezeichnet werden. Als Basis für dieselbe dient die bekannte Tatsache, daß Lipide als Aktivatoren, Kinasen und Kofermente für die Fermente auftreten können. Es ist denkbar, daß bei der Wassermannschen Reaktion die Lipide gewisse Fermentwirkungen unterstützen, welche die Zerstörung des Komplementes zu Folge haben. Manwaring¹⁾ hat die Ansicht ausgesprochen, daß das proteolytische Enzym, welches nach Sachs und Teruuchi im Komplementserum enthalten ist, das eigene Komplement unter den Versuchsbedingungen der Wassermannschen Reaktion selbst zerstören kann. Sachs und Altmann²⁾ weisen auf eine andere Erklärungsmöglichkeit hin, daß nämlich das komplementzerstörende Ferment im Syphilisserum enthalten ist, aber erst durch Zusatz von Lipoiden aktiviert wird.

1) Zeitschr. f. Immunitätsforschung und exp. Therapie, Bd. 3, Heft 4.

2) Kollé-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorganismen, II. Ergänzungsband, „Komplementbindung“.

Wie jede Hypothese, welche sich auf die Physik stützt, hatte die Hypothese der Kolloidfällung von Beginn an die meisten Anhänger; für dieselbe ist jüngstens Liefmann¹⁾ eingetreten. Ein jeder, der eine neue Erklärung der Erscheinungen versucht, muß sich in erster Reihe mit dieser Hypothese beschäftigen. Diese Hypothese geht von der Annahme aus, daß das Syphilisserum leicht fällbare Substanzen enthält, welche durch den Organextrakt gefällt werden. Es soll die Richtigkeit dieser Annahme beweisen, daß bei der Wassermannschen Reaktion einige ähnliche Erscheinungen beobachtet werden, wie im allgemeinen bei Kolloidfällungen. Ich bin aber der Ansicht, daß die Analogien, welche für die Kolloidfällungshypothese sprechen, einer strengeren Kritik gegenüber nicht stichhaltig sind.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Wassermannsche Reaktion durch eine höhere Temperatur begünstigt wird. Diese Erscheinung wird bei vielen anderen Reaktionen und nicht bloß bei der Fällung beobachtet. Es ist ferner bekannt, daß eine saure Reaktion des Mediums den positiven Ausfall der Probe begünstigt; diese Erscheinung kommt zwar bei vielen Fällungen, unter anderen auch bei der Lecithinausflockungsreaktion nach Porges vor, ist aber für die Fällungsercheinungen nicht charakteristisch. Es wurde aber noch manches behauptet, was den Tatsachen nicht vollkommen entspricht. Es wurde z. B. angegeben, daß ebenso wie bei den Kolloidfällungen gewisse Reaktionszonen und ein Optimum der Fällung bei bestimmten quantitativen Verhältnissen der Komponenten beobachtet werden, so auch bei der Wassermannschen Reaktion Reaktionszonen vorhanden wären [Elias, Neubauer, Salomon und Porges²⁾]. Es soll also eine positive Reaktion etwa durch Steigerung der Menge des Extraktes oder des Serums ins Negative umschlagen oder mindestens schwächer werden, ferner sollen schwache Sera mit einer geringeren Extraktdosis, starke Sera dagegen mit größeren Dosen stärker reagieren. Aehnliche Beobachtungen beruhen meiner Ansicht nach auf einer unrichtigen Deutung der Erscheinungen.

1) Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 41.

2) Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 21.

Im Sinne der Fällungshypothese wird der Vorgang derart dargestellt, daß zwischen Extrakt und Syphilisserum eine Fällungsreaktion erfolgt, wobei das Komplement infolge der Adsorption unwirksam wird.

Tatsächlich beobachtet man aber bei der Wassermannschen Reaktion keine Fällung, so daß man zur Annahme von „unsichtbaren“ Fällungen gezwungen wird. Bekanntlich wird das Komplement durch fein suspendierte organische und auch anorganische Teilchen gebunden. Es wäre also anzunehmen, daß die unsichtbare Fällung das Komplement an sich reißt. Die Verhältnisse liegen aber hier nicht gar so einfach.

Bringen wir z. B. ein Extrakt mit verschiedenen normalen und syphilitischen Seren in solchen Verdünnungen, wie man sie bei der Wassermannschen Probe anzuwenden pflegt, zusammen und lassen wir das Gemisch im Brutschrank bei 37° C Temperatur 24 Stunden stehen. Angeblich besitzt der Extrakt ein starkes Fällungsvermögen und das Syphilisserum eine starke Fällbarkeit. Man müßte also erwarten, daß dieser Fällungsprozeß nach einem längeren Zeitraume, also nach 24 Stunden, schon zum Abschluß gelangt ist, und daß das Komplement, welches erst nach 24 Stunden zugesetzt wird, nunmehr nicht so stark zerstört wird. Tatsächlich beobachtete ich aber, daß das nach 24 Stunden zugesetzte Komplement in den Gemischen, welche Syphilissera enthielten, ebenso stark zerstört wurde, wie am Tage vorher. Das unsichtbare „Präzipitat“ wirkt also hier wie sichtbare Präzipitate, welche durch ein spezifisches Präzipitin erzeugt wurden, welche man nachher eventuell auch waschen kann, ohne daß sie die Fähigkeit, Komplement zu binden, verlieren. Der physikalische Vorgang der Fällung kann uns also die Bindung nicht erklären. Die Komplementbindung erfolgt doch, wie die soeben erwähnten Versuche zeigen, nicht etwa dadurch, daß das Präzipitat „in statu nascendi“ das Komplement an sich reißt, sie beruht auf einer Eigenschaft des entstandenen „Präzipitats“, vorausgesetzt, daß dieses hypothetische Präzipitat tatsächlich vorhanden ist. Die spezifische Wirkung ist auf alle Fälle unabhängig von dem Fällungsprozeß — und wir können mit der Fällungshypothese eben das Wesentliche nicht erklären. Außerdem müßte die Fällung nach einem längeren Zeitraume doch

sichtbar werden, was bekanntlich nicht der Fall ist. Die Reaktion ist aber auch, wie ich zeigen werde, keine Fällung, sie steht bloß in einer gewissen Beziehung zur Fällung. Wie dieser scheinbare Widerspruch zu erklären ist, werde ich später des Näheren darlegen.

Man kommt mit weniger Hypothesen fort, wenn man ein Problem von der geeigneten Seite faßt. Man kommt auch zu anderen Schlüssen, wenn man nicht von einer etwaigen Reaktion zwischen Syphilisserum und Extrakt, sondern von der Beeinflussung des Komplementes ausgeht. Bei der Wassermannschen Reaktion geht nicht bloß eine Komplementbindung, sondern auch eine Komplementzerstörung von statten; dies ist eine Ansicht, welche zuletzt auch von Sachs und Altmann geäußert wurde.

Für eine solche Annahme spricht das Ergebnis der bei der Reaktion gesammelten Erfahrungen, besonders aber die Tatsache, daß sämtliche wirksamen Organextrakte und deren Ersatzmittel in entsprechender Gabe schon an sich (ohne Syphilisserum) das Komplement vernichten. Meiner Ansicht nach liegt der Schwerpunkt der Frage in der Wirkung des Extraktes auf das Komplement.

Für das bessere Verständnis ist es vorteilhaft, darüber klar zu werden, welche schon bisher genügend bekannte Prozesse es sind, die mit dem Prozesse der Komplementzerstörung in Analogie gebracht werden können. Ich finde, daß der Vorgang der Komplementzerstörung mit der Vergiftung der Zellen und Gewebe am besten verglichen werden kann. Es bestehen insbesondere Analogien zwischen Komplementzerstörung und zwischen der Vergiftung der roten Blutkörperchen, d. h. der Hämolyse. Die Blutkörperchen dienten schon bisher als Untersuchungsobjekt, indem man jene Gesetzmäßigkeiten zu erforschen suchte, welche die Schutzvorrichtung des Organismus Bakterien gegenüber betreffen. Man kann in gleicher Weise aus dem Verhalten der roten Blutkörperchen gewisse Schlüsse auf das Verhalten des Komplementes ziehen.

Durch Heranziehung der roten Blutkörperchen gewinnt unsere Untersuchung eine festere Grundlage. Die Veränderungen der roten Blutkörperchen unter dem Einflusse der bei der Reaktion verwendeten giftigen Stoffe verdienen aber

schon mit Rücksicht auf die Methodik eine genauere Untersuchung. Die nähere Betrachtung wird zwar lehren, daß Komplement und Blutkörperchen in ihrem Verhalten voneinander vielfach abweichen; immerhin sind diejenigen Stoffe, welche bei der Wassermannschen Reaktion eine Rolle spielen, wie Alkohol, Seife, Fettsäuren, gallensaure Salze, sämtlich Blutkörperchengifte; sie zerstören auch das Komplement, sie sind also zu gleicher Zeit Komplementgifte.

Eine Uebereinstimmung besteht auch in quantitativer Beziehung. Die Untersuchungen von Sachs und Altmann¹⁾ über das oleinsaure Natron sowie diejenigen von Neufeld und Händel²⁾ über die gallensauren Salze haben gezeigt, daß diese Stoffe das Komplement in solchen Dosen zerstören, in welchen sie an und für sich Hämolyse erzeugen.

Unter den Stoffen, welche bei der Wassermannschen Reaktion angewendet werden, verdient der Alkohol in erster Reihe unsere Aufmerksamkeit. Ich befaße mich also zunächst mit der Wirkung des Alkohols auf die Blutkörperchen und auf Komplement.

In einem Gemisch, welches 0,9 Proz. Kochsalz und außerdem eine entsprechende Menge Alkohol enthält, werden die Blutkörperchen hämolysiert. Regelmäßig beobachtet man, daß diese Hämolyse mit der Erhöhung der Temperatur bedeutend beschleunigt wird, und daß auf die Geschwindigkeit der Hämolyse nicht nur der Alkoholgehalt, sondern auch die Menge der zugesetzten Blutkörperchen einen Einfluß hat, indem ein vermehrter Zusatz von Blut die Geschwindigkeit der Hämolyse herabsetzt. Als allgemeine Regel ergibt sich außerdem, daß von ihrem Serum befreite — gewaschene — Blutkörperchen bei einem bedeutend geringeren Alkoholgehalt hämolysiert werden, als defibriniertes Blut.

Bei der Untersuchung der „Alkoholresistenz“, welche ich an den Blutkörperchen des Rindes ausgeführt habe, erhielt ich ziemlich schwankende Werte. Der Alkoholgehalt, welcher in einem Gemische mit 1 Proz. gewaschenen Blutkörperchen binnen 1—6 Stunden bei 37° C ausnahmslos komplette Hämolyse

1) Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 10.

2) Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 28, Heft 3.

lyse herbeiführt, betrug 18 Proz. Mit 10 Proz. Alkohol erfolgte in manchen Fällen binnen 3 Stunden komplette Hämolyse, es kamen aber öfters Fälle vor, in welchen selbst nach einem 24-stündigen Aufenthalte im Brutschrank keine Hämolyse eingetreten war. Es ist klar, daß hier die verschiedene Resistenz der Blutkörperchen von verschiedenen Individuen eine Rolle spielt. Wenn man aber auch in einer Reihe von Röhren die Blutgemische in ganz gleicher Weise bereitet, so kommt es doch oft vor, daß in der Hämolyse erhebliche Differenzen entstehen, und daß in einem Gemische mit relativ geringerem Alkoholgehalt die Hämolyse früher eintritt. Es scheint, daß weder das starke Schütteln des Gemisches, noch die Reinheit der Glasgefäße an dem Resultate schuld ist. Die Ergebnisse der Hämolyseversuche mit Blutgiften sind in allen Fällen mehr weniger schwankend; merkwürdig ist aber, daß Unregelmäßigkeiten selbst mit Alkohol beobachtet werden, welcher seinerseits im Gegensatz zu vielen anderen Blutgiften nicht kolloidal gelöst ist. Die Ursache dieser Erscheinung erblicke ich darin, daß der Alkohol außer der hämolytischen noch andere Wirkungen besitzt, namentlich agglutiniert er die Blutkörperchen und präzipitiert die geringe Menge des anhaftenden Blutserums, ruft also Prozesse hervor, welche die gleichmäßige Vermischung und innige Berührung verhindern. Wenn aber auch die Versuchsergebnisse etwas schwankend sind, so kann man doch gewisse Regelmäßigkeiten in der Beeinflussung der Alkoholhämolyse mit Sicherheit erkennen.

Die Alkoholhämolyse wird durch Zusatz von Blutserum beeinflusst. Die Beeinflussung besteht darin, daß kleine Mengen Sera die Hämolyse hemmen, große Mengen dagegen dieselbe befördern.

Meine Versuche habe ich bei 37° C Temperatur ausgeführt. Als Untersuchungsobjekt dienten gewaschene Rinderblutkörperchen. Das Volum der Gemische betrug gewöhnlich 5 ccm. Der Blutkörpergehalt war 1 Proz. (0,05 ccm einer 100-proz. Emulsion). Den Gehalt an Alkohol und an Blutserum gebe ich der Uebersichtlichkeit halber immer in Volumprozenten an. Ich untersuchte zunächst die Wirkung des arteigenen Serums auf die Blutkörperchen.

Die Verschiedenheit der Beeinflussung der Sera erhellt aus folgenden Versuchen.

A. Gemische mit 15 Vol.-Proz. Alkohol.

Zugesetzte Serummenge				
0,00	Vol.-Proz.	komplette	Hämolyse in	6 Std.
0,02	„ „	keine	„ „	24 „
0,30	„ „	komplette	„ „	24 „
0,50	„ „	„	„ „	6 „

B. Gemische mit 10 Vol.-Proz. Alkohol.

Zugesetzte Serummenge				
0,00	Vol.-Proz.	keine	Hämolyse	
0,02	„ „	„	„	
0,30	„ „	schwache	Hämolyse	
0,50	„ „	komplette	Hämolyse in	24 Std.

Die Hämolyse durch Alkohol wird schon durch ganz geringe Serummengen gehemmt, aber erst in Mengen von 1 Proz. an macht sich die Wirkung in auffallender Weise erkennbar. In Gemischen, welche nicht mehr als 15 Proz. Alkohol enthalten, war die Hämolyse in allen Fällen vollkommen gehemmt, wenn die Gemische mit 1—3 Proz. Blutserum versetzt wurden. Bei 20 Proz. Alkoholgehalt verhinderten 1 bis 3 Proz. Serum die Hämolyse nicht mehr, dieselbe trat aber immer später ein, als in den Gemischen ohne Serum.

Es machte keinen Unterschied, ob das Rinderserum in aktiviertem oder inaktiviertem Zustande zugesetzt wurde.

Die Resultate sind analog bei den Versuchen mit inaktiviertem Menschenserum. (Aktives Menschenserum erzeugt schon an sich Hämolyse.) Die hemmende Wirkung kleiner Serummengen ist konstant in allen Fällen zu beobachten. In der die Hämolyse fördernden Wirkung großer Serummengen sind die schon erwähnten Abweichungen ebenso mit Menschenserum, wie mit Rinderserum zu beobachten. Aehnliches ist auch zu beobachten, wenn man menschliche Blutkörperchen in alkoholischen Gemischen mit dem eigenen Serum zusammenbringt.

Die hämolysehemmende Wirkung kleiner Serummengen ist auch schon früher bei anderen Blutgiften beobachtet worden; die Erscheinung ist also nicht ganz neu. Die Beförderung der Alkoholhämolyse durch große Serummengen hat etwas Ueberraschendes an sich und erfordert eine Erklärung. Bei der Erklärung der Alkoholwirkung kann die schon vielfach erwähnte Analogie mit vielen anderen Kolloidreaktionen betont werden, wo ein großer Ueberschuß der einen Kompo-

nente auf den Verlauf der Reaktion eine entgegengesetzte Wirkung übt, wie kleinere Mengen derselben. Mit einem Hinweisse ist aber das Wesen der Erscheinung noch nicht vollkommen erklärt. Ich stelle mir die Verhältnisse derart vor, daß der Alkohol, wie bereits oben erwähnt, nicht nur eine hämolytische, sondern auch eine präzipitierende Wirkung hat. Kleine Serummengen vermehren die Menge des Präzipitats und schützen die vergifteten Blutkörperchen vor der Auflösung, daher die Hemmung der Hämolyse durch kleine Serummengen. Größere Serummengen hingegen erschweren die Bildung des Präzipitats, lösen sogar das entstandene Präzipitat auf. Wie bekannt, haben Matthes¹⁾ und Sachs²⁾ gezeigt, daß Blutkörperchen, welche durch Sublimat abgetötet und gehärtet worden sind, sich im eigenen Blutserum auflösen. Sachs meint, daß der Austritt des Hämoglobins im letzteren Falle dadurch erfolgt, daß das Serumweiß aus den gehärteten Blutkörperchen das Quecksilber entzieht.

Die Verhältnisse liegen zwar bei der Sublimathämolyse anders, weil schon ganz kleine Serummengen die Hämolyse der gehärteten Blutkörperchen befördern, immerhin handelt es sich in beiden Fällen um die Beförderung der Hämolyse durch das arteigene Serum, möglicherweise um eine Auflösung des Präzipitats.

Wie wir sehen, ist das Problem der Alkoholhämolyse schon an sich ziemlich kompliziert und es wird nicht überflüssig sein, wenn ich diese Gelegenheit zu einigen Bemerkungen über das Wesen der Alkoholwirkung und der Giftwirkung im allgemeinen benütze.

Im Sinne der modernen Narkosetheorie beruht die Wirkung der fettlösenden Mittel darauf, daß dieselben die Lipidstoffe der Zelle auflösen. Die Wirkung des Alkohols auf die Blutkörperchen wird gewöhnlich dadurch erklärt, daß der Alkohol die Bestandteile der Lipoidmembran der Blutkörperchen löst. Wenn man auch von der wichtigen Rolle der Lipide für die Bedeutung der Zelle überzeugt ist, so kann man doch nicht

1) Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 1.

2) Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 5.

zugeben, daß sie dem lebenden Protoplasma gleichwertig wären. Wahrscheinlich erleichtern die Lipoidstoffe bloß das Eindringen der fettlösenden Mittel in die Zelle; die Hauptsache ist aber doch die Wirkung des Giftes auf das Protoplasma.

Der Alkohol ist ein Fällungsmittel für Eiweiß und ein Gift für Blutkörperchen. Wir können an dem Beispiele des Alkohols am besten zeigen, in welcher Beziehung die Giftwirkung zur Fällung steht.

Bringt man Blutkörperchen in absoluten, oder auch nur 90—95-proz. Alkohol, so werden dieselben nicht hämolysiert; sie behalten den Blutfarbstoff, aber sie werden gehärtet, so daß sie sich nachher selbst in destilliertem Wasser nicht mehr auflösen. Bringt man Blutkörperchen in verdünnten Alkohol, so erfolgt Hämolyse; das Gemisch wird lackfarben. Wenn man zur Verdünnung des Alkohols eine Kochsalzlösung verwendet hat, so folgt der Hämolyse bei höherem Alkoholgehalt (etwa 80 Proz.) rasch eine starke Eiweißfällung. Der Prozeß der Hämolyse und der Eiweißfällung werden also bei entsprechender Verdünnung von einander zeitlich getrennt. Bei einem mäßigen Alkoholgehalt sieht man bloß die Hämolyse entstehen und keine Eiweißfällung, oder die Fällung erfolgt bloß nach einem längeren Zeitraume.

Man könnte nun behaupten, daß der Alkohol zweierlei Wirkungen besitzt: die hämolytische und die eiweißfällende. Meiner Ansicht nach handelt es sich aber immer bloß um eine und dieselbe Wirkung. Auf einer niedrigeren Stufe der Wirkung entsteht die Hämolyse; bei einem höheren Grade der Wirkung, welche nicht bloß vom Alkoholgehalt, sondern auch von der Dauer der Einwirkung abhängig ist, tritt auch Fällung ein, welche irreversibel ist. Die Irreversibilität der Fällung ist für die Gifte charakteristisch.

Das Verhältnis der Eiweißfällung zur Giftwirkung habe ich an anderer Stelle¹⁾ erörtert, wo ich meine Ansichten über das Wesen der Hämolyse auseinandergesetzt habe. Das lebende Protoplasma der Zelle befindet sich meiner Ansicht nach beständig in einem metastabilen Zustande; sobald Zellentod

1) Das periodische System der Elemente und die Giftwirkung. Wien und Leipzig 1909.

eintritt, geht der metastabile Zustand in einen physikalisch stabileren über; dieser Zustand ist für das Blutkörperchen, wenn es nicht unter der Einwirkung eines eiweißfällenden Mittels steht, der Zustand der Verflüssigung.

Kommt das Blutkörperchen, wie z. B. in unserem Falle, in absoluten Alkohol, so wird es gehärtet; selbst in diesem Falle muß es aber im Sinne der stufenweisen Reaktionen über die flüssige Phase hindurch in die gefällte Phase übergehen. Die flüssige Phase kommt aber nicht zur Beobachtung, weil ihr sofort die stabilste Phase, die Härtung, folgt. Die Zeit, binnen welcher die Fällung eintritt, wird immer länger, wenn der Alkohol sukzessive verdünnt wird und es wird eine Grenze erreicht, bei welcher die Fällung erst dann eintritt, wenn der Blutfarbstoff aus den Blutkörperchen schon ausgetreten ist, und selbst bei den stärksten Giften, wie z. B. beim Sublimat, kann man die Hämolyse ohne Härtung und Eiweißniederschlag beobachten, wenn man entsprechend geringe Mengen des Giftes nimmt. Es ist also verständlich, daß Mittel, welche eigentlich als eiweißfällend bekannt sind, unter Umständen eine Verflüssigung der Blutkörperchen verursachen.

Bei der Ausflockung der Kolloide kommen Reaktionszonen vor, größere Mengen des Fällungsmittels hemmen die Fällung. Wenn die Giftwirkung durch die Fällung an sich bedingt wäre, so könnte die Giftwirkung ebenfalls eine Reaktionszone haben und große Mengen des Giftes hätten eine geringere Wirkung, als mittlere Gaben. Solche Erscheinungen wurden auch tatsächlich hie und da beobachtet, immerhin sind sie paradox und da sie dem Begriffe der Giftigkeit widersprechen, müssen wir in jedem Falle daran denken, daß eine Reaktionszone bloß scheinbar vorliegt und daß gewisse physikalische Prozesse den Prozeß der Vergiftung beeinflussen.

Die Alkoholhämolyse bietet uns solche Beispiele. Absoluter Alkohol verursacht, wie oben erwähnt, keine Hämolyse. Die Blutkörperchen werden gehärtet und auf diese Weise wird eine Reaktionszone vorgetäuscht, selbstverständlich sind aber die gehärteten Blutkörperchen abgestorben, die Vergiftung hat also keine wirkliche Reaktionszone.

Das andere Beispiel betrifft die Beeinflussung der Alkoholhämolyse durch Serumzusatz. In diesem Falle verlaufen zwei

Prozesse nebeneinander, die Vergiftung der Blutkörperchen und die Fällung des Serums durch Alkohol. Der letztere Vorgang hat eine Reaktionszone: mittlere Serummengen geben einen Niederschlag, große Serummengen lösen den Niederschlag auf. Niederschläge schützen die Blutkörperchen vor Auflösung und infolge dieses Nebenprozesses kommt eine Reaktionszone bei der Vergiftung zum Vorschein, welche aber wiederum nicht zum Wesen der Vergiftung gehört.

Neufeld und Händel haben mit dem taurocholsauren Natron die Beobachtung gemacht, daß mittlere Dosen dieses Salzes hämolytisch wirken, ein Ueberschuß des Salzes dagegen die Hämolyse hemmt. Eine ähnliche Erscheinung ist auch beim Cobragift bekannt. Die einzelnen Blutarten verhalten sich zwar diesen Giften gegenüber verschieden, letztere sind aber ebenfalls als Eiweiß fällende Mittel bekannt und es ist wahrscheinlich, daß es sich auch in diesen Falle um eine ähnliche Erscheinung handelt, wie ich sie soeben beim Alkohol und Sublimat erwähnt habe und daß die Hemmung der Hämolyse nicht als Herabsetzung der Giftigkeit gedeutet werden kann.

Die Zerstörung des Komplementes fasse ich ebenso wie die Hämolyse als eine Vergiftungserscheinung auf. Ist aber diese Vorstellung richtig, so ist der Schluß, welchen man aus dem Begriffe der Giftigkeit zieht, ohne weiteres auch auf die Wassermannsche Reaktion anwendbar. Hat z. B. eine bestimmte Extrakt-dosis mit einem Serum positiv reagiert, so wird eine größere Extrakt-dosis mit demselben Serum immer positiv reagieren; wenn aber trotz aller Erwartung bei der Reaktion Hämolyse eintritt, so liegt meiner Ansicht nach entweder ein Versuchsfehler vor oder ein Nebenprozeß hat die positive Reaktion verdeckt. Dieser Nebenprozeß entsteht gewöhnlich infolge der Giftigkeit des Extraktes für Blutkörperchen. Ist auch unsere unten näher entwickelte Vorstellung richtig, daß nämlich die Wirkung des Menschenserums in der Erhöhung der Giftigkeit der Extrakte besteht, so kann ein vermehrter Serumzusatz die Komplementzerstörung nie verhindern.

Auf Grund des Auseinandergesetzten können wir schon das Verhältnis der Eiweißfällung zur Komplementzerstörung richtiger beurteilen.

Von einer gewissen Anzahl Blutgifte ist es, wie ich eingangs erwähnte, schon früher experimentell nachgewiesen worden, daß sie das Komplement zerstören, wahrscheinlich zerstören alle Blutgifte auch das Komplement. Es gibt nun auch unter den Blutgiften viele Substanzen, welche das Eiweiß fällen, letztere vernichten aber das Komplement nicht infolge ihrer eiweißfällenden Eigenschaften, sondern einfach weil sie Gifte sind. Die Komplementzerstörung erfolgt, insoweit Erfahrungen vorliegen, ebenfalls in solchen Dosen, in welchen eine Fällung noch nicht bewirkt wird. Dieselben Momente, welche die Fällung begünstigen, werden aber nichtsdestoweniger auch die Komplementzerstörung verstärken. Letzteres ist auch bei der Wassermannschen Reaktion der Fall und wurde bisher meiner Ansicht nach falsch gedeutet, indem man aus der Komplementzerstörung auf eine Fällung gefolgert hat.

Schon auf Grund der Versuche mit roten Blutkörperchen und aus dem Begriffe der Giftigkeit selbst, lassen sich also gewisse Prinzipien feststellen. Wir wollen uns aber jetzt mit der Wirkung des Alkohols auf das Komplement und mit der Beeinflussung dieser Wirkung durch Serumzusätze etwas näher beschäftigen.

Meine Untersuchungen beziehen sich auf Meerschweinchenserum, welches in jedem Falle frisch gewonnen wurde. Ich verfuhr in meinen Versuchen nach der bei der Wassermannschen Reaktion üblichen Methode. In einem Gemische, dessen Volum 3 ccm betrug, ließ ich die bekannte Menge des Alkohols und des Komplementes aufeinander einwirken. Das Gemisch wurde eine Stunde lang bei 37° C Temperatur im Brutschranke aufbewahrt und demselben nachher 2 ccm einer Aufschwemmung von sensibilisierten Blutkörperchen zugesetzt. Diese Aufschwemmung enthielt die Einheit der Blutkörperchen (1 ccm 5-proz. Emulsion) mit zehn Ambozeptoreinheiten beladen. [Die Einheit des Ambozeptors (Kaninchenserum) bezieht sich auf 0,05 ccm Meerschweinchenserum als Komplementeinheit.] Nach Verlauf von weiteren zwei Stunden wurden die Resultate notiert.

Bei gleichbleibendem Alkoholgehalt wird das Komplement um so rascher zerstört, je höher die Temperatur und je länger die Dauer der Einwirkung ist. Die kleinste Komplementmenge, welche im Brutschrank bei 37° C Temperatur in einer Stunde eben noch zerstört wird, erleidet unter den gleichen Versuchsbedingungen bei Zimmertemperatur nur eine geringe Abschwächung. Die Menge des Komplementes hat aber einen

besonderen Einfluß auf das Resultat. Dies zeigen folgende Versuche.

Das benützte Meerschweinchenserum löste in einer Menge von 0,01 ccm die Einheit der zehnfach sensibilisierten Blutkörperchen komplett.

In einem Gemische, welches 14 Vol.-Proz. Alkohol enthielt, war 0,01 ccm Komplementserum nach einem einstündigen Verweilen bei 37° C Temperatur derart verändert, daß die Hämolyse vollkommen gehemmt war. Es mußten dem Gemische 0,025 ccm Komplementserum zugesetzt werden, damit eine zur kompletten Hämolyse eben noch hinreichende Komplementmenge nach einer Stunde noch übrig bleibe. Wurde noch mehr Serum zugesetzt, so konnte auch der Alkoholgehalt des Gemisches entsprechend vergrößert werden und es entsprach einer jeden Serummenge eine bestimmte Menge des Alkohols.

Die einander entsprechenden Mengen von Meerschweinchenserum und Alkohol waren die folgenden :

Alkohol	Meerschweinchenserum
14 Vol.-Proz.	0,025 ccm
16 " "	0,035 "
18 " "	0,400 "
20 " "	0,150 "
22 " "	∞

Der Alkoholgehalt konnte also mit der Zunahme der Komplementmenge ganz besonders gesteigert werden, ohne daß die Hämolyse gehemmt worden wäre. Wenn aber der Alkoholgehalt 22 Vol.-Proz. betragen hatte, so konnte selbst bei Anwendung sehr großer Dosen des Meerschweinchenserums keine Hämolyse erreicht werden. Ich habe auch in zahlreichen anderen Versuchen beobachtet, daß Meerschweinchenserum, mit dem gleichen Volum einer 42—44-volum-proz. Alkoholverdünnung versetzt, in einer Stunde bei 37° C Temperatur inaktiviert wurde.

Die Eigentümlichkeit dieser Verhältnisse besteht also darin, daß die Vermehrung der Serummenge bis zu einer bestimmten Grenze des Alkoholgehaltes die Komplementzerstörung verhindert, daß aber oberhalb einer bestimmten Grenze (20 Vol.-Proz. Alkohol) die Kontinuität dieser Erscheinung in auffallender Weise unterbrochen wird.

Da die körperliche Ausdehnung des Komplementes wahrscheinlich sehr gering und die Menge des Alkohols in den Gemischen stets verhältnismäßig groß ist, so müßte die Komplementzerstörung bei ganz verschiedenen Serummen-

immer mit der gleichen Geschwindigkeit vor sich gehen. Da dies nicht der Fall ist, müssen wir annehmen, daß das Serum auf die Zerstörung seines eigenen Komplementes einen Einfluß hat. Bei den Versuchen mit geringen Serummengen ist zweifellos eine Schutzwirkung des Serums zu konstatieren. Es hat ferner den Anschein, als ob größere Serummengen die Zerstörung des eigenen Komplementes selbst befördern würden, sonst würde die Kontinuität dieser Erscheinung oberhalb 20 Proz. Alkoholgehalt nicht so plötzlich aufhören. Man könnte also von einer Analogie in der Beeinflussung der Hämolyse und der Komplementzerstörung durch Serumzusatz sprechen. Diese Analogie wäre aber nur in dem Falle vollkommen, wenn ähnliche Erscheinungen in der Beeinflussung der Komplementzerstörung auch bei Zusatz artfremder Sera beobachtet werden könnten, was aber nicht der Fall ist. Die Wirkung des Alkohols auf das Komplement wird durch fremdes Serum, namentlich durch Menschenblutserum, in allen Fällen verstärkt.

Zur Untersuchung der Beeinflussung der Komplementzerstörung durch Menschensera schien es mir zweckmäßig, die Versuche mit Gemischen auszuführen, welche 16 Vol.-Proz. Alkohol enthielten. Die Gemische wurden in der Weise bereitet, daß 2 ccm einer 24-proz. Alkoholverdünnung, welche 0,9 Proz. Kochsalz enthielt, mit 1 ccm einer Flüssigkeit versetzt wurde, welche aus 0,2 ccm inaktivierten Menschenserum und aus einer entsprechenden Menge Meerschweinchenserum durch Verdünnung mit 0,9-proz. Kochsalzlösung bereitet wurde.

Die Schwierigkeit in der Ausführung derartiger Versuche bestand darin, daß man die eben geeignete Komplementmenge nicht immer leicht findet. Der Titer des Komplementes ist von Fall zu Fall verschieden. Ich verfuhr daher derart, daß ich zuerst die minimale Komplementmenge bestimmte, welche nach 1-stündiger Einwirkung von 16 Proz. Alkohol die 10-fach sensibilisierten Blutkörperchen eben noch löst. Wenn diese Menge z. B. 0,03 ccm betrug, so verfertigte ich 3 Versuchsserien mit je 0,03, 0,04 und 0,05 ccm Komplement. Jede Serie enthielt die von verschiedenen Individuen stammenden Menschensera in Mengen von 0,2 ccm. In den Versuchsserien mit 0,3 ccm Meerschweinchenserum entstand infolge des Zusatzes von Menschenserum durchwegs eine starke Hemmung. In den beiden anderen Serien waren dagegen ganz bedeutende Unterschiede in der Hämolyse zu beobachten, wenn mehrere normale und syphilitische Sera zu gleicher Zeit untersucht wurden. Zuweilen waren aber schon in der Serie mit 0,05 ccm Meerschweinchenserum die Unterschiede geringer und die Hämolyse in sämtlichen Gemischen stark oder komplett.

Bekanntlich enthält das Menschenserum normalerweise Ambozeptoren für Rinderblutkörperchen, und die Unterschiede im Ambozeptorgehalt können unter Umständen die Hämolyse verschiedenartig beeinflussen. Wenn wir aber Blutkörperchen anwenden, welche mit 10 Ambozeptoreinheiten beladen sind, so wird der verhältnismäßig geringe Gehalt an Normalambozeptoren die Resultate doch nur wenig beeinflussen und die Unterschiede sind bloß auf die Beeinflussung des Komplementes zu beziehen.

Zu gleicher Zeit habe ich Versuche zur Bestimmung der antikomplementären Wirkung der Menschensera auch ohne Alkoholzusatz ausgeführt. Die Versuchsanordnung war die gleiche, jedoch mit dem Unterschiede, daß eine geringere Menge (0,01—0,02) ccm Meerschweinchenserum angewendet wurde.

Ich führte meine Untersuchungen an 24 normalen und ebensoviel Syphilisseren aus. Diese Versuche haben ergeben, daß Menschensera die Wirkung des Komplementes in allen Fällen herabsetzen. Die hemmende Wirkung ist aber bei den Syphilisseren im allgemeinen stärker. In den Gemischen, welche Syphilissera enthielten, trat in den Versuchen ohne Alkoholzusatz, mit einer Komplementdosis, welche in ihrer Wirkung durch normale Sera nicht verhindert wurde, mit Ausnahme von 4 Fällen, immer starke Hemmung auf. Unter den Normalseren wurde eine stärkere Hemmung bloß in 5 Fällen beobachtet. Die Versuche mit Alkohol ergaben als Resultat, daß durch Zusatz von Menschenserum das Komplement vor der Alkoholwirkung nicht geschützt, sondern im Gegenteil die Zerstörung desselben noch unterstützt wird. Die stärkere antikomplementäre Wirkung der Syphilissera war auch in den alkoholhaltigen Gemischen zu beobachten; diese Erscheinung war aber öfters in den Versuchsserien ohne Alkohol deutlicher zu erkennen; es soll aber besonders erwähnt werden, daß unter den Syphilisseren sich 3 solche vorfanden, welche in den alkoholhaltigen Gemischen eine besonders starke antikomplementäre Wirkung hatten, indem sie in mehrfach wiederholten Versuchen die Hämolyse mit großen Komplementdosen (0,06 ccm) hemmten, so daß es den Anschein hatte, als ob wir es in diesen Fällen mit einer der Wassermannschen Reaktion analogen Erscheinung zu tun hätten.

H. Hecht¹⁾ hat bei seinen Untersuchungen gefunden, daß 0,1 ccm Menschenserum in allen Fällen mehr als 0,04 ccm Meerschweinchenserum unwirksam macht. Ich fand dagegen,

1) Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 8.

daß ohne Mitwirkung von Alkohol selbst die doppelte Menge Menschenserum 0,01—0,02 ccm Meerschweinchenserum in seiner Wirkung noch nicht verhindert, wenn das Serum nicht von Syphilitikern stammte. Unsere Versuchsergebnisse weichen aber wahrscheinlich bloß darum voneinander ab, weil ich stark sensibilisierte Blutkörperchen zum Nachweis des Komplementes verwendete. Auch H. Hecht fand bei den Syphilitikern eine stärkere antikomplementäre Wirkung.

Indem ich hier meine über die Wirkung des Alkohols ausgeführten Versuche vorausschicke und Bemerkungen daran knüpfe, habe ich eigentlich die Wassermannsche Reaktion und die Wirkung der Organextrakte vor Augen. Die Organextraktverdünnungen sind kolloidale Lösungen oder feine Emulsionen. Eine Reihe der Erscheinungen wird durch die chemische Beschaffenheit der wirksamen Bestandteile, eine andere Reihe derselben durch die physikalische Beschaffenheit der kolloidalen Lösung bedingt. Es ist notwendig, eine solche Unterscheidung zu machen, da man bisher immer geneigt war, dem kolloidalen Zustand eine andere Bedeutung zuzuschreiben, als sie ihm in der Tat zukommt. Wir gehen nicht fehl, wenn wir alle jene Wirkungen der Organextrakte, welche auch beim Alkohol beobachtet werden, als durch die chemische Beschaffenheit des wirksamen Stoffes bedingt betrachten. Von der Mitteilung der diesbezüglich eigenst angeordneten Versuche kann ich absehen. Die hämolytische Wirkung der Extrakte und die Hemmung der Hämolyse durch Serumzusatz ist von Korschun und Morgenroth schon früher erkannt worden, die eiweißfällende Wirkung wird jüngstens von Liefmann hervorgehoben; manches andere wird bei der Ausführung der Wassermannschen Reaktion täglich beobachtet. Die Beobachtungen und die Erklärung derselben im Sinne meiner oben mitgeteilten Ausführungen fasse ich in folgendem zusammen:

1) Organextrakte bewirken in entsprechenden Dosen eine Eiweißfällung.

2) Organextrakte wirken hämolytisch und zerstören das Komplement in Dosen, in welchen sie das Eiweiß nicht fällen, weil sie Gifte sind. Die Giftwirkung ist nicht ganz identisch mit der fällenden Wirkung, wenn auch beide Vorgänge durch dieselben Momente in gleicher Richtung beeinflußt werden.

3) Das Blutserum schützt die Blutkörperchen vor der Auflösung. Die Beeinflussung der hämolytischen Wirkung durch Serumzusätze beruht auf einer Reaktion zwischen Serum und Extraktbestandteilen. (Eine hämolysebefördernde Wirkung großer Serumdosen wird hier, so wie es beim Alkohol der Fall war, nicht beobachtet.)

4) Menschensera verstärken die komplementzerstörende Wirkung der Organextrakte.

Nicht nur syphilitische, sondern auch normale Sera verstärken die komplementzerstörende Wirkung der Extrakte, diese Wirkung kann aber bei dem üblichen Verfahren der Wassermannschen Reaktion nicht immer beobachtet werden, weil der Ambozeptorgehalt des Menschenserums die Hämolyse in den einzelnen Fällen verschiedenartig beeinflusst. Man kann aber die antikomplementäre Wirkung regelmäßig nachweisen, wenn man den Versuch mit stark sensibilisierten Blutkörperchen und mit der entsprechenden kleinsten Komplementmenge ausführt, welche bei Anwendung der gewöhnlichen Extraktosis eben noch komplette Hämolyse bewirken kann.

Die Wirkung des Alkohols stimmt also mit jener der Organextrakte in vielen Beziehungen überein und die Beeinflussung der Wirkung durch Serumzusätze ist eine analoge. Da sich aber der Alkohol zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion doch nicht eignet, müssen bei den Extrakten besondere Verhältnisse vorliegen. Wir werden nun untersuchen, in welcher Weise der kolloidale Zustand die Wirkung der Extraktverdünnungen beeinflusst.

Der kolloidale Zustand bedingt es, daß die Wirkung der Extrakte auf Blutkörperchen und die auf das Komplement auch ohne Menschenserum in manchen Beziehungen voneinander verschieden sind.

Die innige Berührung ist die Vorbedingung der Wirkung; Blutkörperchen und Komplement müssen also zuerst die Partikelchen der kolloidalen Extraktverdünnungen adsorbieren.

Die vorwiegende Rolle der Adsorption kommt dadurch zum Ausdruck, daß die Stärke der Hämolyse bei gleichbleibender Extraktmenge von der Menge der zugesetzten Blutkörperchen in hohem Grade beeinflusst wird. Mit einem

wässrigen Extrakt aus luetischer Leber erhielt ich Resultate, welche in der folgenden Tabelle zusammengefaßt sind. Die Versuche wurden bei einer Temperatur von 37° C ausgeführt; das Volum der Gemische betrug in allen Fällen 5 ccm.

Menge des Extraktes	Zugesetzte Menge einer 5-proz. Blutemulsion			
	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	4,0 ccm
0,1 ccm	komplett in 6 Stunden	komplett in 24 Stunden	keine Hämolyse	keine Hämolyse
0,2 ccm	komplett in 1 Stunde	komplett in 6 Stunden	komplett in 24 Stunden	komplett in 24 Stunden
0,4 ccm	komplett in einigen Min.	komplett in einigen Min.	komplett in 1/2 Stunde	komplett in 1 Stunde

Die Regelmäßigkeit dieser Erscheinungen ist darauf zurückzuführen, daß die Blutkörperchen für die Adsorption relativ große Oberflächen darbieten. Daraus läßt es sich zum Teil erklären, daß Blutkörperchen auch durch relativ indifferente Substanzen, wie z. B. Olivenöl, hämolysiert werden.

Diese Erscheinung wird gewöhnlich so gedeutet, daß die Lipidmembran der Blutkörperchen durch Fett gelöst wird; meiner Ansicht nach ist es aber der geringe Gehalt des Oeles an Fettsäuren, welcher, durch die starke Adsorption unterstützt, die Hämolyse bewirkt. Eine Komplementzerstörung kann man dagegen mit Emulsionen, welche man aus den alkoholischen Lösungen der indifferenten Fette bereitet, nicht erzielen. Ich bereitete z. B. Emulsionen mit Extrakten aus dem mediastinalen Fettgewebe des Meerschweinchens und aus einem menschlichen Lipom, desgleichen auch mit alkoholischen Lösungen von Butter und frischem Olivenöl. Diese Emulsionen hatten keine merkliche antikomplementäre Wirkung, selbst wenn die Trübung der Extraktverdünnungen bedeutend stärker war als jene, welche durch einen wirksamen alkoholischen Extrakt verursacht wird. Allerdings zerstören sämtliche alkoholische Extrakte in bestimmter Gabe das Komplement, dies aber bloß infolge des Alkoholgehaltes.

Das Komplement bietet der Adsorption eine relativ kleine Oberfläche dar. Wenn also eine Lipoidsuspension viel indifferentes Fett und wenig giftige Substanz enthält, so kann es vorkommen, daß die Komplementteilchen die maximale

Menge des indifferenten Stoffes adsorbiert haben, ohne daß die zu gleicher Zeit adsorbierte Giftmenge zur Zerstörung des Komplementes genügen würde, wobei unter Umständen noch viel Gift ungebunden im Gemische zurückbleibt. Es ist somit klar, daß in einer kolloidalen Lösung oder in einer Suspension nicht bloß die absolute Menge des Giftes, sondern auch das Verhältnis der Menge des indifferenten Stoffes zur Menge des Giftes für die Größe der Komplementzerstörung ausschlaggebend sein wird. Hämolyse und Komplementzerstörung werden daher in kolloidalen Lösungen und in Suspensionen verschiedenen Regeln folgen, schon aus dem Grunde, weil ihre Adsorptionsflächen verschieden groß sind, also einfach aus physikalischen Ursachen.

Nehmen wir aber einen ganz besonderen Fall an, daß nämlich der Extrakt ein einheitlicher chemischer Stoff ist, welcher aber bloß in kolloidaler Form gelöst werden kann. Die Wirkung des Extraktes hängt in diesem Falle von der Geschwindigkeit der Adsorption ab. Die Adsorption wird aber je nach der Größe und Zahl der Suspensionsteilchen verschiedenartig beeinflußt. Ist die Verteilung äußerst fein, so erfolgt die Adsorption unter Umständen mit einer geringeren Reaktionsgeschwindigkeit, sind dagegen die Fettröpfchen viel zu groß und fließen sie leicht zusammen, so scheiden sie sich aus und nehmen an der Reaktion wenig teil. Die Zerstörung des Komplementes wird daher bei einer ganz bestimmten Größe der Suspensionsteilchen mit der größten Geschwindigkeit erfolgen. Die hämolytische Wirkung wird durch den Lösungszustand nicht beeinflußt, weil die Adsorptionsfläche der Blutkörperchen groß ist, das Komplement wird dagegen durch die geringe Ausdehnung seiner Adsorptionsfläche vor der Giftwirkung oft geschützt. Die Hämolyse ist immer dem Gehalt an giftigen Substanzen proportional, die antikomplementäre Wirkung ist dagegen oft geringer als es dem Gehalte an giftigen Substanzen entspricht. Es sei jedoch betont, daß es sich hier immer bloß um die Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit handelt.

Die Wassermannsche Reaktion beruht darauf, daß das Menschenserum die Rinderblutkörperchen vor der Wirkung des Extraktes schützt, die Komplementzerstörung hingegen

fördert. Ein Extrakt ist zur Reaktion geeignet, wenn er in Dosen, in welchen er die durch das Serum geschützten Blutkörperchen nicht angreift, möglichst viel Komplement vernichtet. Die Divergenz der hämolytischen und der komplementzerstörenden Wirkung ist aber nach meiner Ansicht nicht dadurch zu erklären, daß der Extrakt etwa spezifische Komplementgifte enthält, sondern bloß dadurch, daß die Adsorption durch die physikalische Beschaffenheit — Lösungszustand — der giftigen Substanz in verschiedener Weise beeinflußt wird. Wenn die Adsorption nur sehr langsam erfolgen kann oder wenn sich eine unbeständige Emulsion leicht in großen Tropfen ausscheidet, so ist der Extrakt zur Reaktion nicht geeignet, weil man davon große Dosen anwenden müßte, welche die Blutkörperchen trotz der Schutzwirkung des Menschenserums hämolysieren.

Die hier entwickelten Anschauungen werden durch die Erfahrungen bei der Wassermannschen Reaktion bestätigt.

Wässrige Extrakte aus luetischen Fötallebern sind bekanntlich allen übrigen überlegen; dieselben sind als Suspensionen, bestehend aus feinsten Zellpartikelchen, anzusprechen. Sie enthalten im Vergleich zu den Suspensionen, welche mittelst alkoholischer Extrakte bereitet werden, relativ wenig Fett, außerdem enthalten sie auch Eiweißsubstanzen. Ohne die besondere Struktur der kleinsten Partikelchen zu kennen, können wir doch annehmen, daß die physikalische Beschaffenheit derselben die Adsorption des Komplementes begünstigt. Wässrige Extrakte sind zwar auf die Dauer nicht haltbar; die Suspensionsteilchen werden mit der Zeit fortwährend ausgeflockt. In Vergleich zu den Suspensionen (Emulsionen), welche aus alkoholischen Extrakten bereitet werden, sind sie noch haltbarer und sind bekanntlich brauchbarer; in den letzteren entsteht schon etwa nach 24 Stunden oft ein Sediment. Möglicherweise steht die Brauchbarkeit in einer gewissen Beziehung zur physikalischen Beständigkeit.

Die verschiedene physikalische Beschaffenheit der Suspensionsteilchen wurde auch von Sachs und Rondoni¹⁾ zur Erklärung der Wirkung der auf verschiedene Weise

1) Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 44.

bereiteten alkoholischen Extraktverdünnungen herangezogen. Ihre diesbezüglichen Ausführungen bedürfen aber einer Ergänzung. Die aus alkoholischen Extrakten bereiteten Suspensionen sind gewöhnlich bedeutend trüber als die Verdünnungen der wässerigen Extrakte, weil der Alkohol außer dem wirksamen Prinzip auch das neutrale Fett auflöst. Sachs und Rondoni haben die Beobachtung gemacht, daß die Suspensionen, welche man mit alkoholischen Extrakten bereitet, bei der Reaktion je nach der Art der Zubereitung verschieden wirksam sind. Läßt man zum alkoholischen Extrakt die Kochsalzlösung rasch zufließen, dann entsteht eine Suspension, welche wenig trübe ist und bei der Reaktion nur schwach wirkt. Wird hingegen der Extrakt langsam verdünnt, so sind starke Trübung und stärkere Wirksamkeit das Resultat.

Wir haben es in diesem Falle mit einer kolloidalen Lösung, richtiger mit einer Suspension (Emulsion) zu tun. Der verschiedenartige Einfluß der Verdünnung steht aber mit der kolloidalen Natur der wirksamen Substanz, wie dies von Sachs und Rondoni angenommen wird, in keiner Beziehung, weil es sich um eine Erscheinung handelt, welche z. B. auch bei der Fällung von gewissen Kristalloiden vorzukommen pflegt. Bringt man den alkoholischen Extrakt mit Wasser oder mit wässerigen Lösungen zusammen, so werden die Stoffe, welche in Wasser unlöslich sind, gefällt. Die Geschwindigkeit dieser Fällungsreaktion ist je nach dem quantitativen Verhältnis zwischen Wasser und Alkohol verschieden. Die Fällung geht mit einer geringen Reaktionsgeschwindigkeit vor sich, wenn entweder das Wasser oder der Alkohol in relativ großer Menge zugegen ist. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist dagegen groß, wenn Wasser und Alkohol in der Mischung ungefähr zu gleichen Mengen enthalten sind. Gießt man also zum alkoholischen Extrakt die gleiche Menge Kochsalzlösung auf einmal hinzu und wartet dann kurze Zeit, so tritt schon nach einigen Sekunden die maximale Trübung ein und man kann den Rest der Kochsalzlösung wieder auf einmal zugeießen, um die gewünschte Verdünnung zu erhalten. Das ausschlaggebende Moment ist also, daß für die Reaktionsgeschwindigkeit ein Optimum vorhanden ist. Wenn aber auch

Extrakt und Kochsalzlösung in einem beliebigen anderen Verhältnis rasch vermengt werden, so wird die Trübung beim Stehen immer stärker, das Maximum wird aber z. B. im Brutschranke bei 37° C erst nach 24 Stunden erreicht. Fast momentan entsteht hingegen die maximale Trübung, wenn das Gemisch über der freien Flamme kurze Zeit erwärmt wird.

Wenn aber auch die Reaktionsgeschwindigkeit in verschiedener Weise beeinflusst wird, so muß doch angenommen werden, daß die Fällung der in Wasser unlöslichen Bestandteile in allen Fällen sofort beginnt, und daß es immer zur Bildung feinsten Fetttröpfchen kommt, welche jedoch so klein sind, daß sie die optischen Eigenschaften des Gemisches anfangs wenig beeinflussen.

Die Unterschiede der komplementzerstörenden Wirkung sind aber auch in diesem Falle bloß quantitativer Natur. Es handelt sich nicht etwa um zwei verschiedene Modifikationen der kolloidalen Substanz, welche je nach der Art der Zubereitung entstehen, wie es Sachs und Rondoni anzunehmen geneigt sind. Die Wirkung steht zu der Zahl und Größe der ausgefällten Fetttröpfchen in Beziehung. Wenn alles Fett ausgefällt ist und wenn die Trübung der Suspension das Maximum erreicht hat, so erreicht auch die Wirkung ihr Maximum.

Die Stärke der Trübung steht mit der Komplementzerstörung in inniger Beziehung, nicht aber mit dem hämolytischen Vermögen der Extrakte. Die durch alkoholische Extrakte verursachte Hämolyse war in meinen Versuchen immer die gleiche, wenn das Volum und der Gehalt an Extrakt gleich blieben; die Art der Zubereitung hatte auf die Hämolyse gar keinen deutlich wahrnehmbaren Einfluß. In den Hämolyseversuchen kann man hingegen die wichtige Rolle des Alkohols erkennen. Zu diesem Zwecke habe ich in einer Reihe von Reagenzröhrchen verschieden starke Verdünnungen eines alkoholischen Extraktes bereitet, in einer anderen Reihe nahm ich dieselben Verdünnungen, verjagte aber den Alkohol durch entsprechend langes Aufkochen der Gemische; sämtliche Gemische wurden dann auf das gleiche Volum (4 ccm) ergänzt und mit der gleichen Menge gewaschener Blutkörperchen (1 ccm) versetzt, in dem Brutschrank bei 37° C aufbewahrt. Der Kochsalzgehalt

der Gemische betrug in allen Fällen 0,9 Proz. Eine dritte Reihe von Reagenzröhrchen wurde in ähnlicher Weise wie die erste Reihe mit absolutem Alkohol zubereitet. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten.

	Alkoholischer Extrakt	Extrakt nach Verdunstung des Alkohols	Alkohol
20 Proz.	Hämolyse in 10 Min.	Hämolyse nach 24 Std.	Hämolyse in 4 St.
10 "	" " 2 Std.	keine Hämolyse	" " 24 "
5 "	" " 24 "	" "	keine Hämolyse

Wir sehen also, daß die hämolytische Wirkung der Extraktverdünnungen nach der Verdunstung des Alkohols ganz bedeutend abgeschwächt wird. Die hämolytische Wirkung des Extraktes ist mit Alkohol stärker, ohne Alkohol hingegen viel schwächer als die der gleichen Menge reinen Alkohols. Die hämolytische Wirkung der gewöhnlichen alkoholischen Extrakte ist also zum Teil durch den Alkohol bedingt.

Es ist auffallend, daß die Dosis des alkoholischen Extraktes, welche bei der Wassermannschen Reaktion gute Resultate gibt, immer nahezu gleich ist, und zwar ungefähr 0,2 ccm. Wenn wir einen Teil des Alkohols verdunsten lassen, so müssen wir von dem eingeengten Extrakt fast ebensoviel nehmen, wie von der Stammlösung. Wenn wir hingegen die Stammlösung mit der gleichen Menge Alkohol versetzen, so ist diese Verdünnung unter Umständen in der gleichen Dosis gleich wirksam, wie die Stammlösung. Der Alkohol ist also auch bei der Wassermannschen Reaktion ein wirksamer Bestandteil des Herzextraktes.

Extrakte aus gesunden Organen sind im allgemeinen zur Wassermannschen Reaktion ohne Alkohol ungeeignet. Diese Extrakte enthalten zwar komplementzerstörende Substanzen, aber verhältnismäßig sehr viel Fett, so daß man mit äußerst stark getrühten Emulsionen arbeiten müßte, welche infolge der ungleichmäßigen Verteilung und der Sedimentierung des Fettes unsichere Resultate ergeben. Wie bekannt, ist unter den Extrakten aus gesunden Organen der Extrakt aus Meerschweinchenherzen der beste; man bekommt aber oft aus Meerschweinchenherzen schwache Extrakte, welche zur Reaktion

unbrauchbar sind, selbst wenn man einen Teil des Alkohols verdunsten läßt; sie enthalten also wenig von der antikomplementär wirkenden Substanz mit viel Fett.

Es gibt Extrakte, welche das Komplement in ganz geringen Dosen stark angreifen, zur Wassermannschen Reaktion aber doch ungeeignet sind, meiner Ansicht nach darum, weil ihre Emulsionen unbeständig sind. Unter den Extrakten, welche ich aus luetischen Fötallebern durch Extraktion mittels Alkohol gewann, kamen einige solche vor, welche das Komplement in Mengen von 0,015—0,03 ccm bei der gewöhnlichen Versuchsmethode der Wassermannschen Reaktion vollständig zerstörten. Wenn die Zusammensetzung der Suspensionsteilchen für die Brauchbarkeit entscheidend ist, so war zu erwarten, daß solche starke Extrakte durch Zusatz von neutralem Fett abgeschwächt und zur Reaktion brauchbar gemacht werden können. Es gelang mir jedoch nicht, durch Zusatz von indifferentem, aus einem menschlichen Lipom extrahierten Fett stark wirkende Extrakte brauchbar zu machen. Möglicherweise hatten die wirksamen Substanzen eine geringe Affinität zum zugesetzten Fett und das indifferente Fett beeinflußt die Adsorption nur in geringem Maße, wie dies auch sonst unseren Erfahrungen über Adsorptionserscheinungen entspricht, da bekanntlich reaktionsfähige Substanzen immer stärker adsorbiert werden.

Wenn ich aber starke Extrakte mittelst Alkohol entsprechend stark verdünnte, so erhielt ich eine Lösung, welche ebenso gut wie etwa ein alkoholischer Herzextrakt brauchbar war.

Die Wirksamkeit der Extrakte wird nach alldem durch eine entsprechende physikalische Beschaffenheit, und eine günstige chemische Zusammensetzung der Suspensionspartikelchen und bei den alkoholischen Extrakten zum Teile auch durch den Alkoholgehalt bedingt. Es sei aber nachdrücklich betont, daß wir zwar durch den physikalischen Zustand erklären können, daß die antikomplementäre Wirkung der Extraktverdünnungen unter Umständen geringer sein kann, ein Gift wird aber nie eine stärkere Wirkung haben auch wenn es in kolloidaler Form gelöst ist, als es dem Gehalte an giftigen Substanzen entspricht. Es bleibt also noch immer übrig, die

Wirkung des Syphilisserums und die Rolle des kolloidalen Zustandes bei dieser Wirkung zu erklären. Jetzt kann ich mich schon kurz fassen.

Es wurde gezeigt, daß normale Menschensera die komplementzerstörende Wirkung der Organextraktverdünnungen unterstützen; die komplementzerstörende Wirkung wird jedoch bloß in einem relativ geringen Grade erhöht. Man kann sich die Verhältnisse am besten derart vorstellen, daß der Extrakt und das Normalserum je einen Teil des Komplementes zerstören, ohne sich gegenseitig zu beeinflussen. Demgegenüber erfolgt nach Zusatz von Syphilisserum die Komplementzerstörung in erhöhtem Maße. Daraus folgt, daß Extrakt und Syphilisserum sich gegenseitig beeinflussen; die Giftigkeit des Extraktes wird durch das Syphilisserum erhöht.

Ich habe in meinen oben mitgeteilten Versuchen gezeigt, daß Syphilissera im allgemeinen mehr antikomplementäre Stoffe enthalten, als Normalsera. Möglicherweise ist der betreffende Bestandteil des Syphilisserums, von welchem die stärkere antikomplementäre Wirkung herrührt, mit jenem Stoffe identisch, welcher bei der Wassermannschen Reaktion die Giftigkeit des Organextraktes unter Umständen ganz enorm steigert. Es steht mit den Erfahrungen der Toxikologie im Einklange, daß eine Substanz, welche an sich wenig giftig ist, die Giftigkeit anderer Substanzen öfters stark erhöht. Die Erhöhung der Giftigkeit kann in unserem Falle, ohne die Annahme etwaiger chemischer Substitutionen, einfach durch die Annahme der physikalischen (Lösungs-)Affinität erklärt werden. Wir müssen bloß annehmen, daß die antikomplementären Stoffe des Syphilisserums in den Lipoiden besser löslich sind, als in Wasser. In diesem Falle sammeln die Lipoidtröpfchen einen Teil der antikomplementären Stoffe in sich an und führen dieselben in konzentrierter Form dem Komplemente zu. Auf diese Weise können relativ geringe Quantitäten stark wirken. Aber es ist auch denkbar, daß die zwei verschiedenen Gifte des Komplementes in eine innigere Beziehung zueinander treten, und daß derart eine Verbindung von hoher Giftigkeit entsteht. Es handelt sich also auf alle Fälle um die Erhöhung der Giftigkeit, und wenn uns das Wesen dieser Erscheinung nicht klar ist, so können wir

darauf hinweisen, daß wir die verschiedenen Erscheinungen der Beeinflussung der Giftigkeit auch in der Toxikologie sehr oft beobachten, ohne das Wesen derselben vollkommen erklären zu können.

Ich hoffe, daß die hier entwickelten Anschauungen in künftigen Beobachtungen noch weitere Bestätigung finden werden. Jedenfalls habe ich zeigen können, daß man von den einfachen physikalischen Prinzipien nur dann den richtigen Gebrauch machen kann, wenn man von der Annahme ausgeht, daß die Zerstörung des Komplementes eine Vergiftungserscheinung ist. Ich habe auch gezeigt, in welcher Beziehung diese Reaktion zur Kolloidfällung steht und daß für die Fällungshypothese bei der Wassermannschen Reaktion die Beweise fehlen. In einem Gebiete, wo wir es mit Stoffen zu tun haben, welche wir bloß aus ihren Wirkungen kennen, muß man sich zwar oft mit weniger Beweisen begnügen. Meiner Ansicht nach entbehrt aber die Kolloidfällungshypothese überhaupt jeder festen Grundlage und die Lösung des Problems kann von der weiteren Verfolgung der hier entwickelten Prinzipien eher erwartet werden. Endlich will ich bemerken, daß ich unter den möglichen Erklärungen bloß jene herausfinden wollte, welche die verwickelten Vorgänge am einfachsten erklärt, ich halte aber andere Erklärungsmöglichkeiten nicht für ausgeschlossen. Selbst die Hypothese der spezifischen Immunitätsreaktion und jene der fermentativen Komplementzerstörung sind heute noch nicht von der Hand zu weisen, weil sie sich auf gewisse unanfechtbare Tatsachen stützen. Volle Klarheit wird in diesem Gebiete wahrscheinlich noch lange nicht erreicht werden. Von einer richtigen Anwendung der Prinzipien der Biologie und der physikalischen Chemie können wir aber doch die besten Erfolge erhoffen.

Zusammenfassung.

- 1) Die Hämolyse durch Alkohol wird durch geringe Zusätze von Blutserum gehemmt, durch große Zusätze dagegen gefördert.
- 2) Der Alkohol zerstört das Komplement ungefähr in gleichen Dosen, wie die Blutkörperchen. Die komplement-

zerstörende Wirkung des Alkohols wird durch Zusatz von Menschenserum immer verstärkt.

3) Die Wirkung der Organextrakte ist in vielen Beziehungen derjenigen des Alkohols analog. Die hämolytische Wirkung der Extrakte wird durch Serumzusatz ebenfalls verhindert und die komplementzerstörende Wirkung verstärkt.

4) Die antikomplementäre Wirkung der Extraktverdünnungen (ohne Serumzusatz) wird durch den kolloidalen Zustand verschieden beeinflußt. Das Maximum der Wirkung wird bei einer bestimmten Größe und bei einer günstigen chemischen und physikalischen Beschaffenheit der kolloidalen Partikelchen erreicht.

5) Der Alkohol ist ein wirksamer Bestandteil der alkoholischen Extrakte.

6) Bei der Verdünnung eines alkoholischen Extraktes entsteht die Trübung mit der maximalen Geschwindigkeit, wenn Alkohol und Wasser in der Mischung in ungefähr gleichen Mengen vorhanden sind. Die Art der Verdünnung hat bloß darum einen Einfluß auf die Stärke der Trübung, weil ein solches Maximum der Reaktionsgeschwindigkeit vorhanden ist.

7) Die Unterschiede der Wirkung der verschiedenartig bereiteten alkoholischen Extraktverdünnungen sind bloß quantitativer und nicht qualitativer Natur.

8) Die Zerstörung des Komplementes durch den Extrakt ist ein der Vergiftung ähnlicher Prozeß. Die Giftigkeit des Extraktes wird durch das Syphilisserum erhöht.

9) Syphilissera enthalten mehr antikomplementäre Substanzen als Normalsera. Möglicherweise ist ein Teil der antikomplementären Substanzen lipoidlöslich und wird durch die kolloidalen Partikelchen der Extraktverdünnungen aufgenommen.

10) Die Kolloidfällung spielt bei der Wassermannschen Reaktion keine Rolle. Eiweißfällende Gifte hämolysieren die Blutkörperchen und zerstören das Komplement schon in solchen Dosen, in welchen sie noch gar keine Fällung bewirken.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.]

Ueber die Inaktivierung der Komplemente durch Schütteln.

Von **Martin Jacoby** und **Albert Schütze**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Januar 1910.)

Vor einiger Zeit ¹⁾ haben wir gezeigt, daß das hämolytische Komplement des Meerschweinchenserums durch Schütteln bei geeigneter Temperatur inaktiviert wird. Diese Versuche haben wir fortgesetzt und wollen hier unsere Resultate schildern.

Unsere Arbeit war angeregt worden durch die interessante Beobachtung von Schmidt-Nielsen ²⁾, daß das Labferment sehr leicht durch Schütteln inaktiv wird ³⁾. Wir fanden zunächst, daß Meerschweinchenserum durch 1½-stündiges Schütteln bei 37° oder durch 6-stündiges Schütteln bei 16° inaktiviert wird. In der Literatur haben wir Angaben dieser Art nicht gefunden. Unsere Mitteilung veranlaßte Zeissler ⁴⁾ zu berichten, daß im Laboratorium von Much in Hamburg unabhängig von uns derartige Versuche in Angriff genommen worden sind, deren Resultate vorläufig noch nicht einheitlich sind, zum Teil wohl, da — wie Zeissler vermutet — die Bedingungen noch nicht günstig gewählt wurden ⁵⁾. Ferner zitiert Zeissler einen Passus aus einer Arbeit von Biltz, Much und Siebert, die in v. Behrings Beiträgen zur experimentellen Therapie, Heft 10, erschienen ist: „Auffallenderweise hatte schon das Schütteln an sich, ohne Eisenhydroxydzusatz, eine Abnahme der bakteriziden Serumwirkung zur Folge.“

1) Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 48.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 60, Heft 6, 1909.

3) Auch das Pepsin wird durch Schütteln inaktiviert. (Shaklee und Meltzer, Zentralbl. f. Physiol., Bd. 23, 1909, H. 1, zit. nach Zentralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels, 1909, No. 16.)

4) Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 52.

5) Anm. bei der Korrektur: Inzwischen sind unsere Angaben auch von Stühmer (Centralbl. f. innere Medizin, 1910, No. 2) bestätigt worden.

Es liegt natürlich nahe, diesen Befund auf Grund unserer Ermittlungen als Komplementinaktivierung durch Schütteln aufzufassen. Irgendein Beweis dafür bestand aber nicht.

Zunächst werden wir nun noch einmal Beispiele unseres Grundversuches geben, weil sich darauf die weiteren Experimente aufbauen.

Versuch: Frisch gewonnenes Meerschweinchenserum wird mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf das 10-fache verdünnt, die Flüssigkeit in zwei gleiche Portionen geteilt, von welchen die eine 1½ Stunden im Brutschrank geschüttelt wurde, während die andere in demselben Brutschrank ruhig stand. Innerhalb dieser Zeit betrug die höchste Temperatur 38,6°. Nach Beendigung des Versuches war das geschüttelte Serum trübe und zeigte einen flockigen Niederschlag. Beide Portionen wurden nunmehr auf ihre komplettierende Wirksamkeit geprüft. Als Ambozeptor diente 1 ccm eines Kaninchenimmuserums in der Verdünnung 1/3000, als Blutkörperchen regelmäßig 1 ccm Hammelblutkörperchenaufschwemmung (5-proz.). Selbstverständlich wurde stets die gleiche Verdünnung (5 ccm) hergestellt.

Bei Verwendung von Schüttelserum in Dosen von 0,1—0,2—0,4—0,6—0,8—1,0 war die Hämolyse überall 0.

Bei Verwendung von Normalserum in einer Dose von

0,1	war die Hämolyse	inkomplett
0,2	„ „ „	fast komplett
0,4	} „ „ „	komplett
0,6		
0,8		
1,0		

Versuch: Ein anderes Experiment, bei dem die Temperatur im Brutschrank 38,0° nicht überschritt und genau die gleichen Bedingungen eingehalten wurden, ergab folgendes Resultat:

Schüttelserum:	(0,1—0,2—0,4—0,6—0,8—1,0):	Hämolyse 0.
Normalserum:	0,1	Spur Hämolyse
	0,2	inkomplette „
	0,4	} fast komplette „
	0,6	
	0,8	} komplette „
	1,0	

Von mehr als 25 derartigen Versuchen ergaben alle bis auf einen ein positives Resultat. Der eine negative Versuch zeigte überhaupt verschiedene Unregelmäßigkeiten. — 1½ Stunden Schüttelung ist ziemlich reichlich bemessen. Hält man sich aber an diese Zeit, so kann man mit Sicherheit auf positive Resultate rechnen. Auch bei Temperaturen unter 37° kann man das Komplementserum durch Schütteln

inaktivieren, wenn man nur die Schüttelzeit hinreichend ausdehnt. So genügten bei 16° mehrfach 6 Stunden. Wir haben fast alle weiteren Versuche bei 37—38° ausgeführt.

Schüttelt man das 10-fach verdünnte Meerschweinchenserum 1½ Stunden bei 37—38°, so wird das Serum trübe und scheidet häufig Flocken ab. Kontrollen, die bei derselben Temperatur ohne Schüttelung gehalten werden, bleiben klar. Wir werden später sehen, daß dieses Phänomen jedoch nicht die eigentliche Ursache der Inaktivierung sein kann. Jedenfalls deutete dieses Löslichkeitsphänomen darauf hin, daß physikalische Verhältnisse bei dem Zustandekommen der Inaktivierung beteiligt sein könnten. Von diesem Gesichtspunkte aus haben wir geprüft, ob aktives Serum durch Lagerung im gefrorenen Zustande seine Schüttel-Inaktivierbarkeit verliert, und besonders ob umgekehrt das durch Schütteln inaktivierte Serum durch Einfrieren und Wiederauftauen seine Wirksamkeit wiedergewinnt.

Versuch: Vollständig eingefrorenes Meerschweinchenserum wird bei Zimmertemperatur aufgetaut, aufs 10-fache durch physiologische Kochsalzlösung verdünnt und 1½ Stunden im Brutschrank geschüttelt. Die Komplementwirkung des Serums erwies sich mindestens um das 5-fache vermindert, die höchste untersuchte Dosis (1 ccm) war völlig unwirksam, während von dem Normalserum bereits 0,2 ccm inkomplette Hämolyse hervorrief.

Versuch: Frisch gewonnenes Meerschweinchenserum wird 1½ Stunde im Brutschrank geschüttelt, eine Kontrolle ungeschüttelt bei gleicher Temperatur belassen.

Beim Schüttelserum nirgends Hämolyse, beim Normalserum überall Hämolyse.

Nunmehr werden beide Portionen eingefroren (im Frigo), nach 4 Tagen aufgetaut und wiederum geprüft.

Es wurde dasselbe Resultat wie vor dem Einfrieren erzielt.

Aus diesen Versuchen geht also ganz eindeutig hervor, daß im gefrorenen Zustande weder das aktive Serum die Fähigkeit verliert, durch Schütteln inaktiviert zu werden, noch das inaktive Serum seine Aktivität wiedergewinnt.

Nunmehr war es unser Bestreben festzustellen, ob das Schüttelserum unwiederbringlich inaktiv ist oder ob man es wieder aktivieren kann. Es ist uns gelungen, diese Frage zu klären. Das war uns möglich, indem wir an die schönen Ver-

suche von Ferrata aus dem Laboratorium von Morgenroth und an die wichtigen Arbeiten von Sachs und seinen Mitarbeitern über die Komponenten der Komplemente anknüpften¹⁾. Diese Autoren haben den Nachweis geführt, daß man das Komplementserum in zwei Fraktionen aufteilen kann. Sachs und Altmann haben hierfür ein Verfahren beschrieben, welches auch uns sich in zahlreichen Versuchen durchaus bewährt hat: „Man mischt 0,5 ccm Meerschweinchen-serum mit 4,1 ccm $\frac{1}{300}$ — $\frac{1}{250}$ Normalsalzsäurelösung (in destilliertem Wasser), läßt das Gemisch eine Stunde bei Zimmer-temperatur stehen und zentrifugiert ab. Das Sediment (Mittelstück) wird in einem beliebig zu wählenden Volumen destillierten Wassers aufgeschwemmt. Der Abguß (Endstück) wird noch einmal filtriert und sodann durch Zusatz von 0,4 ccm 10-proz. Kochsalzlösung, welche $\frac{1}{25}$ — $\frac{1}{30}$ Normalnatronlauge enthält, neutralisiert und auf den isotonischen Salzgehalt gebracht.“

Es gelang uns sehr bald, regelmäßig die Fraktionen so zu erhalten, daß sie getrennt ohne Wirkung waren, vereint aber deutlich wirkten. Die sogenannte Endfraktion hatte allerdings meistens eine schwache Vollwirkung. Wir benutzen im folgenden die Bezeichnungen: Mittelstück und Endstück, ohne daß wir hier zu den Anschauungen, welche dieser Nomenklatur zugrunde liegen, Stellung nehmen. Wie Sachs und seine Mitarbeiter fanden auch wir, daß nicht immer die größten Wirkungen erzielt werden, wenn man möglichst viel von einer Fraktion anwendet, sondern daß Ueberschüsse hemmen können.

Wir haben geprüft, ob die Endstück- und Mittelstückfraktion das Schüttelserum aktivieren. Im Anfang hatten wir ungleichmäßige Resultate. Das beruhte offenbar darauf, daß es auch hier sehr auf die quantitativen Verhältnisse ankommt. Als wir hinreichend detaillierte Versuche anstellten, also recht viele einzelne Dosen prüften, kamen wir zu gleichmäßigen Ergebnissen.

1) Literatur hierüber siehe bei Hans Sachs, Hämolyse und Cytotoxine des Blutserums. Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 2, 1909, 2. Lieferung.

Die Mittelstück- und Endstückfraktionen wurden ganz nach Sachs und Altmann bereitet, die Verdünnung wurde so gewählt, daß sie etwa einem 10-fach verdünnten Serum entsprach; bei der Mittelstückfraktion wurde immer erst unmittelbar vor der Anstellung des hämolytischen Versuches der Kochsalzgehalt von 0,85 Proz. durch Zufügung von 5-proz. Kochsalzlösung hergestellt.

Versuch: Schüttelserum sehr trüb und flockig, Ambozeptor $\frac{1}{10000}$, höchste Temperatur im Brutschrank 38,3°.

Endstück 0,5 und 1,0 Spur Hämolyse.

Mittelstück 0,5 und 1,0 keine Hämolyse.

Endstück 0,5 + Mittelstück 0,5 fast komplette Hämolyse.

Endstück 1,0 + Mittelstück 1,0 komplette Hämolyse.

Schüttelserum (0—0,2—0,4—0,6—0,8—1,0) keine Hämolyse.

Schüttelserum	0 +	Endstück	1,0	Spur Hämolyse
"	0,2 +	"	1,0	geringe Hämolyse
"	0,4 +	"	1,0	fast komplette Hämolyse
"	0,6 +	"	1,0	" " "
"	0,8 +	"	1,0	" " "
"	1,0 +	"	1,0	" " "
Schüttelserum	0 +	Mittelstück	1,0	keine Hämolyse
"	0,2 +	"	1,0	" "
"	0,4 +	"	1,0	Spur "
"	0,6 +	"	1,0	geringe "
"	0,8 +	"	1,0	" "
"	1,0 +	"	1,0	" "
Normalserum	0			keine Hämolyse
"	0,2			geringe Hämolyse
"	0,4			fast komplette Hämolyse
"	0,6			komplette Hämolyse
"	0,8			
"	1,0			

Versuch: Ambozeptor $\frac{1}{8000}$, höchste Temperatur 37,9°.

Endstück 0,6—0,8—1,0 keine Hämolyse.

Mittelstück 0,6—0,8—1,0 " "

Endstück	1,0 +	Mittelstück	0	keine Hämolyse
"	1,0 +	"	0,2	inkomplette Hämolyse
"	1,0 +	"	0,5	komplette Hämolyse
"	1,0 +	"	0,7	
"	1,0 +	"	1,0	
Mittelstück	1,0 +	Endstück	0	keine Hämolyse
"	1,0 +	"	0,2	inkomplette Hämolyse
"	1,0 +	"	0,5	fast komplette "
"	1,0 +	"	0,7	komplette "
"	1,0 +	"	1,0	
Schüttelserum	1,0 +	Mittelstück	0	keine Hämolyse
"	1,0 +	"	0,2	inkomplette Hämolyse
"	1,0 +	"	0,5	fast komplette "
"	1,0 +	"	0,7	"komplette "
"	1,0 +	"	1,0	

Schüttelserum	1,0 +	Endstück	0,2	inkomplette Hämolyse
„	1,0 +	„	0,5	} fast komplette Hämolyse
„	1,0 +	„	0,7	
„	1,0 +	„	1,0	
Endstück	1,0 +	Schüttelser.	0,1	keine Hämolyse
„	1,0 +	„	0,5	inkomplette Hämolyse
„	1,0 +	„	1,0	fast komplette Hämolyse
Mittelstück	1,0 +	Schüttelser.	0,1	keine Hämolyse
„	1,0 +	„	0,5	geringe „
„	1,0 +	„	1,0	fast komplette Hämolyse
Normalserum	0			keine Hämolyse
„	0,5			} komplette Hämolyse
„	1,0			

Beide Fraktionen können also das Schüttelserum aktivieren. Man muß demnach annehmen, daß auch das Schüttelserum trotz seiner Inaktivität beide Komplementkomponenten in potentieller Form enthält. Diese vorläufige Formulierung wird gewiß noch mancher experimentellen Prüfung bedürfen, ehe sie vor anderen Möglichkeiten ein entscheidendes Vorrecht beanspruchen kann. Zur weiteren Analyse bot sich uns ein Weg, indem wir die flockige Trübung des Schüttelserums durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit trennten. Da die Mittelstückfraktion an einen unlöslichen Niederschlag gebunden ist, so konnte man vermuten, daß vielleicht der im Schüttelserum vorhandene Niederschlag das Mittelstück aus dem Serum entfernt hat. Das Experiment zeigte aber, daß diese Vermutung, welche sich auf äußere Analogien stützte, unrichtig war. In der Tat war der Niederschlag ziemlich unwirksam, enthielt aber, wie das Schüttelserum, beide Fraktionen, während das klare Zentrifugat nur durch Endstück aktiviert wurde, sich also wie die Mittelstückfraktion verhielt. Von dem auf anderem Wege hergestellten Mittelstück unterscheidet sich das aus dem Schüttelserum gewonnene Mittelstück dadurch, daß es klar gelöst ist.

Versuch: Höchste Temperatur im Brutschrank 38,6°. Nach dem Schütteln wird das Serum zentrifugiert und die Flüssigkeit außerdem noch filtriert. Der durch Zentrifugieren gewonnene Bodensatz wird in Wasser aufgeschwemmt und ganz so, wie die nach Sachs und Altmann hergestellte Mittelstückfraktion unmittelbar vor dem Ansetzen des hämolytischen Versuches durch Zufügung von 5-proz. Kochsalzlösung auf einen Salzgehalt von 0,85 Proz. gebracht. — Ambozeptor $\frac{1}{8000}$.

Wir werden im folgenden die beiden aus dem Schüttelserum gewonnenen Fraktionen als Schüttelabguß und Schüttelbodensatz bezeichnen.

Endstück	0,6—0,8—1,0	Spürchen	Hämolyse
Mittelstück	0,6—0,8—1,0	keine	„
Endstück	1,0 +	Mittelstück	0 Spürchen Hämolyse
„	1,0 +	„	0,2) geringe „
„	1,0 +	„	0,5) fast komplette „
„	1,0 +	„	0,7) komplette „
„	1,0 +	„	1,0) komplette „
Mittelstück	1,0 +	Endstück	0 Spürchen Hämolyse
„	1,0 +	„	0,2) geringe „
„	1,0 +	„	0,5) inkomplette „
„	1,0 +	„	0,7) fast komplette „
„	1,0 +	„	1,0) komplette „
Schüttelabguß	1,0 +	Mittelstück	0 keine Hämolyse
„	1,0 +	„	0,2) „ „
„	1,0 +	„	0,5) Spürchen Hämolyse
„	1,0 +	„	0,7) „
„	1,0 +	„	1,0) „
Schüttelabguß	1,0 +	Endstück	0,2 geringe Hämolyse
„	1,0 +	„	0,5) inkomplette Hämolyse
„	1,0 +	„	0,7) fast kompl. „
„	1,0 +	„	1,0) fast kompl. „
Schüttelabguß	0,1 +	Endstück	1,0 geringe Hämolyse
„	0,5 +	„	1,0 inkomplette „
„	1,0 +	„	1,0 fast kompl. „
Schüttelabguß	0,1 +	Mittelstück	1,0 Spürchen Hämolyse
„	0,5 +	„	1,0 Spur „
„	1,0 +	„	1,0 „ „
Schüttelbodensatz	1,0 +	Mittelstück	0 keine Hämolyse
„	1,0 +	„	0,1) „ „
„	1,0 +	„	0,5) geringe „
„	1,0 +	„	1,0) fast kompl. Hämolyse
„	1,0 +	Endstück	0,1 Spur „
„	1,0 +	„	0,5) geringe „
„	1,0 +	„	1,0) fast komplette „
Normalserum	0	keine	Hämolyse
„	0,5	fast kompl.	Hämolyse
„	1,0	komplette	„

Versuch: Höchste Temperatur 38,4°. — Alles wie im vorigen Versuche.

Endstück	0,6—0,8—1,0	keine	Hämolyse
Mittelstück	0,6—0,8—1,0	„	„
Endstück	1,0 +	Mittelstück	0 keine Hämolyse
„	1,0 +	„	0,2 Spürchen „
„	1,0 +	„	0,5 Spur „
„	1,0 +	„	0,7 geringe „
„	1,0 +	„	1,0 inkompl. „

Mittelstück	1,0 +	Endstück	0	keine Hämolyse
"	1,0 +	"	0,2	Spur "
"	1,0 +	"	0,5	geringe "
"	1,0 +	"	0,7	inkompl. "
"	1,0 +	"	1,0	" "
Schüttelabguß	1,0 +	Mittelstück	0	keine Hämolyse
"	1,0 +	"	0,2	} Spürchen Hämolyse
"	1,0 +	"	0,5	
"	1,0 +	"	0,7	
"	1,0 +	"	1,0	
Schüttelabguß	1,0 +	Endstück	0,2	geringe Hämolyse
"	1,0 +	"	0,5	inkomplette Hämolyse
"	1,0 +	"	0,7	} fast kompl. Hämolyse
"	1,0 +	"	1,0	
Schüttelabguß	0,1 +	Mittelstück	1,0	} keine Hämolyse
"	0,5 +	"	1,0	
"	1,0 +	"	1,0	
Schüttelabguß	0,1 +	Endstück	1,0	keine Hämolyse
"	0,5 +	"	1,0	inkompl. "
"	1,0 +	"	1,0	kompl. "
Schüttelbodensatz	1,0 +	Mittelstück	0	} keine Hämolyse
"	1,0 +	"	0,1	
"	1,0 +	"	0,5	Spur "
"	1,0 +	"	1,0	geringe "
"	1,0 +	Endstück	0,1	keine "
"	1,0 +	"	0,5	} geringe "
"	1,0 +	"	1,0	
Normaleserum	0			keine Hämolyse
"	0,5			} kompl. "
"	1,0			

Nach diesen Beobachtungen muß man damit rechnen, daß ein gewisser Zusammenhang zwischen Inaktivierung und Niederschlagsbildung besteht. Nur darf man nicht glauben, daß die Inaktivierung die direkte Folge der Niederschlagsbildung ist. Denn wir werden nunmehr Versuche kennen lernen, bei denen unter abgeänderten Bedingungen ein Niederschlag bei der Schüttelung zwar regelmäßig sich bildet, die Inaktivierung aber nur unregelmäßig erfolgt. Die bisher geschilderten Versuche waren alle in Gefäßen aus gewöhnlichem Glase angestellt. Bei der Empfindlichkeit der Komplemente und bei der Analogie zwischen den Komplementen und den bei der Gerinnung beteiligten Serumbestandteilen schien es nicht ausgeschlossen, daß die Wand des Gefäßes von Einfluß auf die Schüttelinaktivierung ist. In einer Versuchsreihe prüften wir deshalb, ob die Schüttelinaktivierung auch in Ge-

fäßen aus Jenenser Glas erfolgt, in einer zweiten Reihe untersuchten wir das Verhalten in paraffinisierten Gefäßen.

In Jenenser Kolben haben wir acht Versuche angestellt, die Sera trübten sich auch beim Schütteln, aber die Wirkung auf die Komplemente war eine nur sehr wenig ausgesprochene. Nur in zwei Versuchen war sie deutlich nachweisbar, in den übrigen 6 Versuchen war die Inaktivierung gering oder gar nicht vorhanden. Von acht Versuchen in paraffinisierten Kolben wurde das Komplement immer abgeschwächt, allerdings nur 5mal hochgradig, 2mal weniger, 1mal in ganz geringem Grade.

In Jenenser Kolben erfolgt also die Schüttelinaktivierung nur unvollkommen und unsicher. Möglicherweise ist die Alkalimenge, welche gewöhnliches Glas an die Innenflüssigkeit abgibt, unentbehrlich. Das müßte natürlich noch besonders geprüft werden. Nur um zu erläutern, wie das Alkali der Wand beim Schütteln besondere Wirksamkeit entfalten kann, sei auf folgendes hingewiesen. In der Kontrollprobe, welche ruhig im Brutschrank steht, wird das Alkali aus der Wand langsam und allmählich in die Flüssigkeit übertreten und sich durch Diffusion weiter verbreiten. Wird die Flüssigkeit aber kräftig geschüttelt, so kommen immer neue Flüssigkeitsteile mit der Wand in Berührung, die Diffusion wird beschleunigt und die Alkalisierung kann viel ausgiebiger sein. Vielleicht ist die Schüttelinaktivierung mehr oder weniger eine Alkaliinaktivierung. Das wird durch geeignete Versuche wohl zu entscheiden sein. Die Versuche mit paraffinisierten Gefäßen würden der hier als möglich erörterten Auffassung nur dann widersprechen, wenn das Paraffin ein mit Sicherheit ganz indifferentes Material wäre, und wenn die physikalische Wandbeschaffenheit mit Bestimmtheit ganz ohne Bedeutung wäre. Diese Versuchsreihen können aber überhaupt nur die Richtung für weitere Beobachtungen andeuten.

Endlich haben wir noch festgestellt, daß das inaktivierte Schüttelserum nicht die Wirkung des Normalserums hemmt, wie es nach naheliegenden Analogien möglich war. Das negative Resultat ist unabhängig davon, ob die Inaktivierung in gewöhnlichen Kolben, in Jenenser Kolben oder in paraffinisierten Gefäßen erfolgt. Auch das Schüttelserum, aus dem

durch Zentrifugieren der Niederschlag entfernt worden ist, besitzt keine Hemmungswirkung.

Zusammenfassung.

1) Das hämolytische Komplement des Meerschweinchen-serums wird durch 1 $\frac{1}{2}$ -stündiges Schütteln bei Brutschranktemperatur inaktiviert. Bei niederer Temperatur muß die Schüttelzeit länger gewählt werden.

2) Beim Schütteln im Brutschrank trübt sich das Serum und scheidet einen Niederschlag ab, während das ungeschüttelte Serum, welches bei derselben Temperatur gehalten wird, klar bleibt.

3) Aktives Serum verliert im gefrorenen Zustande nicht seine Schüttelinaktivierbarkeit, durch Schütteln inaktiviertes Serum wird im eingefrorenen Zustande nicht wieder aktiv.

4) Das Schüttelserum wird sowohl durch Zusatz von Endstück wie von Mittelstück aktiviert.

5) Der Bodensatz des Schüttelserums wird durch beide Komplementfraktionen aktiviert, die zu erzielende Wirkung ist aber nur gering.

6) Der durch Zentrifugieren des Schüttelserums zu erhaltende klare Abguß wird nur durch Endstück aktiviert, die zu erzielende Wirkung ist ziemlich erheblich.

7) In Jenenser Kolben erfolgt die Schüttelinaktivierung nur unvollkommen und unsicher, in paraffinisierten Kolben wird das Serum durch Schütteln fast so gut wie in gewöhnlichen Kolben inaktiviert. Es wird erörtert, inwieweit Alkali bei der Schüttelinaktivierung notwendig sein könnte.

8) Das Schüttelserum hemmt nicht die Komplementwirkung des aktiven Normalserums.

Nachdruck verboten.

Ueber das serobiologische Verhalten der Geschlechtszellen.

Von **W. P. Dunbar,**

Direktor des staatlichen Hygienischen Instituts in Hamburg.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Januar 1910.)

Im Laufe von Untersuchungen, die mich seit vielen Jahren beschäftigen, sah ich mich wiederholt vor die Frage gestellt, ob wohl die Geschlechtszellen in serobiologischer Beziehung eine Sonderstellung einnehmen.

Die Literatur enthält Arbeiten, die diese Frage berühren. Fast ausnahmslos handelt es sich aber um Versuche, die nicht mit reinen, sondern mit Mischsubstanzen angestellt waren, und demgemäß auch keine reinen Resultate liefern konnten. Das gilt z. B. für alle mir bekannten Veröffentlichungen über das serobiologische Verhalten von Spermatozoen. Die bislang untersuchten weiblichen Zellen waren befruchtet.

Nur eine Arbeit ist mir bekannt geworden, deren Wortlaut nicht ohne weiteres ausschließt, daß reines Zellmaterial verwendet wurde. Nach den Ergebnissen und Schlußfolgerungen der betreffenden Arbeit, auf die ich noch zurückkommen werde, müssen aber sehr erhebliche Fehlerquellen unterlaufen sein, denn die Autoren kommen auf Grund ihrer Versuche zu dem Schluß, daß alle Pflanzenteile bzw. Zellen serobiologisch gleichartig seien. Dieselbe Auffassung liegt einer Kritik zugrunde, die von sehr beachtenswerter Seite an einer von mir veröffentlichten Arbeit geübt worden ist. Dort wird erklärt, die Zellen, von denen ich einen genetischen Zusammenhang annahm, hätten miteinander nichts zu tun, wenn sie nicht dasselbe Eiweiß hätten, d. h. serobiologisch übereinstimmend reagierten, „das sei so Sitte zwischen Mutter und Kind“.

Aus meiner so kritisierten Veröffentlichung braucht hier nur hervorgehoben zu werden, daß ich mir den Zusammenhang der in Frage kommenden, den niederen Pflanzen angehörigen Zellen, so gedacht hatte, wie etwa das Verhältnis des chlorophyllhaltigen Blattgewebes einer Pflanze zu den Pollen, den männlichen Geschlechtszellen, derselben Pflanze. Schon

seit vielen Jahren habe ich die serobiologische Methodik angewendet, ohne daß es mir gelungen wäre, dadurch den Beweis der Zusammengehörigkeit der mich interessierenden Zellen zu führen. Die oben aufgeworfene Frage lag mir deshalb sehr nahe, ob nicht vielleicht auch bei höheren Pflanzen und Tieren die Geschlechtszellen sich serobiologisch anders verhielten, als die übrigen Bestandteile desselben Organismus.

Meine hierhergehörigen Versuche, die ich schon vor Jahren eingeleitet habe, verfolgen keine besonderen, unmittelbar praktischen Ziele. Sie greifen eine Grundfrage der allgemeinen Biologie an und suchen unter anderem festzustellen, ob vielleicht auf serobiologischem Wege eine Erklärung für die erstaunliche Affinität der männlichen und weiblichen Geschlechtszellen zu finden wäre, für die sich auf chemischem Wege bislang eine irgendwie befriedigende Aufklärung nicht hat erbringen lassen. Obgleich meine Versuche über ein erstes Anfangsstadium noch nicht hinweggekommen sind, so haben sie doch in einem wichtigen Punkte einen Abschluß gefunden, der manchem Biologen neuartig erscheinen und Anregung zu weiteren Fragen physiologischer und entwicklungsgeschichtlicher Art geben dürfte. Aus diesem Grunde und auch weil geeignetes Material für einschlägige Nachprüfungen nur zu bestimmten Jahreszeiten erhältlich ist, habe ich es für angezeigt gehalten, den hierhergehörigen Teil meiner Experimente zu veröffentlichen.

Die Pollen vieler Windblütler, z. B. des Roggens (*Secale cereale*), vermag man von den übrigen Gewebselementen der Roggenpflanze völlig getrennt zu gewinnen. Stellt man z. B. Roggenähren, die soweit gereift sind, daß die Antheren im Begriffe stehen, hervorzutreten, mit den abgeschnittenen Stengeln einige Zentimeter tief in Wasser getaucht an einen warmen, wenn möglich sonnigen Ort, so reifen die Antheren nach, und sie streuen bald, gelegentlich schon innerhalb einer Stunde, ein gelbes Pulver aus, das sich bei mikroskopischer Prüfung als Pollen darstellt, die völlig frei sind von fremden Bestandteilen.

Mit Eiweißextrakten aus solchem Pollenmaterial habe ich schon im Jahre 1903 Präzipitationsversuche angestellt in Blutserum von Tieren, die mit denselben Extrakten behandelt

worden waren. Obgleich mir Sera zur Verfügung standen, die eine sehr hochwertige antitoxische Wirkung gegen das in den Pollen enthaltene Toxin zeigten, so ist es mir doch nicht gelungen, Präzipitationsreaktionen auch nur andeutungsweise auszulösen. Auf eine einzelne abweichende Beobachtung werde ich weiter unten zurückzukommen haben. Im Jahre 1908 nahm ich die Versuche zum Nachweis spezifischer Antikörper in solchem Serum mit Hilfe der Komplementablenkungsmethode wieder auf, die in früheren Jahren zu unbefriedigenden Resultaten geführt hatten. Es stellte sich heraus, daß das Blutserum der mit Pollenextrakten geimpften Kaninchen mit den homologen Pollenextrakten, selbst in starken Verdünnungen, vollständige Komplementablenkung ergab. Ich war in der Lage, die Pollenextrakte von Roggen (*Secale cereale*), von Goldrute (*Solidago puberula*), von Ambrosia (*Ambrosia artemisiaefolia*) und von anderen Pflanzen auf diesem Wege scharf zu unterscheiden. Gleichzeitig bot sich mir die Möglichkeit, das Verhalten solcher Pollensera gegenüber den Extrakten der übrigen Gewebsteile der homologen Pflanzen zu prüfen. Dabei haben sich nun die bemerkenswerten Tatsachen ergeben, die ich in den nachstehenden Tabellen zusammengestellt habe:

Tabelle I.

Komplementablenkungsversuch mit verschiedenen Organbestandteilen der Roggenpflanze (*Secale cereale*).

Art der Extrakte	Art des Immunserrums			Normales Kan.-Serum
	Roggen-Pollenserum	Roggen-Fruchtserum	Roggen-Blattserum	
Roggenpollen	0	fast komplett	komplett	komplett
Roggenfrucht	komplett	0	$\frac{1}{2}$	"
Roggenblätter	"	$\frac{1}{2}$	0	"
Roggenstengel	"	"	"	"
Roggenwurzel	"	"	"	"

Bei Zugrundelegung der Komplementablenkungsmethode verhält sich also das Polleneiweiß der Roggenpflanze gegenüber dem Eiweiß der Blätter, Stengel und Wurzel derselben Pflanze wie ein artfremdes Eiweiß.

Das Eiweiß der Roggenfrucht läßt bei Verwendung hochwertiger Sera seinen Gehalt an Polleneiweiß andeutungsweise erkennen (Rubr. 2). Ein Roggenfruchtimmunserrum ergibt mit

Roggenpollenextrakt nicht komplette, sondern fast komplette Lösung. Die Verwandtschaft ist aber so gering, daß sie sich nicht zeigt, wenn man Roggenfruchtextrakt mit Roggenpollenimmunserum zusammenbringt. Aehnlichen Verhältnissen werden wir später bei den Fischen noch begegnen. Roggenfruchtimmunserum gab mit Roggenblätterextrakt halbe Hemmung. Dasselbe zeigt sich bei Verwendung von Roggenblattimmunserum gegen Roggenfruchtextrakt. Ich habe zu diesem Versuch getrocknete Roggenfrüchte verwendet. Später wird noch zu zeigen sein, daß der Trocknungsprozeß für die hier in Frage stehenden Verhältnisse nicht ohne Einfluß ist. Sobald frische Roggenfrüchte zu haben sind, werde ich feststellen, ob bei diesen das Eiweiß nicht eine stärkere Verwandtschaft zu den Blättern zeigt.

Die Ergebnisse, die ich mit der Präzipitationsmethode erhielt, finden sich in der folgenden Tabelle:

Tabelle II.

Präzipitationsversuche mit verschiedenen Organbestandteilen der Roggenpflanze (*Secale cereale*).

Art der Extrakte	Art des Immunserums			Normales Kan.-Serum
	Roggen-Pollenserum	Roggen-Fruchtserum	Roggen-Blattserum	
Pollen von Roggen	0	0	0	0
Früchte von Roggen	0	+++	+	0
Blätter von Roggen	0	+	+++	0

Die Ergebnisse decken sich ganz mit denen im Komplementablenkungsversuch. Auch hier nimmt das Polleneiweiß eine vollständige Sonderstellung ein. Das Eiweiß von Frucht und Blatt zeigt Verwandtschaft, reagiert aber nicht so stark aufeinander wie homologes.

Besonders interessant ist die aus Tabelle II ersichtliche Tatsache, daß Roggenpollenserum mit dem homologen Extrakt nicht die geringste Andeutung einer Präzipitation gibt. Das verwendete Serum zeigte sich beim Komplementablenkungsversuch hochwertig.

Die Tatsache, daß hochwertige Pollenimmunsera mit den homologen Extrakten keine Präzipitation ergeben, will ich nicht ohne weiteres als eine Bestätigung der zur Zeit gelten-

den Auffassung hinstellen, daß der Präzipitationsmethode und der Komplementablenkungsmethode verschiedenartige Immunkörper zugrunde liegen. Denn gewisse Beobachtungen, auf die ich zurückzukommen haben werde, lassen die Deutung zu, es könnte die Präzipitation durch Anwesenheit gewisser in den Pollen enthaltener Stoffe gehemmt werden.

Für die aufgeworfene Frage läßt sich aus den beiden Tabellen entnehmen, daß das Polleneiweiß gegenüber dem Eiweiß der sonstigen Bestandteile derselben Pflanze, wie Blätter, Stengel und Wurzel, eine ausgesprochene Sonderstellung einnimmt. Die roten Blutkörperchen werden vollständig gelöst, wenn man Eiweißauszüge aus Roggenblättern, Roggenstengeln und Roggenwurzeln mit Roggenpollenimmenserum zusammenbringt. Die Roggenfrucht nimmt, wie weiter oben schon dargelegt wurde, eine leicht begreifliche Sonderstellung ein, indem das damit hergestellte Immuserum andeutungsweise eine Verwandtschaft mit dem Roggenpollenextrakt erkennen läßt (fast komplett). Diese Verwandtschaft zeigt sich aber nur, nachdem die Roggenfruchtseren sehr hochwertig geworden sind. Vorher vermißt man sie in denselben Seren.

Bei den eben beschriebenen Versuchen sind frische, vom Felde geholte Roggenblätter, Stengel und Wurzeln verwendet worden, dagegen getrocknete Roggenpollen und Roggenfrüchte. Aus getrockneten Roggenblättern, Stengeln und Wurzeln ließ sich nicht genügend Eiweiß für die Reaktion extrahieren. Auch fielen die Reaktionen weniger scharf aus, wenn ich Treibhauspflanzen verwendete, deren blasse Blattfarbe schon einen anormalen Zustand erkennen ließ.

Ich habe die Versuche auch auf andere Pflanzen ausgedehnt, um meine Befunde auf eine breitere Basis zu stellen und gleichzeitig zu prüfen, inwieweit die durch die serobiologischen Reaktionen zum Ausdruck kommenden Verwandtschaftsverhältnisse verschiedener Pflanzen sich mit der Gruppierung der botanischen Systematik decken würden. Dabei ergab sich in serobiologischer Beziehung ein näheres Verwandtschaftsverhältnis zwischen Roggen (*Secale cereale*), Weizen (*Triticum sativum*), Gerste (*Hordeum sativum*), Hafer (*Avena sativa*), Mais (*Zea Mays*), Reis (*Oryza clandestina*), Trespen

(*Bromus mollis* und *Bromus inermis*), Raygras (*Lolium perenne*), Knäuelgras (*Dactylis glomerata*). Dagegen reagierte italienisches Raygras (*Lolium multiflorum*) abweichend von den obengenannten Pflanzen, ebenso Syringen (*Syringa vulgaris*), Goldrute (*Solidago puberula*, *S. virgo aurea*, *S. nemoralis*, *S. canadensis*, *S. lanceolata*), *Ambrosia artemisiaefolia*.

Ich möchte nicht verfehlen, an dieser Stelle dankend hervorzuheben, daß der Direktor der Botanischen Staatsinstitute, Herr Professor Zacharias, sowie auch Herr Professor Klebahn in entgegenkommendster Weise für die Erfüllung meiner Wünsche in bezug auf Beschaffung der notwendigen Materialien gesorgt haben.

Unter den zuletzt angeführten Feststellungen bietet die Tatsache ein praktisches Interesse, daß alle geprüften Gramineen, deren Pollen das europäische Heufieber auslösen, sich serobiologisch verwandt erwiesen, jedoch artfremd gegenüber den beiden Pflanzen, die den amerikanischen Herbstkatarrh auslösen. Diese, *Solidago* und *Ambrosia*, verhalten sich serobiologisch untereinander wieder wie artfremde Pflanzen. Ein weiteres Eingehen auf diese und mehrere andere Tatsachen, die ich nebenbei habe feststellen können, würde mich von meinem Thema heute zu weit ablenken.

Von den verwendeten Pflanzen ließen sich wohl die spezifischen männlichen Geschlechtszellen isolieren, nicht aber die weiblichen. Es ließ sich also nur feststellen, daß das Eiweiß der männlichen Geschlechtszellen sich, serobiologisch gesprochen, im Vergleich zu dem Eiweiß der übrigen Gewebsteile wie artfremdes Eiweiß verhielt. Hierdurch war der Beweis dafür geliefert, daß die eingangs zitierte Kritik an meiner Veröffentlichung von ganz falschen Voraussetzungen ausging. Die festgestellten serobiologischen Tatsachen hatten nicht zur Widerlegung meiner Behauptungen geführt, sondern im Gegenteil eine wertvolle Stütze meiner Theorie abgegeben. Mein vorläufiges Ziel konnte ich aber nicht als erreicht ansehen, solange es mir nicht gelungen war, das Verhalten der spezifischen männlichen Geschlechtszellen gegenüber den weiblichen einerseits festzustellen, und andererseits das Verhältnis dieser beiden Zellarten gegenüber den übrigen Gewebszellen desselben Organismus. Obgleich ich mit vielen Kollegen

die Frage besprochen habe, bei welchen Pflanzen oder Tieren es gelingen möchte, die spezifischen weiblichen Geschlechtszellen unbefruchtet und ebenso rein von anderen Organbestandteilen getrennt zu gewinnen, wie bei den Pollen, gelang es mir doch nicht, völlig einwandfreie Objekte herauszufinden. Gelegentlich einer Besprechung meiner Versuchsergebnisse mit Herrn Professor Ruffer, Präsidenten des ägyptischen Quarantänewesens, kam dieser auf den Gedanken, man müßte doch das Sperma und die Eier von Fischen leicht von den übrigen Organbestandteilen trennen können. Früher hatten mir, wenn ich an den Rogen und das Sperma der Fische dachte, die Verhältnisse vor Augen gestanden, wie wir sie bei Konsumfischen antreffen, bei denen die Geschlechtsorgane in der Regel von Blutgefäßen stark durchwachsen sind. Bei laichreifen Fischen lösen sich aber zur Laichzeit die spezifischen Geschlechtszellen von den übrigen Organbestandteilen vollständig ab, so daß sie auf den leisesten Druck aus dem Körper frei austreten. Der Gedanke, daß sie in diesem Zustande für meine Zwecke verwertbar sein müßten, schien mir sehr einleuchtend. Von El Tor aus, wo ich mich damals befand, ersuchte ich Herrn Dr. O. K a m m a n n, entsprechende Versuche gleich einzuleiten. Das geschah mit Heringen (*Clupea harengus*), die in totem Zustande aufgekauft waren. Nach meiner Rückkehr war die Laichzeit der meisten Fische schon vorüber, es gelang mir aber durch die gütige Unterstützung des Herrn Fischereidirektor H. J. L ü b b e r t, noch geschlechtsreife Exemplare von Aland (*Leuciscus idus*), Güster (*Abramis blicca*), Rotauge (*Leuciscus rutilus*) und Brassen (*Abramis brama*) zu erhalten, später auch Karpfen (*Cyprinus cario*), Forelle (*Trutta fario*) und andere Fische.

Das Sperma bzw. der Rogen dieser Tiere wurde möglichst ohne Verletzung des Bauchfells herausgenommen, abgespült, aus dem Bauchfell herausgelöst, mit physiologischer Kochsalzlösung geschüttelt, zentrifugiert und mehrere Male mit Kochsalzlösung gewaschen. Das so erhaltene abzentrifugierte Material bestand bei den weiblichen Tieren aus perlenartigen Eiern, bei den männlichen Tieren aus einer milchigen Substanz, die bei mikroskopischer Betrachtung bewegliche Spermatozoen ergab. Dieses Material wurde im Mörser

zerrieben, nach Zusatz der 10-fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung und 0,2 Proz. Diaphtherin mindestens 24 Stunden der Extrahierung überlassen. Das Fleisch der Fische wurde von Knochen und Haut abgelöst, abgewaschen, in der Schneidemaschine oder im Mörser zerkleinert und nach Zusatz der 10-fachen Menge Kochsalzlösung sowie 0,2 Proz. Diaphtherin ebenfalls extrahiert. Die Extrakte wurden zentrifugiert und durch gehärtete Filter geschickt. Für die Präzipitationsversuche wurde der Extrakt soweit verdünnt, daß er etwa 1:300 Eiweiß enthielt. Für die Komplementablenkungsversuche mußte die Konzentration von Fall zu Fall eingestellt werden. Namentlich zeigte der Rogenextrakt in zu starken Konzentrationen Neigung zu nichtspezifischer Komplementbindung. Auf die Technik der Komplementablenkungsversuche werde ich weiter unten zurückzukommen haben.

An dieser Stelle wird es genügen, die Ergebnisse anzuführen, die ich mit einer Fischart erzielt habe, nämlich mit völlig laichreifem Aland, der während der Laichzeit geschlachtet wurde.

Tabelle III.

Präzipitationsversuche mit spezifischen Zellen des Aland (*Leuciscus idus*).

Art der Extrakte	Art des Immunserums. Aland			Normales Kaninchen-serum
	Rogen	Sperma	Fleisch	
Rogen von Aland	+++	0	0	0
Sperma von Aland	0	+	0	0
Fleisch von Aland	0	0	+++	0

Fügte man Blutserum von Kaninchen, die mit dem Extrakt des Alandfleisches behandelt waren, zu dem als Antigen benutzten Fleischextrakt, so trat sofort eine starke Trübung auf und innerhalb 1/2 Stunde starke Niederschlagsbildung (+++). Die Extrakte vom Rogen und Sperma desselben Fisches dagegen gaben überhaupt keine Trübung. Sie verhielten sich also, nach der Präzipitationsreaktion beurteilt, wie artfremde Substanzen.

Das Blutserum des mit dem Alandrogen geimpften Tieres ergab innerhalb 1/2 Stunde eine starke Niederschlagsbildung im Rogenextrakt, im Fleisch- und Spermaextrakt dagegen gar keine Trübung.

Das Blutserum des mit Spermaextrakt geimpften Tieres gab nur eine schwache Trübung mit dem Spermaextrakt, gar keine Trübung mit Fleisch- und Rogenextrakt desselben Tieres.

Nicht nur beim Aland, sondern auch beim Hering, Brassen, Karpfen, Forelle und anderen Fischen gelang es leicht, ein brauchbares Fleisch- und Rogenimmunserum zu gewinnen, dagegen erwies es sich sehr schwierig, ein hochwirksames Spermaserum zu erzielen. Wurden zu große Dosen intravenös injiziert, so magerten die Tiere stark ab und sie starben. Es mußte deshalb zur subkutanen Impfung übergegangen werden. Aber erst nach 10 oder mehr Impfungen gelang es, ein Serum zu gewinnen, das im homologen Extrakt eine schwache Trübung hervorrief. Stärkere Reaktionen habe ich mit Spermaextrakten überhaupt nicht bekommen. Zwischen den männlichen Geschlechtszellen der Pflanze und des Tieres zeigt sich also insofern eine gewisse Uebereinstimmung, als es bei ersteren gar nicht, bei letzteren aber nur unter großen Schwierigkeiten gelingt, ein Serum zu gewinnen, das mit dem homologen Extrakt eine positive Präzipitation ergab, und zwar auch nur sehr schwach.

Die Komplementablenkungsmethode führte beim Aland zu folgenden Resultaten:

Tabelle IV.

Komplementablenkungsversuche mit verschiedenen Organen des Aland (*Leuciscus idus*).

Art der Extrakte	Art des Immunserums. Aland			Normales Kaninchen-serum
	Rogen	Sperma	Fleisch	
Rogen von Aland	0	komplett	komplett	komplett
Sperma von Aland	komplett	0	0	„
Fleisch von Aland	„	komplett	0	„

Auch nach den Ergebnissen der Komplementablenkungsmethode beurteilt, verhält sich hiernach das Eiweiß der weiblichen Geschlechtszellen gegenüber dem Eiweiß der männlichen Geschlechtszellen wie artfremdes Eiweiß. Das Fleisch aber reagiert gegenüber beiden Arten der Geschlechtszellen wie artfremd. Die Blutkörperchen wurden vollständig aufgelöst (k.), obgleich die drei verwendeten Sera hochwertig waren und

gegenüber den homologen Eiweißauszügen vollständige Komplementablenkung ergaben (0).

Analoge Versuche sind beim Brassen (*Abramis brama*), Karpfen (*Cyprinus cario*), Hering (*Clupea harengus*) und der Forelle (*Trutta fario*) mit übereinstimmendem Ergebnis durchgeführt worden.

Auch das Blutserum von Fischen habe ich in Untersuchung genommen. In allen Fällen verhielt es sich gegenüber dem Immunserum von Rogen und Sperma wie ein artfremdes Eiweiß. Ein hochwertiges Karpfenblutimmunserum ergab mit Extrakten von Karpfenrogen und -sperma in einer Verdünnung 1:100 eine eben sichtbare Trübung, bzw. eine angedeutete Hemmung. Mit dem 10 000-fach verdünnten Karpfenblutserum trat sofort starke Reaktion auf und ergab sich vollständige Komplementablenkung. Da das betreffende Rogen- und Spermamaterial nicht völlig laichreif war, sondern von Blutgefäßen durchzogen, so bedarf die hierdurch aufgeworfene Frage noch einer weiteren Prüfung, mit der ich zur Zeit beschäftigt bin.

Ich habe eine Reihe von Versuchen bei jüngeren Fischen durchgeführt, bei denen die Geschlechtsorgane noch nicht zur Reife entwickelt und sowohl bei den männlichen, wie weiblichen Tieren, von starken Blutgefäßen durchwachsen waren. Hier waren reine Resultate nicht zu erzielen, sondern die gewonnenen Sera reagierten, wie zu erwarten stand, sowohl gegen die verwendeten Geschlechtszellen, als auch gegen das Blutserum desselben Tieres.

Die Rogenextrakte unterlagen selbst bei hinreichender Konservierung Zersetzungen, die sich durch das Auftreten von Substanzen dokumentierten, welche an und für sich, in nichtspezifischer Weise, hemmend wirkten. Bei nicht genügend konservierten, in Zersetzung begriffenen Extrakten, trat eine besonders starke, nichtspezifische Hemmung in Erscheinung.

Der Versuch, die Extrakte durch Eindampfen im Vakuum bei 40—45° C haltbarer zu machen, scheiterte daran, daß die offenbar sehr labilen spezifischen Stoffe verändert wurden, so daß die Geschlechtszellen untereinander und mit dem Fleisch Verwandtschaftsreaktionen zeigten. Diese Verwischung der

Differenzen fand sich aber bislang nur bei Tieren, die ein und derselben Ordnung angehörten.

Auch das Pökeln der Fische führt anscheinend zur Verwischung der beschriebenen Differenzen, was angesichts der starken Auslaugung, mit der in der Salzlake zu rechnen ist, nicht auffallen kann.

Nach Aufklärung solcher Ursachen für zahlreiche abweichende Reaktionen, die mir bei der Komplementablenkungsmethode zur Beobachtung kamen, trat überall die Tatsache klar in Erscheinung, daß bei Prüfung laichreifer Fische, während ihrer Laichzeit, sich das Eiweiß der männlichen Geschlechtszellen gegenüber dem Eiweiß der weiblichen Geschlechtszellen, serobiologisch gesprochen, wie ein artfremdes Eiweiß verhält und umgekehrt; daß ferner das Fleischeiweiß sich gegenüber dem Eiweiß beider Geschlechtszellarten wie artfremdes Eiweiß verhält.

Ich habe die einschlägigen Versuche, wie gesagt, mit mehreren Fischarten durchgeführt. Bislang konnte ich diese nicht alle im laichreifen Zustande und zur Laichzeit erhalten. Ich will deshalb hier nur als vom praktischen Standpunkte erwähnenswert hervorheben, daß das Fleischeiweiß von 33 Fischarten, die sämtlich der Ordnung der Knochenfische (Teleostei) angehörten, sowohl nach der Präzipitations- als auch nach der Komplementablenkungsmethode, eine Verwandtschaftsreaktion gab; zum Teil wie homologes Eiweiß reagierte, zum Teil aber eine quantitative Differenzierung zuließ. Die einzelnen Fischarten sollen an anderer Stelle namentlich aufgeführt werden. Hier möchte ich nur einzelne Beispiele hervorheben, um das Frappante der berichteten Versuchsergebnisse deutlich vor Augen zu führen.

Das Fleischeiweiß der Bachforelle (*Trutta fario*) reagiert, serobiologisch gesprochen, verwandt mit dem Fleischeiweiß des Flußaales (*Anguilla vulgaris*). Da nun das Eiereiweiß der Forelle gegenüber dem Fleischeiweiß der Forelle wie völlig artfremd reagiert, so steht das Fleischeiweiß des Aales dem Fleischeiweiß der Forelle näher als deren eigenes Eiereiweiß.

Aus der großen Zahl der untersuchten Fische könnte ich noch manche anderen Beispiele anführen, die einen jeden überraschen müssen, der die Brauchbarkeit der serobiologischen

Methoden zur Unterscheidung verschiedener Eiweißarten kennt. An dieser Stelle soll aber nur noch folgender Vergleich gezogen werden: Das Fleischiweiß des Herings (*Clupea harengus*), also eines Salzwasserfisches, reagiert verwandt mit dem Fleischiweiß des Alands, eines in deutschen Süßwässern vorkommenden Fisches. Das Eiereiweiß des Herings reagiert gegenüber seinem eigenen Fleischiweiß vollständig artfremd, jedoch verwandt mit dem Eiereiweiß des Alands.

Hiernach steht soviel fest, daß es sehr verkehrt ist, anzunehmen, ein und derselbe Organismus produziere nur Eiweiß, das sich serobiologisch übereinstimmend verhielte. Diese Frage war übrigens durch die Untersuchungen von Uhl en h u t h ¹⁾ u. a. auf anderem Wege bereits in demselben Sinne entschieden.

Wenngleich ich gefunden habe, daß das Eiereiweiß sehr verschiedener Fische serobiologisch verwandt reagierte, so habe ich doch andererseits den Eindruck bekommen, daß eine systematische Durchprüfung der Eier verschiedener Fische eine serobiologische Differenzierung noch möglich machen wird, wo die Prüfung des Fleischiweißes versagt. Ebenso scheint es bei dem Spermaeiweiß zu liegen. Auch hier scheint unter den verschiedenen Fischen eine höhere Differenzierung vorzuliegen als beim Fleischiweiß. Sehr naheliegend ist die Frage, ob bei den Fischen, bei denen das Eiweiß der Eier oder der Spermazellen serobiologisch identisch reagiert, die Möglichkeit zur Bastardierung vorliegt.

Nachdem ich die geschilderten Verhältnisse für die mir zugänglichen Teleostei festgestellt hatte, habe ich vergleichende Versuche mit Vertretern der II. und III. Ordnung der Fische, sowie mit dem Grindwal (*Globiocephalus melas*) angestellt. Als Vertreter der Ganoidei stand mir bislang der Stör (*Acipenser sturio*) zur Verfügung. Dessen Fleischiweiß zeigte serobiologisch Verwandtschaft mit dem der Knochenfische. Als Vertreter der III. Ordnung (Rundmäuler, *Cyclostomi*) standen mir geschlechtsreife weibliche Neunaugen (*Petromyzon fluviatilis*) zur Verfügung. Es ließ sich feststellen, daß auch das Rogeneiweiß der Neunaugen gegenüber dem Fleisch desselben Fisches in der Präzipitation sowohl, als

1) Siehe Uhl en h u t h u. Weidanz. Jena (G. Fischer) 1909.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IV.

auch in der Komplementablenkung wie ein völlig artfremdes Eiweiß reagiert. Das Fleischeiweiß der Neunaugen zeigte sich gegenüber dem Fleischeiweiß der geprüften Teleostei und des Störes artfremd. Ebenso das Eiereiweiß der Neunaugen gegenüber dem Eiereiweiß der geprüften Teleostei. Diese Artverschiedenheit blieb auch nach Austrocknung des Materials manifest, sie scheint also auf stabilerer Grundlage zu beruhen, als die Differenzen zwischen den Eiweißarten ein und desselben Fisches.

Das Fleisch des Grindwals (*Globiocephalus melas*), den Hertwig zu der VII. Klasse V. Ordnung der Säugetiere rechnet, verhielt sich gegenüber dem Fleisch der Teleostei, des Störs und der Neunaugen wie artfremd.

Es ist hier nicht Raum für die zahlreichen Tabellen, welche ich nach meinen Ergebnissen zusammengestellt habe und welche die berichteten Befunde in sehr klarer, übersichtlicher und eindeutiger Weise veranschaulichen.

Eine Bestätigung werden meine Resultate nur erfahren können durch Versuche, die alle von mir als notwendig hervorgehobenen Vorbedingungen erfüllen und die bewährt befundenen Regeln der Technik in vollstem Maße berücksichtigen. Namentlich wird durch Vornahme des Präzipitationsversuches und vorherige Austitrierung der Immunsere festzustellen sein, daß diese hochwertig genug sind.

Zurzeit bin ich damit beschäftigt, festzustellen, wie die Aktionsbreite der Sera bei zunehmender Wertigkeit etwa wächst. Doch geht aus den beschriebenen Präzipitationsversuchen schon hervor, daß ich im Besitze sehr wirksamer Sera gewesen bin, daß mithin von einer noch weiteren Steigerung ihrer Wirksamkeit eine Verwischung der festgestellten Differenzen zwischen den weiblichen und männlichen Geschlechtszellen derselben Pflanze bzw. desselben Tieres nicht zu erwarten steht. Denn selbst ein Forellenrogenimmunserum, das mit dem Rogenextrakt 1 : 1 000 000 deutliche Präzipitation und vollständige Komplementablenkung ergab, zeigte keine erhöhte Aktionsbreite.

Ehe ich meine Schlußfolgerungen zusammenfasse, muß ich zu den vorliegenden einschlägigen Veröffentlichungen noch kurz Stellung nehmen.

Die Versuche von Landsteiner¹⁾, Metschnikoff²⁾, Metalnikoff³⁾, Moxter⁴⁾, Strube⁵⁾, London⁶⁾ u. a. haben, kurz gefaßt, zu dem Ergebnis geführt, daß die Einspritzung von Spermatozoënaufschwemmungen zur Bildung von Immunstoffen führt, die zwar spezifisch auf Spermatozoen wirken, nebenbei aber auch auf Blut resp. Blutserum. Uhlenhuth⁷⁾ hat Präzipitationsversuche mit solchen Seren angestellt und auch hier bestätigt gefunden, daß die Spermaimmunsera nicht allein mit Spermalösungen, sondern auch mit Blutserum reagieren. Den Grund hierfür habe ich eingangs schon angeführt. Schütze⁸⁾ hat analoge Feststellungen mit Blutimmunseren gemacht.

Alle Versuche, die seither gemacht worden sind, mit spezifischen Zellen, wie Leber-, Nieren-, Nervenzellen und roten Blutkörperchen, mußten naturgemäß auch zu solchen Mischreaktionen führen. Auf die erfolgreichen Versuche, die störenden Nebenreaktionen durch das Absättigungsverfahren zu beseitigen, kann hier nicht näher eingegangen werden. Ich verweise auf die Zusammenstellungen, die sich darüber in der schon zitierten, ausgezeichneten Monographie von Uhlenhuth und Weidanz finden.

Besonderer Erwähnung bedürfen verschiedene Versuche Uhlenhuths⁹⁾, die auf Isolierung und Identifizierung verschiedener Eiweißindividuen desselben Tieres hinauszielten. Er verimpfte Eidotter auf Kaninchen und erhielt in dem Eidotterimmunserum mit der homologen Eiweißlösung sofort eine starke Präzipitation, mit der Eiklarlösung selbst in stärkerer Konzentration erst nach Stunden eine ganz leichte Trübung. Das Hühnerdotterimmunserum gab auch mit Hühnerblutserum eine Reaktion, jedoch schwächer als mit der homologen Lösung.

- 1) Centralbl. f. Bakt., 1899, p. 546.
- 2) Annales d. l'Inst. Pasteur, T. 14, 1900, p. 1.
- 3) Annales d. l'Inst. Pasteur, T. 14, 1900, p. 577.
- 4) Deutsche med. Wochenschr., 1900, p. 61.
- 5) Deutsche med. Wochenschr., 1902, p. 425.
- 6) Arch. d. Sciences biologiques, T. 9, 1902.
- 7) Wiener med. Wochenschr., 1904, No. 43 u. 44.
- 8) Deutsche med. Wochenschr., 1902, p. 804.
- 9) Siehe Uhlenhuth und Weidanz. Jena (G. Fischer) 1909.

Im Anschluß an diese Versuche trat Uhlenhuth¹⁾ auch der Frage näher, ob sich eine Geschlechtsreaktion würde nachweisen lassen. Das mit Hilfe von Eiklar hergestellte Immunserum gab mit dem Blutserum von Hühnern eine stärkere Präzipitation als mit dem Blutserum von Hähnen.

Entsprechende Versuche bei Fischen habe ich nicht anstellen können, weil weder das Rogen-, noch auch das Sperma-eiweiß mit dem Blutserum der Fische reagiert. Mit Immunseren, die mit Hilfe von Fischblutserum und Fischfleisch hergestellt waren, ließen sich zwischen männlichen und weiblichen Individuen keine Unterschiede konstatieren.

Es mag noch erwähnt sein, daß Uhlenhuth²⁾ mit einem Immunserum, das mit Hilfe von Sperma hergestellt war, eine Differenzierung zwischen männlichem und weiblichem Blutserum nicht ermöglichen konnte.

Alle diese Uhlenhuthschen Feststellungen gehören in die Kategorie von Versuchen, bei denen insofern Mischreaktionen erzielt wurden, als die Immunsera gleichzeitig auf das Eiweiß der spezifischen Zellen und auf das Blutserum reagierten. Meine Ergebnisse weichen davon insofern ab, als mir das aus Rogen bzw. Sperma hergestellte Serum nicht die geringste Reaktion mit dem Blutserum der Fische ergab.

Schließlich konnte Uhlenhuth³⁾ nachweisen, daß das Eiweiß der Augenlinse mit keinem anderen Bestandteil desselben Organismus serobiologisch reagiert. Dieses ist der einzige, mir bekannt gewordene Fall einer vollkommenen Sonderstellung spezifischer Zellen.

Strittig konnte die Frage wegen Spezifität des durch Milcheinspritzung gewonnenen Immunserums, des Bordet-schen Laktoserums, nach der kürzlich von J. Bauer⁴⁾ veröffentlichten Arbeit erscheinen. Hiernach soll bei Anwendung der Komplementablenkungsmethode nur das Kolostrum gleich-

1) Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 37, p. 1548, Ref., und Eigenbericht des Greifswalder med. Vereins, Sitzung vom 5. Juli 1902.

2) Vortrag der 76. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Breslau, 19. Sept. 1904.

3) Festschrift zum 60. Geburtstage R. Kochs, 1903, p. 67.

4) Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 38, p. 1657.

zeitig auf Milch- und Blutimmunserum reagieren, nicht aber normale Milch. Hamburger¹⁾ glaubte mit Hilfe der Präzipitationsmethode festgestellt zu haben, daß Laktoserum nicht nur auf Milch, sondern auch mit dem Blutserum der gleichen Tierart präzipitierend wirke. Ueber diese Frage haben F. Meyer und L. Aschoff²⁾ eine sehr sorgfältige Arbeit publiziert. Die Autoren haben die Milch von 12 verschiedenen Kühen Kaninchen eingespritzt und gefunden, daß das gewonnene Laktoserum gleichzeitig Rinderblutkörperchen löste und Spermatozoen des Stieres immobilisierte. Injizierten sie Spermatozoen, Blut oder Trachealepithel auf Kaninchen, so erhielten sie spezifische Zellimmunsera, welche koagulierend auf Milchlösung wirkten. Bei späteren Versuchen hat sich Bauer³⁾ auch der Präzipitationsmethode bedient, und hier fand er bestätigt, daß auch bei normaler Milch das Laktoserum gleichzeitig mit Blutserum reagiert.

Eugen Neresheimer⁴⁾ hat das Blutserum verschiedener, der Ordnung der Teleostei angehöriger Fischarten miteinander verglichen und gefunden, daß manche Arten dieser Ordnung fremdartig reagierten, daß aber die Salmonidenarten serobiologisch nahe miteinander verwandt wären und daß ihnen der Flußhecht sehr nahe stehe. Weiter oben habe ich schon darauf hingewiesen, daß das Blutserum mit Immunserum von Rogen und Sperma desselben Tieres nicht reagierte. Immunserum von Blutserum reagierte aber, wenn auch nur andeutungsweise, mit Rogen sowohl als auch Sperma, jedoch vorläufig nur, wie schon erwähnt, bei nicht völlig laichreifen Fischen. Ich hoffe, die Frage bald zur Entscheidung bringen zu können, ob bei völlig laichreifem Material diese Reaktion sich zeigt. Auch nimmt das Blutserum gegenüber dem Fleisch der Fische eine Sonderstellung ein. Ich werde mich mit diesen letzteren Fragen noch weiter befassen. Mit meinem heutigen Thema haben sie nur indirekte Beziehungen.

1) Wiener klin. Wochenschr., 1901, No. 49.

2) Berliner klin. Wochenschr., 1902, No. 27, p. 638.

3) Zeitschr. f. experim. Path. u. Therap., Bd. 7, Heft 2, p. 417.

4) Berichte aus der Kgl. Bayerischen Biolog. Versuchsstat. in München, Bd. 2, 1909, p. 79.

Erst nach Abschluß meiner Versuche wurde ich auf die Arbeit von Werner Magnus und Hans Friedenthal¹⁾ aufmerksam. Diese Autoren haben, einem anderen Gedankengange folgend, ebenfalls die verschiedenen Bestandteile von Pflanzen als Antigene benutzt. Sie sind aber zu Resultaten gekommen, die von den meinigen völlig abweichen. Die Autoren, denen es darauf ankam, die verwandtschaftlichen Beziehungen von Pflanzen mit Hilfe der Präzipitinreaktion zu studieren, erklären, sie wären stillschweigend von der Vermutung ausgegangen, daß alle Pflanzenteile bzw. -zellen, sich bei dieser Reaktion gleichartig erweisen müßten. Sie untersuchten Preßsäfte aus Pollen, Früchten, Wurzeln, Sprossen und Blättern des Roggens, ferner Auszüge aus Samen von Weizen, Gerste und Hafer. Mit dem gewonnenen Roggensamenimmunserum erzielten sie starke Niederschläge bzw. deutliche Trübung in den Extrakten nicht nur des Roggensamens, sondern auch der Roggenpollen, sowie den anderen erwähnten Eiweißauszügen. Nur Hafersamenextrakt verhielt sich abweichend. Mit Hilfe des Roggenpollenimmunserums erhielten sie Niederschläge, bzw. starke Trübung in den Extrakten von Roggenpollen, Roggensamen und Roggenwurzeln, nicht aber in den Extrakten von Weizen-, Gerste- und Hafersamen. Zwar waren die Niederschläge, die sie mit Pollenimmunserum erhielten, geringer als bei den anderen Immunseren. Diesen Befund erklären sie aber durch die geringere Dauer der Behandlung, sowie durch die kleinere Summe der injizierten Substanz.

Auf Grund ihrer Untersuchungen erklären diese Autoren, daß die Gleichwertigkeit der verschiedenen Pflanzenbestandteile für die Verwandtschaftsreaktion der Pflanzen erwiesen sei.

Seit dem Jahre 1903 sind Herr Dr. O. Kamman und ich vergeblich bemüht gewesen, mit Hilfe von Immunserum, das durch Verimpfung von Pflanzenpollen gewonnen war, eine spezifische Präzipitation in eiweißhaltigen Extrakten von homologen Pollen zu erhalten. Nur einmal, kurz nach Beginn der Versuche, gelang es uns, mit Hilfe des Serums

1) Sonderabdr. aus Berichten d. Deutschen botanischen Gesellschaft 1907, „Ueber die Artspezifität der Pflanzenzellen“.

eines Pferdes, das lange Zeit hindurch mit großen Quantitäten von Pflanzenpollen geimpft worden war, eine starke Präzipitation im homologen, eiweißhaltigen Pollenextrakt zu erzielen. Auf diese Reaktion legte ich seinerzeit aus Gründen, die hier nicht näher erörtert werden sollen, großen Wert, und als die Nachprüfung bei anderen Tieren negativ ausfiel, haben wir im Laufe der folgenden Jahre die Versuche hundertfach wiederholt, ohne jemals die leichteste Trübung, geschweige denn eine Präzipitation zu erhalten, obgleich Sera von Tieren zur Verwendung kamen, die Jahre hindurch mit sehr großen Quantitäten von Pollen geimpft worden waren. Ich will hier nicht in detaillierter Weise alle die Manipulationen beschreiben, die wir mit den Pollenextrakten vorgenommen haben, um die bei einem Serum beobachtete Präzipitinreaktion wieder in Erscheinung zu bringen. Es sei nur bemerkt, daß das betreffende Pferd eine Woche nach Entnahme der besprochenen Blutprobe an Tetanus gestorben ist, und es als möglich hinstellen, daß die Krankheit vielleicht für das Auftreten der Präzipitinreaktion in diesem einzigen Falle verantwortlich zu machen sei.

Diese Befunde legen mir die Frage nahe, wie Magnus und Friedenthal zu so ganz abweichenden Resultaten haben kommen können. Um eine Aufklärung hierüber zu ermöglichen, möchte ich die Methoden beschreiben, die bei meinen Versuchen zur Anwendung kamen.

Die Kaninchen wurden in Zwischenräumen von 4—5 Tagen geimpft mit Extrakten aus Pollen, die in folgender Weise hergestellt waren. Die Pollen wurden im Mörser zunächst trocken zerrieben, dann wurde physiologische Kochsalzlösung (0,85 Proz.) in 10-facher Menge zugesetzt, dann, nach Zusatz von $\frac{1}{2}$ Proz. Phenol, 4 Stunden bei 37° extrahiert, über Nacht im Eisschrank gelassen, am nächsten Morgen zentrifugiert und, nach Entfernung des Niederschlages, der stark trübe Extrakt intravenös, teilweise auch subkutan oder intraperitoneal, schließlich auch, bei ein und demselben Tier, sowohl intravenös, wie subkutan und intraperitoneal eingespritzt.

Die intravenösen Impfungen begannen mit dem Extrakt aus $\frac{1}{2}$ g Pollen, die subkutanen mit 1 g Pollen. Die intravenösen Dosen wurden allmählich bis auf $2\frac{1}{2}$ g gesteigert, die subkutanen und intraperitonealen bis auf 5 g. In der Regel ergab schon die 4. intravenöse Impfung und die 8.—10. subkutane oder intraperitoneale Impfung ein Serum, das bei Anwendung der Komplementablenkungsmethode sich dem homologen

Extrakt gegenüber stark genug erwies. Trotz Fortsetzung der Impfungen bei solchen Tieren gelang es niemals, ein Serum zu erhalten, welches in den Extrakten aus homologen Pollen eine Trübung oder gar einen Niederschlag ergeben hätte.

Zwecks Anstellung der Präzipitinreaktion wurden die Extrakte stets ebenso hergestellt wie bei der Verimpfung, d. h. ein Teil Pollen und 10 Teile physiologische Kochsalzlösung, wie oben beschrieben, extrahiert. Die Extrakte wurden durch gehärtete Filter (Schleicher & Schüll, No. 575) filtriert. Wenn das Filtrat nicht klar genug erschien, wurde es durch Berkefeldsche Kieselgurfilter filtriert. Ich will nicht unerwähnt lassen, daß wir diese Filter nach Benutzung einer Rückspülung unterziehen, dann im Dampftopf sterilisieren, darauf mit physiologischer Kochsalzlösung auswaschen und feststellen, daß das Filtrat eiweißfrei ist, ehe wir es zu weiteren Versuchen benutzen.

Der geklärte Pollenextrakt wird mit physiologischer Kochsalzlösung soweit verdünnt, bis die Kochprobe einen Eiweißgehalt von etwa 1:300 bis 1:500 anzeigt. Die Kochprobe wurde durch quantitative Bestimmung des Eiweißgehaltes kontrolliert. Auf 1 ccm des verdünnten Extraktes wird 0,1 ccm Immuns Serum zugesetzt. Eine etwa eintretende spezifische Präzipitationsreaktion sollte sich, wenn man die Probe etwa 20 Minuten bei 37° C hält, schon anzeigen. Obgleich wir die Proben stundenlang bei 37° sowie auch bei Zimmertemperatur beobachtet haben, haben wir bei Zusatz von Pollenimmuns Serum zu dem Extrakt der homologen Pollen niemals eine Trübung erhalten.

Magnus und Friedenthal haben anscheinend mit stärker konzentrierten Extrakten gearbeitet als wir. Wir haben entsprechende Versuche mit unverdünnten Pollenextrakten gemacht, ohne daß wir jedoch eine spezifische Präzipitation erzielen konnten. Schließlich sind wir den genannten Autoren soweit gefolgt, daß wir 2 ccm Immuns Serum zu 0,02 ccm oder 2 ccm Extrakt setzten, ein Verfahren, wie es sonst bei der spezifischen Präzipitationsreaktion nicht üblich ist. Obgleich wir uns bei dieser Versuchsanordnung der Gefahr aussetzten, Niederschläge nichtspezifischer Art auszulösen, bzw. bakterielle Trübung zu erhalten, sind solche bei unseren Versuchen innerhalb einer halben Stunde nicht aufgetreten. Am nächsten Tage waren die Proben trübe, jedoch war das auch bei den Kontrollen der Fall, die Normalserum anstatt des spezifischen Serums erhalten hatten, bzw. gar kein Serum.

Diese Befunde bestätigten nur das, was Kamman und ich, wie erwähnt, schon seit Jahren bei unseren Versuchen mit Pollenextrakten beobachtet haben. Um ganz sicher zu gehen und Einflüsse individueller Art auszuschließen, habe ich Herrn Dr. Kamman gebeten, die Versuche an mehreren Tieren auszuführen. Im ganzen wurden 8 Kaninchen geimpft. Alle ergaben ganz übereinstimmende Resultate. Da es sich um Versuche handelt, die sich wochen- oder monatelang hinziehen, so habe ich, um jeden Irrtum irgendwelcher Art auszuschließen, dieselben Versuche auch in meinem Laboratorium durchgeführt mit anderen Tieren, die in einem anderen Stalle untergebracht waren. Die Resultate deckten sich auch hier

vollständig mit den oben beschriebenen und mit den in früheren Jahren erhaltenen.

Ich bin deshalb zu der Ansicht gekommen, daß man durch Verimpfung von Pollenextrakten nicht Immunsera herzustellen vermag, die eine spezifische Präzipitationsreaktion mit Extrakten aus homologen Pollen ergeben. Ich kann hinzufügen, daß dieser Schluß sich nicht nur auf Roggenpollen bezieht, sondern auch auf die Pollen von Mais, Solidago und Ambrosia. Bei Verwendung dieser 4 Pollenarten haben wir außer dem vorhin erwähnten Falle, wo es sich um ein krankes Tier handelte, niemals eine spezifische Präzipitation erhalten.

Für die Komplementablenkungsversuche wurden die Immunsera ebenso hergestellt, wie für die Präzipitationsversuche. Der Pollenextrakt muß in einer Konzentration verwendet werden, die an und für sich weder Komplement bindet, noch auch Blutkörperchen löst. Durch entsprechende Kontrollen wurde die Brauchbarkeit des Extraktes nach dieser Richtung in jedem Versuche festgestellt. Die Erfahrung hat uns gezeigt, daß der aus einem Teil Pollen und 10 Teilen physiologischer Kochsalzlösung hergestellte Extrakt mit physiologischer Kochsalzlösung ca. 10–50mal verdünnt werden mußte, um die erwähnten Fehlerquellen auszuschalten, und daß er in solchem Falle noch genügende Mengen von Eiweiß enthielt. Als System wurde verwendet: gewaschene Hammelblutkörperchen in 5-proz. Aufschwemmung und inaktiviertes Hammelblut-Immunsersum mit einem Titer 1:10 000. Als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum verwendet, und zwar nur so lange, als das in physiologischer Kochsalzlösung 10-fach verdünnte Serum sich in einer Menge von höchstens 1 ccm wirksam erwies.

Der Versuch wurde in folgender Weise durchgeführt:

1 ccm des beschriebenen Extraktes wurde mit 0,1 ccm des homologen Immunsersums und der vorher festgelegten Menge Komplement zusammengebracht, durchgemischt und eine Stunde auf 37° gestellt. Nach dieser Zeit wurde 1 ccm 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen und Ambozeptor (in allen in Frage stehenden Versuchen 0,1 ccm 1:500) zugesetzt. Die Röhren wurden wieder auf 37° gebracht, festgestellt, nach welcher Zeit die Kontrollen gelöst sind, im ganzen 2 Stunden bei 37° C gehalten, und nach Sedimentierung im Eisschrank das Resultat am nächsten Morgen abgelesen.

Außer Magnus und Friedenthal haben sich auch Kowarski, Gasis, Bertarelli und Relander mit Versuchen zur Differenzierung von Pflanzeneiweiß mit Hilfe der serobiologischen Methode befaßt. Ihre Arbeiten stehen aber in keinem direkten Zusammenhang mit den von mir heute aufgeworfenen Fragen.

Die durch die serobiologische Methode festgestellte Sonderstellung der Geschlechtszellen war bei den geprüften Pflanzen

und Tieren so ausgesprochen, daß eine Verallgemeinerung der erzielten Resultate und die Aufstellung folgenden Grundgesetzes mir zulässig erscheint.

Die weiblichen und männlichen Geschlechtszellen der Pflanzen und Tiere verhalten sich serobiologisch gegeneinander und auch gegen andere Gewebsbestandteile desselben Organismus wie artfremd.

Im einzelnen lassen sich die Ergebnisse meiner Experimente folgendermaßen zusammenfassen:

1) Mit Hilfe der männlichen Geschlechtszellen höherer Pflanzen (Pollen) läßt sich kein präzipitierendes, wohl aber ein komplementbindendes Immunserum herstellen.

2) Mit Hilfe der Komplementbindungsmethode gelingt es, Pollen verschiedener Pflanzen voneinander zu unterscheiden.

3) Das Polleneiweiß reagiert serobiologisch anders, als alle übrigen Bestandteile der zugehörigen Pflanzen.

4) Die reifen Spermatozoen und die unbefruchteten, laichreifen Eier zahlreicher geprüfter Fische reagierten serobiologisch unter sich verschieden, und beide wieder vollkommen anders als das Fleisch des zugehörigen Tieres.

5) Die Geschlechtszellen zahlreicher, derselben Ordnung angehöriger Fische reagierten serobiologisch verwandt. Auch das Fleischiweiß zahlreicher, derselben Ordnung angehöriger Fische reagierte verwandt. Dagegen reagierte das Eiweiß von zwei Fischarten, die anderen Ordnungen angehörten, artfremd.

6) Die Geschlechtszellen und das Blutserum scheinen eine etwas weitergehende serobiologische Differenzierung verwandter Fische zu gestatten als das Fleisch.

7) Fische, die einander so unähnlich sind, wie der Aal und die Forelle, reagieren serobiologisch verwandt. Die Geschlechtszellen der Forelle aber reagieren gegenüber dem Fleisch der Forelle wie artfremdes Eiweiß, sie stehen also gewissen Eiweißarten desselben Organismus serobiologisch ferner, als gewissen Eiweißarten von Tieren, die ihnen sehr unähnlich sind.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte zu Berlin.]

Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxie zur Erkennung und Unterscheidung verschiedener Eiweißarten ¹⁾.

Von

Prof. Dr. **Uhlenhuth**, und Stabsarzt Dr. **Haendel**,
Geh. Reg.-Rat und Direktor im Kaiserl. Gesundheitsamt kommandiert zum Kaiserl. Gesundheitsamt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Januar 1910.)

Die Spezifität des Ueberempfindlichkeitsphänomens, sowie die Tatsache, daß es durch die Vorbehandlung mit außerordentlich geringen Eiweißmengen gelingt, Tiere zu sensibilisieren, mußte den Gedanken nahe legen, ebenso wie die Präzipitation und die Komplementbindungsmethode auch die Anaphylaxiereaktion für die biologische Eiweißdifferenzierung praktisch zu verwerten.

Mit der Präzipitinmethode, wie sie besonders von Uhlenhuth und seinen Mitarbeitern ausgebaut worden ist, wird man ja für die praktischen Zwecke der forensischen Blut- und Fleischdifferenzierung vollständig auskommen; hier wird auch die Anaphylaxiereaktion ebenso wie die Komplementbindungsmethode zunächst nur als eine weitere Ergänzung des bewährten Präzipitinverfahrens in Betracht kommen (Uhlenhuth). Anders liegen die Verhältnisse aber in solchen Fällen, in welchen die Präzipitation versagt oder aus technischen Gründen nicht ausführbar ist. Hier könnte das neue biologische Phänomen für die Praxis von großer Bedeutung werden.

In erster Linie haben wir daher zunächst durch orientierende Versuche festzustellen versucht, ob die neue biologische Methode außer auf Gebieten, auf denen bereits Präzipitation und Komplementbindung in der Praxis mit Erfolg angewandt

1) Auszugsweise mitgeteilt auf der II. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, 4. Juni 1909 zu Wien, Centralbl. f. Bakt. — Vergl. auch den Artikel von Uhlenhuth und Haendel in dem Buche von Uhlenhuth-Weidanz: „Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Bluteiweißdifferenzierungsverfahrens“. Jena (Gustav Fischer) 1909.

worden sind, auch noch sonst eventuell praktisch verwertet werden kann und haben hauptsächlich von diesem Gesichtspunkte aus seit längerer Zeit Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxiereaktion angestellt.

Auf Grund unserer Versuche hat Uhlenhuth (1) zuerst bereits am 14. Dez. 1908 in der Berliner militärärztlichen Gesellschaft die Möglichkeit einer praktischen Verwertung der Anaphylaxiereaktion hervorgehoben, zugleich aber auch auf verschiedene Nachteile dieser Methode hingewiesen. Er faßte sein Urteil damals dahin zusammen, „daß die Anaphylaxiereaktion auch eine praktische Bedeutung hat und wie die Präzipitinreaktion zur Unterscheidung von Eiweiß, Milch, Blut u. s. f. verschiedener Tierarten herangezogen werden kann. Auch forensisch könnte die Reaktion zur Diagnose von Blutflecken, ferner zum Nachweis von Pferdefleisch dienen, jedoch sei sie gegenüber der einfachen und viel exakter arbeitenden Präzipitationsmethode viel zu umständlich und auch nicht sicher genug, um allein auf Grund ihres Ausfalles vor Gericht ein Gutachten abzugeben, da auch die Individualität der Tiere eine zu große Rolle spiele.“

Den Gedanken einer praktischen Verwertung des Ueberempfindlichkeitsphänomens speziell für die forensische Blutdifferenzierung haben dann ferner H. Pfeiffer (2), Thomsen (3) und Sleeswijk (4) verfolgt.

Thomsen gelang es mit Hilfe der Reaktion 2—3 Monate alte, an Leinwandstücke angetrocknete Blutflecke von Menschen-, Affen-, Hühner-, Tauben-, Schaf- und Ziegenblut jeweils bezüglich ihrer Herkunft zu identifizieren. H. Pfeiffer hat zwar bei seinen Versuchen, die Anaphylaxiereaktion zur Differenzierung von Eiweißarten für die forensische Praxis zu verwerten, bei der von ihm angewandten Versuchsanordnung die charakteristischen Krankheitserscheinungen in deutlich sichtbarer Weise nicht auszulösen vermocht, er konnte aber bei den Meerschweinchen, bei denen zur sensibilisierenden und zu der Prüfungsinjektion das entsprechende Eiweiß benutzt worden war, ein konstantes Sinken der Körpertemperatur feststellen, welches bei Anwendung heterologer Sera nicht in dem Maße eintrat. Später hat Pfeiffer in Gemeinschaft mit Finsterer (5) die Anaphylaxiereaktion auch für die Krebsdiagnose zu verwerten gesucht. Nach den

Autoren gelingt es, Meerschweinchen durch Vorbehandlung mit dem Serum von Krebskranken passiv überempfindlich zu machen, so daß sie auf eine Injektion von Carcinompreßsaft positive anaphylaktische Reaktion geben. Auch in diesem Falle ist das Sinken der Körpertemperatur der betreffenden Tiere für die Autoren allein schon für die Beurteilung des Reaktionsausfalles maßgebend. Die Berechtigung, nur aus dem Sinken der Körpertemperatur auch bei Fehlen jeder anderen Erscheinungen auf einen positiven Ausfall der Reaktion zu schließen, erscheint uns übrigens keineswegs gesichert. Jedenfalls kann dieser Befund für die forensische Beurteilung allein nicht ausschlaggebend sein. Die Beobachtungen von Kraus (6) und Ranzi (7) mahnen trotz der Einwände Pfeiffers (8) hier zu größter Vorsicht. Während aber nun, wie erwähnt, die oben genannten Forscher das neue biologische Phänomen zunächst hauptsächlich nur für die forensische Blutdifferenzierung, Pfeiffer und Finsterer später auch für die Krebsdiagnose nutzbar zu machen suchten, haben wir dasselbe auch sonst noch nach den verschiedensten Richtungen hin für praktische Zwecke heranzuziehen versucht.

Wir versuchten die Reaktion zu verwerten, außer beim forensischen Blutnachweis, zur Differenzierung verwandter Blutarten, zur Untersuchung von Mumien, von gekochten Fleischsorten, von Oelen, Fetten, Nährpräparaten, Futtermitteln, von Se- und Exkreten sowie zur Differenzierung verschiedener Organeiweiße desselben Organismus.

I. Differenzierung verwandter Blutarten.

Bekanntlich ist es mittelst der Präzipitation und der Komplementbindungsmethode nicht ohne weiteres möglich, das Blut nahe verwandter Tiere zu unterscheiden. Es gelingt zwar, wie Uhlenhuth (9) gezeigt hat, in speziellen Fällen, so bei Huhn und Taube, Hase und Kaninchen, Mensch und Affe durch „kreuzweise Immunisierung“ selbst zur Unterscheidung derartig verwandter Blutarten praktisch verwertbare präzipitierende Sera zu erzeugen, aber bei Pferd und Esel, Hammel und Ziege versagte auch dieses Hilfsmittel, wahrscheinlich, weil diese Tiere zu nahe miteinander verwandt sind. Die Prüfung der Frage, ob mittelst der Anaphylaxie-reaktion eventuell eine Differenzierung dieser verwandten

Blutarten möglich sei, hatte daher nicht nur theoretisches Interesse, sondern auch praktische Bedeutung.

Versuch 1.

Je 5 Meerschweinchen wurden in gleicher Weise je mit 1 ccm einer Verdünnung 1:100 von Menschen-, Affen-, Esel-, Pferde-, Hammel- und Ziegen Serum subkutan vorbehandelt und nach 28 Tagen mit $\frac{1}{2}$ cm des homologen oder des artverwandten Serums¹⁾ intracardial oder mit 5 ccm intraperitoneal nachgespritzt.

Es zeigte sich, daß eine Unterscheidung der verwandten Blutarten von Mensch und Affe — wie auch Neufeld festgestellt hat —, von Pferd und Esel, Hammel und Ziege mittelst der Anaphylaxiereaktion nicht gelang.

Die mit Menschenserum vorbehandelten Tiere reagierten bei der Prüfung mit Menschen- oder Affenserum in gleicher Weise, und ebenso verhielten sich die mit Affenserum sensibilisierten Tiere. Ganz ebenso gestalteten sich die Verhältnisse bei den Differenzierungsversuchen der anderen verwandten Blutarten. Daß sich bei quantitativen Abstufungen der zu den Prüfungsinjektionen benutzten Serummengen eventuell praktisch verwertbare Differenzen bemerkbar gemacht haben würden, ist nicht anzunehmen. Die Erfahrungen, die wir in dieser Hinsicht mit passiven Anaphylaxieversuchen gemacht haben, sprechen jedenfalls dagegen.

Durch die Untersuchungen von Doerr und Russ (10) ist es bekannt, daß man mit den verschiedensten präzipitierenden Seris vom Kaninchen Meerschweinchen für das dem präzipitierenden Serum entsprechende Eiweiß passiv anaphylaktisch machen kann, und daß sich auch je nach der anaphylaktisierenden Wirkung des jeweils zur passiven Sensibilisierung benutzten präzipitierenden Antiserums die geringste zur Auslösung tödlicher anaphylaktischer Erscheinungen erforderliche Antigenmenge quantitativ feststellen läßt. Wären nun zur Tötung der mit einem pferdeeiweißpräzipitierenden Serum vorbehandelten Meerschweinchen erheblich größere Dosen von Esel Serum wie von Pferdeserum erforderlich, so ließe sich eventuell auf diese Weise bei genügend großen Differenzen in den anzuwendenden Serummengen eine Unterscheidung der

1) Bei allen Versuchen waren die zu Prüfungsinjektionen verwandten Sera durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen auf 60° inaktiviert, sie wurden vor der Einspritzung einige Zeit bei 37° gehalten.

beiden Blutarten ermöglichen. Tatsächlich ist das aber nicht der Fall, wie das Ergebnis des nachstehenden Versuches zeigte.

Versuch 2.

8 Meerschweinchen wurden je mit 1,0 ccm eines präzipitierenden Pferde-Antiserums vom Kaninchen (Titer 1:20000) ip. vorbehandelt. Prüfung nach 48 Stunden. Meerschweinchen No. 1—4 mit Pferde-, Meerschweinchen No. 5—8 mit Eselserum.

Es erhielten:

Meerschw. 1	} je	0,5	cm	} Pferde-		Meerschw. 5	} je	0,5	cm	} Esel-		
" 2		0,1	"			serum		" 6	0,1		"	serum
" 3		0,05	"			ic.		" 7	0,05		"	ic.
" 4		0,02	"					" 8	0,02		"	

Die Meerschweinchen 1—3 und 5—7 starben innerhalb weniger Minuten unter sehr schweren Symptomen, Meerschweinchen 4 und 8 erkrankten beide ebenfalls schwer, erholten sich aber wieder.

Zur Tötung der mit demselben Pferdeantiserum vom Kaninchen anaphylaktisch gemachten Tiere genügten sonach dieselben Mengen Esel- wie Pferdeserum.

Mit einem präzipitierenden Hasen-Antiserum vom Kaninchen (1:20000) vorbehandelte (2 ccm ip.) Meerschweinchen erkrankten bei der 24 Stunden später erfolgten Prüfung nur dann unter anaphylaktischen Erscheinungen, wenn zu der intracardialen Injektion Hasenserum (1,0 ccm), nicht aber wenn Kaninchenserum (1,0 ccm) benutzt worden war. Es ließ sich also Hasen- und Kaninchenblut unterscheiden ebenso wie früher durch die Präzipitation (Uhlenhuth).

Bemerkenswert ist, daß in einem Falle, in welchem die Differenzierung der beiden betreffenden Blutarten mittelst der Präzipitation keine Schwierigkeiten macht, die Anaphylaxie-reaktion zur Differenzierung versagt. Nach den Feststellungen von Uhlenhuth, Weidanz (11) und Trommsdorff (12) gelingt es ohne weiteres, Mäuse- und Rattenblut — auch im angetrockneten Zustande — mittelst der Präzipitation zu unterscheiden, mit der Anaphylaxiereaktion ist dies, wie Trommsdorff gezeigt hat, dessen Beobachtung wir vollkommen bestätigen können, nicht möglich.

Versuch 3.

4 Meerschweinchen werden je mit 0,3 ccm Rattenserum subkutan vorbehandelt. Am 28. Tage erhalten Meerschweinchen 1 und 2 und ein Kontrolltier je 0,5 ccm Ratten-, Meerschweinchen 3 und 4 und ein Kontrolltier je 0,5 ccm Mäuseserum intracardial.

Alle 4 vorbehandelten Tiere gehen innerhalb weniger Minuten unter schweren anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde, die Kontrolltiere erkrankten nicht.

Ebenso wie hier die mittelst der Präzipitation und der Anaphylaxiereaktion erhaltenen Ergebnisse voneinander abweichen, ist dies, wenn auch in anderer Weise, der Fall in dem gegenseitigen Verhalten von Präzipitation und Ueberempfindlichkeit zwischen Meerschweinchen und Kaninchen. Meerschweinchen, welche mit Kaninchenserum sensibilisiert werden, gehen bei intracardialer Nachprüfung mit Kaninchenserum unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde. Dagegen ist es Bordet bekanntlich nicht gelungen, von Kaninchen Meerschweincheneiweiß präzipitierende Sera zu gewinnen¹⁾.

Versuch 4.

3 Meerschweinchen, welche gelegentlich anderer Versuche mit je 5 ccm Kaninchenserum subkutan vorbehandelt waren, wurden nach 10 Wochen mit je 1,0 Kaninchenserum intracardial nachgeprüft. Alle 3 Tiere starben innerhalb weniger Minuten unter schweren Anaphylaxieerscheinungen. Ein unbehandeltes Kontrolltier vertrug die Prüfungsinjektion ohne Störung.

II. Versuche mit gekochtem Eiweiß.

Außer den eingangs erwähnten beiden Tatsachen ist nun für die etwaige praktische Verwertbarkeit der Reaktion noch der Umstand von besonderer Bedeutung, daß es auch mit zum Teil

1) Wie wir uns inzwischen überzeugt haben, kann man von Kaninchen doch recht hochwertige Meerschweincheneiweiß präzipitierende Sera erhalten. Ein derartiges im Kaiserlichen Gesundheitsamt hergestelltes Serum hatte einen Titer von 1:20 000. Normale Meerschweinchen reagierten auf intracardiale oder intraperitoneale Injektion von 0,5 ccm bzw. 1,0 ccm dieser Serums unter schweren, anaphylaxieartigen Krankheitserscheinungen. In der gleichen Weise intracardial oder intraperitoneal ausgeführte Einspritzungen von 0,75 ccm bzw. 2,0 ccm des Serums hatten den Tod der Tiere zur Folge. Die überlebenden, der mit dem Serum vorbehandelten Tiere, wurden nach 24 Stunden teils mit 1,0 ccm frischen Meerschweinchenserums, teils nochmals mit 0,75 ccm des spezifischen Antiserums intracardial nachgespritzt. Die mit frischem Meerschweinchenserum intracardial nachbehandelten Tiere erkrankten dann erneut unter anaphylaxieartigen Symptomen, während die zweite Injektion mit Antiserum keine so ausgesprochenen Krankheitserscheinungen mehr hervorrief. Nicht vorbehandelte Meerschweinchen vertrugen die intracardiale Einspritzung von 1,0 ccm Meerschweinchenserums vollkommen reaktionslos. Wohl aber erkrankte ein Meerschweinchen, welchem vor der Vorbehandlung durch Herzpunktion Blut entnommen war, auf die 24 Stunden später intracardial erfolgte Injektion (1,5 ccm) des eigenen Serums.

denaturiertem und mit erhitztem Eiweiß [Arthur, Rosenau und Anderson (13), Besredka (14), Kraus und Volk (15), Pick und Yamanouchi (16)] gelingt, Tiere für die Nachbehandlung mit dem entsprechenden nativen Eiweiß überempfindlich zu machen. Die Möglichkeit, die Anaphylaxie-reaktion eventuell zur Identifizierung von gekochtem Eiweiß praktisch verwerten zu können, wäre um so wertvoller, als hier im allgemeinen bisher die Präzipitation nicht in allen Fällen mit Erfolg angewendet werden kann, und die Methode von W. A. Schmidt (17) technisch schwierig zu handhaben ist.

Zur Prüfung dieser Frage haben wir eine Reihe von Tieren mit Extrakten von gekochtem Pferdefleisch, von gekochten Leber- und Blutwürsten und von gekochtem Schellfischfleisch behandelt und mit dem entsprechenden natürlichen Eiweiß (Serum bzw. Extrakt von Schellfischfleisch) nachgeprüft.

Versuch 5.

(Versuch mit gekochtem Pferdefleisch).

1 Pfund zerkleinertes Pferdefleisch wird mit 500 ccm Wasser 45 Min. gekocht, 24 Stunden geschüttelt und durch Poliertücher ausgepreßt. Präzipitinreaktion = 0.

8 Meerschweinchen erhalten 3mal je einen über den anderen Tag 1,0 ccm des Extraktes subkutan.

Am 20. Tage nach der letzten Injektion erhalten Meerschweinchen 1 und 2 und ein unvorbehandeltes Kontrolltier je 5,0 ccm Pferdeserum ip. Meerschweinchen 3 erhält 1,0 ccm einer Serumverdünnung (1 : 50) ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	= leichte Symptome ¹⁾
" 2	= 0
" 3	= 0
Kontrolltier	= 0

Am 30. Tage erhalten:

Meerschweinchen 4	= 5 ccm Pferdeserum ip.
" 5	= 1 " einer Pferdeserumverdünnung (1 : 50) ic.
" 6	= 1/2 " Pferdeserum ic.
" 7	= 1,0 " "
" 8	= 1,0 " gekochten, durch Kieselgur filtrierten Fleischsaftes ic.

Ein Kontrolltier = 5 ccm Pferdeserum ip.

Ein anderes Kontrolltier = 1,0 ccm Pferdeserum ic.

1) Leichte Symptome = Unruhe, Kratzen, Jucken, krampfartige Kau- und Würgebewegungen, Urin- und Kotabgang. Schwere Symptome = allgemeine Krämpfe. 0 = keine Erscheinungen.

Es zeigen :

Meerschweinchen	4 = schwere Symptome, erholt sich
"	5 = leichte Symptome
"	6 = sehr schwere Symptome, erholt sich
"	7 = " " " † nach 3 Minuten
"	8 = 0 " " "
Beide Kontrolltiere	= 0

Versuch 6.

(Versuch mit gekochtem Pferdefleisch).

Extraktbereitung und Vorbehandlung von 6 Meerschweinchen wie bei Versuch 5. Präzipitation = 0.

Am 33. Tage nach der letzten subkutanen Injektion erhalten :

Meerschweinchen	1 = 5 ccm Pferdeserum ip.
"	2 = 5 " " "
"	3 = 1/2 " " ic.
"	4 = 1 " " "
"	5 = 5 " Rinderserum ip.
"	6 = 5 " Schweineserum ip.
Je ein Kontrolltier	= 1,0 ccm Pferdeserum ic. bzw. 5 ccm ip.

Es zeigen :

Meerschweinchen	1 = schwere Symptome, erholt sich
"	2 = leichte
"	3 = sehr schwere Symptome, erholt sich
"	4 = " " " † nach 5 Minuten
"	5 = leichte Symptome
"	6 = " " "
Beide Kontrolltiere	= 0 " "

Am 48. Tage erhält Meerschweinchen 5 5 ccm Pferdeserum ip. = leichte Symptome.

Versuch 7.

(Versuch mit gekochter Leber- und Blutwurst).

Je eine Schweineleber- und Schweineblutwurst, welche bei der Herstellung 1/2 Stunde gekocht worden waren, werden 24 Stunden mit Kochsalzlösung 1 : 1 ausgelaugt. Filtration durch Papierfilter. Der Leberwurstextrakt gibt mit Schweinantiserum vom Kaninchen (1 : 20000) noch schwach angedeutete Reaktion. Bei dem Blutwurstextrakt ist die Präzipitation = 0.

Meerschweinchen 1—4 erhalten 3mal je einen über den anderen Tag 1,0 ccm des Leberwurstextraktes, Meerschweinchen 5—7 des Blutwurstextraktes subkutan.

Meerschweinchen 8—11 werden ebenso mit einem in der gleichen Weise hergestellten Extrakt von einer Leberwurst vorbehandelt, welche im Laboratorium nochmals 15 Minuten gekocht worden war. Präzipitation bei diesem Extrakt = 0.

Am 28. Tage nach der letzten subkutanen Injektion erhalten Meerschweinchen 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11 und ein Kontrolltier je 1,0 ccm Schweineserum ic. Meerschweinchen 4 und 7 je 1,0 ccm Pferdeserum ic.

Es zeigen :

Meerschweinchen	1, 3 u. 11	= schwere Symptome, erholen sich
"	5 u. 6	= sehr schwere Sympt., nach 3 bzw. 5 Min. †
"	2, 8, 9, 10	= leichte Symptome
"	4 u. 7	= 0
Kontrolltier		= 0

Versuch 8.

(Versuch mit gekochter Leber- und Blutwurst.)

Extraktherstellung und Vorbehandlung wie bei Versuch 7, nur war die Leberwurst im Laboratorium nochmals $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht. Präzipitation bei beiden Extrakten = 0. Meerschweinchen 1—5 mit Leberwurst-, Meerschweinchen 6—10 mit Blutwurstextrakt vorbehandelt.

Am 30. Tage erhalten :

Meerschweinchen	1—4 und 6, 9, 10	und ein Kontrolltier je 1,0 ccm Schweineserum ic.
"	7	= 1,0 ccm Pferdeserum ic.
"	8	= 1,0 „ Rinderserum ic.
"	5	interkurrent †

Es zeigen :

Meerschweinchen	1, 3, 4	= krank, aber keine deutlichen Symptome
"	2 u. 6	= schwere Symptome, erholen sich
"	9 u. 10	= „ „ † nach 2 bzw. 5 Minuten
"	7	= 0
"	8	= leichte Erscheinungen
Kontrolltier		= 0

Versuch 9.

(Versuch mit Extrakt von ungekochtem und gekochtem Schellfischfleisch.)

Je 50 g ungekochten und gekochten (15 Minuten) Schellfischfleisches werden mit 50 ccm Kochsalzlösung 24 Stunden ausgelaugt. Filtration durch Papierfilter. Präzipitation mit Schellfischantiserum vom Kaninchen (1 : 2000) = { Extrakt aus ungekochtem Fleisch = +
 „ „ gekochtem „ = 0.

Meerschweinchen 1—5 wurden 3mal je mit 1,0 ccm des Extraktes aus ungekochtem Schellfischfleisch, Meerschweinchen 6—10 in derselben Weise mit Extrakt aus gekochtem Schellfischfleisch vorbehandelt.

Am 17. Tage erhält Meerschweinchen 1 von einem frisch hergestellten Extrakt aus Schellfischfleisch 1,0 ccm (1 : 10 verdünnt) ic. = leichte Symptome.

Am 31. Tage erhalten :

Meerschweinchen	2 u. 5	je 1,0 ccm eines frischen Extraktes (1 : 4) ic.
"	4	= 5,0 „ des Extraktes (1 : 4) ip.
"	6	= 5,0 „ „ (1 : 3) ip.
"	7, 8, 9	je 1,0 „ „ (1 : 3) ic.
"	10	= 1,0 „ frischen Extr. aus Hechtfleisch (1 : 3) ic.
2 Kontrolltiere		je 1,0 „ Schellfischfleischextrakt (1 : 3) ic.
(Meerschweinchen 3 interkurrent †)		

Es zeigen:

Meerschweinchen	2 u. 5	= sehr schwere Symptome, † nach 6 bzw. 4 Min.
„	4	= leichte Symptome
„	6	= krank, aber keine deutlichen Erscheinungen
„	7 u. 9	= sehr schwere Symptome, † innerhalb 5 Min.
„	8	= leichte Erscheinungen
„	10	= 0
Kontrolltiere		= 0

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß es durch Vorbehandlung mit Extrakten aus Pferdefleisch, aus Blut- und Leberwürsten und aus Schellfischfleisch auch dann gelingt, Meerschweinchen anaphylaktisch zu machen, wenn das Fleisch und die Würste einige Zeit gekocht waren und die daraus hergestellten Extrakte bei Prüfung mit den entsprechenden, hochwertigen, präzipitierenden Seris keine positive Präzipitinreaktion mehr geben.

Die Tiere reagieren auf die Nachprüfung des nativen Eiweißes unter deutlichen, mehr oder minder schweren anaphylaktischen Erscheinungen. Die Anaphylaxieauslösung gelingt aber nicht gleichmäßig bei allen Tieren. Je nach der Disposition treten hier die individuellen Verschiedenheiten bei den einzelnen Tieren anscheinend schärfer und auffallender in Erscheinung als dies nach den bisherigen Erfahrungen bei Anaphylaxieversuchen mit Vorbehandlung durch natives Eiweiß der Fall ist.

Schwere Erscheinungen treten bei den mit gekochtem Eiweiß sensibilisierten Tieren im allgemeinen offenbar nur dann auf, wenn der Tierkörper bei der Prüfungsinjektion mit verhältnismäßig großen Eiweißmengen rasch überschwemmt wird. Die Prüfungsinjektion muß daher in diesen Fällen zweckmäßig intravenös oder intracardial erfolgen. Aber selbst bei Einspritzung massiver Dosen direkt in die Blutbahn gelingt es nicht regelmäßig, die Tiere zu töten, einzelne Tiere zeigen selbst bei diesem Prüfungsmodus nur leichtere Symptome oder fallen eventuell sogar ganz aus. Erforderlich scheint es auch zu sein, bis zur Prüfung der sensibilisierten Tiere einen längeren Zeitraum verstreichen zu lassen, als dies bei Anaphylaxieversuchen mit nativem Eiweiß im allgemeinen nötig ist.

Bei den Versuchen 6 und 8 mit gekochtem Pferdefleisch und gekochter Wurst machte sich deutlich ein gewisses Uebergreifen der Reaktion bemerkbar.

Es zeigte sich aber doch nach den vorliegenden Ergebnissen bei allen Versuchen, daß im allgemeinen von den mit dem entsprechenden (gekochten) Eiweiß vorbehandelten Tieren bei der Prüfung im Vergleich zu den unbehandelten und den mit heterologem Eiweiß nachgespritzten Tieren ein Teil in durchaus typischer und deutlicher Weise reagierte. Die Ausschläge waren aber nicht bei allen Versuchen so eindeutig und so scharf ausgeprägt, daß ohne weiteres ein absolut sicherer, unter praktischen Verhältnissen verwertbarer Schluß auf die zur Vorbehandlung benutzte Eiweißart möglich gewesen wäre.

So erkrankte bei Versuch 8 von den vier mit gekochter Leberwurst vorbehandelten Tieren nur eins bei der Prüfung unter charakteristischen Symptomen, während aus dem Verhalten der übrigen kein sicheres Urteil hätte gewonnen werden können. Dieser Fall zeigt, daß die Anaphylaxie-Reaktion zum Nachweis von gekochtem Eiweiß nur mit großer Vorsicht in der Praxis zu verwerten ist, besonders auch mit Rücksicht darauf, daß bei den Versuchen ein wenn auch nur leichtes Uebergreifen beobachtet wurde. Jedenfalls werden derartige Versuche nur unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen anzustellen sein. So ist es unerläßlich, für jeden einzelnen Fall eine größere Reihe von Tieren vorzubehandeln, einmal um so etwaige durch das verschiedene individuelle Verhalten der einzelnen Tiere bedingte Fehlerquellen nach Möglichkeit auszuschließen, sodann aber auch um jeweils mehrere Tiere zur Prüfung mit heterologem Eiweiß vorrätig zu haben. Man darf sich hier unseres Erachtens keineswegs mit einer Kontrolle zufriedengeben, sondern muß — zumal für die Prüfung die Anwendung relativ großer Eiweißmengen erforderlich ist — durch Prüfung mehrerer Tiere eine etwaige Reaktion mit einer anderen Eiweißart sicher ausschließen können. Notwendig ist es auch, mehrere unbehandelte Tiere mit derselben wie zur Prüfungsinjektion benutzten Eiweißmenge zu spritzen, als Kontrolle dafür, daß die Prüfungsdosis nicht an und für sich schon bei unbehandelten Tieren Erscheinungen auslöst.

Schließlich wird man sich mit Rücksicht auf die Vererbbarkeit der Anaphylaxie auch insofern vor etwaigen Fehlerquellen schützen müssen, daß nur ungebrauchte Tiere aus bekannter, einwandfreier Zucht zu derartigen Versuchen benutzt werden.

III. Versuche mit Blutflecken und Mumienmaterial.

Daß sich mit Hilfe des Ueberempfindlichkeitsphänomens eine Differenzierung bzw. Identifizierung von verhältnismäßig frischen Blutspuren oder Blutflecken ermöglichen lassen würde, war ohne weiteres anzunehmen. Wir haben deshalb zu unseren diesbezüglichen Untersuchungen von vornherein hauptsächlich möglichst altes Material herangezogen und festzustellen versucht, ob sich mittelst der Reaktion auch positive Ergebnisse in solchen Fällen erzielen lassen, in denen die Präzipitation versagte. Zu diesem Zwecke haben wir speziell auch eine Anzahl von Mumien mittelst der Reaktion untersucht. Ueber die bei diesen Versuchen erhaltenen Resultate ergeben nachstehende Protokolle das Nähere.

a) Versuche mit Blutflecken und jüngerem Mumienmaterial.

Versuch 10.

Von einem im Jahre 1900 auf einem Brett angetrockneten Blutfleck aus Menschenblut wurde eine kleine Menge abgeschabt, in 10 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 24 Stunden geschüttelt. Präzipitation mit Menschenantiserum vom Kaninchen (1:20000) = schwach +.

Meerschweinchen 1, 2 und 3 erhalten 3mal je einen über den anderen Tag 1,0 ccm der Extraktflüssigkeit subkutan.

35 Tage nach der letzten Einspritzung erhalten Meerschweinchen 1 und 2 und eine unbehandelte Kontrolle je 1,0 ccm Menschen Serum, Meerschweinchen 3 1,0 ccm Pferdeserum intracardial.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	=	schwere Symptome, † nach 3 Minuten
" 2	=	" " † " 1 1/2 "
" 3	=	0
Kontrolltier	=	0

Versuch 11.

Vor 14 Jahren operierte menschliche Zehe. Extrakt herstellung wie bei 10. Präzipitation mit Menschenantiserum vom Kaninchen. (Titer 1:20000) = +.

Behandlung von 3 Meerschweinchen wie bei Versuch 10. Meerschweinchen 1 und 2 und ein Kontrolltier erhalten am 35. Tage nach der letzten subkutanen Injektion je 1,0 ccm Menschenserum, Meerschweinchen 3 1,0 ccm Pferdeserum ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	=	schwere Symptome, †	nach 10 Minuten
" 2	=	" " †	" 4 "
" 3	=	0	
Kontrolle	=	0	

Versuch 12.

11 Jahre alter, auf Papier angetrockneter Fleck von Schimpansenblut. Extraktherstellung und Behandlung von 3 Meerschweinchen wie vor. Präzipitation mit Menschenantiserum vom Kaninchen (1 : 20000) = +.

Am 35. Tage nach der letzten Injektion erhalten Meerschweinchen 1, 2 und Kontrolle je 1,0 ccm Menschenserum, Meerschweinchen 3 1,0 ccm Pferdeserum ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	=	schwere Symptome, †	nach 25 Minuten
" 2	=	" "	erholt sich
" 3	}	= 0	
Kontrolle			

Versuch 13.

Kuhplacenta, ca. 30 Jahre alt. Extraktherstellung und Behandlung von 3 Meerschweinchen wie vor. Präzipitation mit Rinderantiserum vom Kaninchen (1 : 20000) = + schwach. (Alle 3 Tiere bekamen infolge der Vorbehandlung Nekrosen.)

Am 33. Tage nach der letzten Injektion erhalten Meerschweinchen 1, 2 und Kontrolle je 5,0 ccm Rinderserum, Meerschweinchen 3 5,0 ccm Pferdeserum ip.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	=	schwere Erscheinungen, †	nach 12 Minuten
" 2	=	" " †	" 20 "
" 3	=	0	

Kontrolle ebenfalls krank, aber keine typischen Erscheinungen, nach 20 Minuten munter.

Versuch 14.

Mumifizierter menschlicher Fuß. Frostgangrän aus dem Jahre 1856. Extraktherstellung und Behandlung von 3 Meerschweinchen wie vor. Präzipitation = +, aber sehr schwach.

Am 35. Tage nach der letzten subkutanen Injektion erhalten Meerschweinchen 1 und 2 und Kontrolle je 1,0 ccm Menschenserum, Meerschweinchen 3 1,0 ccm Pferdeserum ic.

Meerschweinchen 1	}	leichte, aber deutliche Erscheinungen
" 2		
" 3		
Kontrolle	}	0
" 3		

Versuch 15.

In eine Glasröhre eingeschlossenes, faules Menschenblut, ca. 14 Jahre alt, lange Zeit der Sonne ausgesetzt gewesen. Präzipitation = 0.

3 Meerschweinchen erhalten 3mal je einen über den anderen Tag 1,0 ccm einer Verdünnung des Blutes mit Kochsalzlösung (1 : 1) subkutan.

Am 33. Tage werden alle 3 Meerschweinchen mit 1,0 Menschenserum ic. nachgeprüft = keine Erscheinungen.

Da die mit dem Extrakt des mumifizierten Fußes vorbehandelten Tiere nur leichte Symptome, die mit dem faulen Blute sensibilisierten Meerschweinchen überhaupt nichts gezeigt hatten, so wurden beide Versuche wiederholt.

Versuch 16.

Wiederholung des Versuchs 14. Extrakterstellung und Behandlung von 3 Meerschweinchen wie bei diesem Versuch.

Am 36. Tage nach der letzten Einspritzung erhalten Meerschweinchen 1 und 2 je 1,0 ccm Menschen-, Meerschweinchen 3 1,0 ccm Pferdeserum ic.

Meerschweinchen	1 =	schwere Symptome	} erholen sich.
„	2 =	„	
„	3 =	0	
Kontrolle	=	0	

Versuch 17.

Wiederholung von Versuch 15. Behandlung von 3 Tieren wie bei diesem Versuch.

Am 36. Tage nach der letzten subkutanen Injektion erhalten Meerschweinchen 1 und 2 und Kontrolle je 1,0 ccm. Menschenserum ic. (Meerschweinchen 3 interkurrent †).

Es zeigen:

Meerschweinchen	1 =	} sehr schwere Erscheinungen. erholen sich.
„	2 =	

b) Versuche mit altem Mumienmaterial.

Zu diesen Versuchen benutzten wir Material von 10 verschiedenen Mumien, die zum Teil schon früher von Uhlenhuth (18) mittelst der Präzipitinreaktion untersucht worden waren.

Von 6 Mumien (I—VI bezeichnet) fehlten uns nähere Angaben. Es handelte sich in allen 6 Fällen um kleine Reste tabakähnlicher Massen von bräunlicher bis braunschwarzlicher Farbe (Muskelgewebe). Bei 4 Mumien war uns die Herkunft genau bekannt. 3 dieser Mumien verdanken wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Schmidt-Cairo.

Es handelte sich je um eine Mumie aus der XXVI. (600 v. Chr.) und XXI. Dynastie (950 v. Chr.), sowie um eine koptische Mumie (5. Jahrhundert). Eine peruanische Mumie (5813) von dem Totenfelde von Ancon war bereits früher von Herrn Professor von den Steinen in dankenswerter Weise überlassen worden.

Die Extrakte aus dem Mumienmaterial wurden gleichmäßig in der Weise hergestellt, daß eine gewisse Menge fein zerkleinert und in einem Mörser zerrieben wurde. Die zerkleinerten Massen wurden in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 3 Tage geschüttelt. Dann wurden die Aufschwemmungen durch Papierfilter filtriert und Meerschweinchen ebenso wie bei den vorstehenden Versuchen 3mal mit je 1,0 ccm der so erhaltenen Flüssigkeiten subkutan vorbehandelt. Einzelne Extrakte machten stärkere Infiltrate, selbst kleine Nekrosen. Alle Extrakte gaben bei Prüfung mit der Präzipitationsmethode und der Komplementbindung keine positive Reaktion, wie dies ja nach den umfangreichen Untersuchungen von Uhlenhuth und W. A. Schmidt (19) nicht anders zu erwarten war. Verschiedene der Flüssigkeiten reagierten sauer und wurden daher vor der Prüfung mittelst der Präzipitationsreaktion mit Sodalösung neutralisiert. Die meisten Extrakte schäumten beim Schütteln. Die von der koptischen und den Mumien der XXI. und XXVI. Dynastie erhaltenen Extrakte geben die Biuretreaktion (W. A. Schmidt).

Nachstehende Protokolle enthalten das Nähere der einzelnen Versuche.

Versuch 18.

4 Meerschweinchen werden mit Extrakt von Mumie II in der angegebenen Weise vorbehandelt.

Am 30. Tage erhalten Meerschweinchen 2 und 3 und Kontrolle je 1,0 ccm Menschenserum intracardial. Beide Tiere und die Kontrolle zeigen keine Erscheinungen. (Meerschweinchen 1 und 4 vorher interkurrent †.)

Versuch 19.

Je 4 Meerschweinchen werden mit den Extrakten der Mumie I und III in der angegebenen Weise vorbehandelt. Meerschweinchen 1—4 mit Extrakt I, Meerschweinchen 5—8 mit Extrakt III.

Am 30. Tage erhalten Meerschweinchen 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 und Kontrolle je 1,0 ccm Menschenserum ic. Meerschweinchen 2 und eine Kontrolle 5 ccm Menschenserum ip.

Es zeigen:

Meerschweinchen	1 = 0.	
"	2 = nach 20 Minuten leichte aber deutliche Erscheinungen.	
"	3 = nach 10 Minuten	} leichte, aber noch deutlichere und stärker ausgesprochene Symptome als bei Meerschweinchen 2.
"	4 = " 8 "	
"	5 = nach ca. 10 Minuten	leichte Erscheinungen.
"	6 = " " 10 "	zunächst leichte Erscheinungen,
"	nach 20 Minuten	sehr schwere Symptome, † nach 24 Stunden.
"	7 = nach ca. 15 Minuten	sehr schwere Symptome, erholt sich, † nach 24 Stunden.
"	8 = 0.	
Beide Kontrollen	= 0.	

Versuch 20.

Je 4 Meerschweinchen werden mit Extrakten von der koptischen und den Mumien der XXI. und XXVI. Dynastie vorbehandelt. Meerschweinchen 1—4 mit Extrakt der koptischen Mumie, Meerschweinchen 5—8 mit Extrakt der Mumie der XXI. Dynastie und Meerschweinchen 9—12 mit Extrakt der Mumie der XXVI. Dynastie.

Am 39. Tage nach der letzten Injektion erhalten Meerschweinchen 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12 und eine Kontrolle je 1,0 ccm Menschenserum ic., Meerschweinchen 2 5 ccm Menschenserum ip. (Meerschweinchen 1, 7, 11 interkurrent †.)

Es zeigen:

Meerschweinchen	2 = nach ca. 20 Minuten	leichte Symptome.
"	3 = " 5 Minuten	sehr deutliche, schwere Symptome.
"	4 = nach 10 Minuten	deutliche, aber leichtere Symptome wie 3.
"	5	} = nach ca. 15 Minuten leichte, deutliche Erscheinungen.
"	6	
"	8	
"	9 = nach 10 Minuten	sehr schwere Symptome.
"	10 = " 5 "	" " " "
"	12 = " 8 "	" " " "
Kontrolle	= 0.	

Versuch 21.

5 Meerschweinchen werden mit Extrakt von der koptischen Mumie vorbehandelt.

Am 26. Tage erhalten Meerschweinchen 2, 4, 5 und Kontrolle 1,0 ccm Menschenserum ic., Meerschweinchen 1 1,0 ccm Mumienextrakt ic. und Meerschweinchen 3 1,0 ccm Rinderserum ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen	1 = 0.	
"	2 = nach 5 Minuten	sehr schwere Erscheinungen, † nach 10 Minuten.
"	3 = 0.	
"	4 = nach 12 Min.	} sehr schwere Symptome, erholen sich.
"	5 = " 8 "	
Kontrolle	= 0.	

Versuch 22.

Je 3 Meerschweinchen werden mit Extrakt von den Mumien 5813 IV, V, VI vorbehandelt. Meerschweinchen 1—3 mit Extrakt von Mumie 5813, Meerschweinchen 4—6 mit Extrakt von Mumie IV, Meerschweinchen 7—9 mit Extrakt von Mumie V und Meerschweinchen 10—12 mit Extrakt von Mumie VI.

Am 37. Tage erhalten Meerschweinchen 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 je 1,0 ccm Menschenserum ic. (Meerschweinchen 3, 5 und 12 interkurrent †.)

Es zeigen:

Meerschweinchen 1 = sehr schwere Symptome, nach 5 Minuten †.
 „ 2 = sehr schwere Symptome, erholt sich.
 „ 6 = sofort † (keine Ueberempfindlichkeit).
 „ 4, 7, 8, 9, 10 und 11 = 0.

Versuch 23.

5 Meerschweinchen werden mit Extrakt von der koptischen Mumie vorbehandelt.

Am 38. Tage erhalten Meerschweinchen 2, 3, 4 und 1 Kontrolle je 1,0 ccm Menschenserum ic., Meerschweinchen 1 1,0 ccm Rinderserum, Meerschweinchen 5 1,0 ccm Pferdeserum ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1, 5 und Kontrolle = 0.
 „ 2 = nach 5 Minuten sehr schwere Symptome, erholt sich.
 „ 3 = leichte Symptome.
 „ 4 = sehr schwere Symptome.

Die Protokolle der Versuche 10—23 zeigen einmal, daß in allen den Fällen, in denen die Präzipitinmethode ein positives Ergebnis geliefert hatte, auch mit der Anaphylaxie-reaktion deutliche Ausschläge erhalten wurden. Fast ausnahmslos starben in diesen Fällen die mit dem entsprechenden Eiweiß sensibilisierten Tiere auf die Prüfungsinjektion unter den Erscheinungen schwerer Anaphylaxie. Nur in Versuch 12 kam ein Tier, das aber gleichfalls sehr schwer erkrankt war, mit dem Leben davon. Eine Ausnahme machte ferner Versuch 14, indem hier trotz positiver Präzipitinreaktion die Tiere nur leichte Erscheinungen zeigten. Auch bei der Wiederholung dieses Versuchs (Versuch 16) starben die Meerschweinchen nicht, sie erkrankten aber in auffallend viel stärkerer Weise. Zur Erklärung dieses Unterschiedes in den Ergebnissen der beiden Versuchsreihen könnte man zunächst an eine verschiedene, individuelle Disposition der bei beiden Versuchen benutzten Tiere denken. Diese Annahme erscheint uns jedoch in diesem Falle nicht ausreichend. Wir haben

vielmehr, da wir bei beiden Versuchsreihen ein anderes menschliches Serum bei der Prüfung benutzten, den Eindruck gewonnen, daß auch die Beschaffenheit der bei den Prüfungsinjektionen verwandten Sera auf die Auslösung leichter oder schwererer anaphylaktischer Erscheinungen bei den geprüften Tieren ebenfalls von Einfluß ist.

Das bei Versuch 16 benutzte Serum schien an und für sich, obwohl es die Kontrollen ebenfalls gut vertrugen, bei den vorbehandelten Tieren schwerere Erscheinungen zu verursachen. Für diese Auffassung spricht auch der verschiedene Ausfall der beiden sonst in gleicher Weise durchgeführten Versuche 15 und 17, bei denen wir jeweils dasselbe Menschenserum benützt hatten, wie bei den Reihen 14 und 16. Auch hier (Versuch 15) übte das in Versuch 14 nur leichte Symptome auslösende Menschenserum überhaupt keine Wirkung aus, während das bei der Versuchswiederholung ebenso wie in Versuch 16 benutzte zweite Serum bei den vorbehandelten Tieren deutlich ausgesprochene Erscheinungen hervorrief. Es erscheint uns daher, wie erwähnt, wahrscheinlich, daß der verschiedene Ausfall der Versuchsreihen 14 und 15 gegenüber ihren Wiederholungen dadurch bedingt war, daß das bei diesen benutzte Serum auf die sensibilisierten Tiere an sich stärker einwirkte als das zuerst angewandte Serum. Die Schwere und Deutlichkeit der anaphylaktischen Krankheitssymptome scheint sonach nicht allein abhängig zu sein von der Art des zur Vorbehandlung benutzten Eiweißmaterials, sowie von der Größe der bei der Prüfung eingespritzten Serummenge und der Schnelligkeit der Resorption, sondern auch die jeweilige besondere Beschaffenheit des zur Prüfung verwandten nativen Eiweißes (Serums) kann von Einfluß sein auf den stärkeren oder schwächeren Verlauf der Reaktion.

Die Protokolle auch dieser Versuche zeigen weiterhin, daß mit der Anaphylaxie selbst noch in solchen Fällen Ausschläge erhalten werden, in denen die Präzipitinreaktion versagt. Versuch 16 ist hierfür ein deutliches Beispiel und läßt bereits die außerordentliche Feinheit der Reaktion erkennen. Noch schärfer und geradezu in überraschender Weise trat diese Feinheit der Reaktion aber nun bei den Untersuchungen von Mumien zutage, indem es mittelst der Reaktion noch

gelang, selbst bei mehrtausendjährigem Mumienmaterial noch Spuren menschlichen Eiweißes nachzuweisen. Allerdings war dies nicht bei allen untersuchten Mumien möglich. Die Untersuchung der Mumien II, IV, V und VI lieferte ein völlig negatives Resultat, während bei den Mumien I, III, 5813, den Mumien der XXI. und XXVI. Dynastie und der koptischen Mumie an dem positiven Ausfall der Prüfung kein Zweifel sein konnte. Es fielen zwar auch hier ein oder das andere Tier aus, und einige reagierten nur mit leichten Erscheinungen; eine große Anzahl erkrankte aber unter sehr schweren, äußerst charakteristischen Erscheinungen.

Worauf es beruhen könnte, daß bei den mit Material von den Mumien II, IV, V und VI vorbehandelten Tieren die Prüfung zu einem negativen Resultate führte, vermögen wir nicht zu sagen, zumal uns über diese Mumien nähere Angaben fehlen. Daß auch bei Prüfung der anderen Mumien einzelne Tiere ausfielen oder nur leichter erkrankten, beruht wohl auf schlechterer individueller Disposition dieser Tiere. Ueberhaupt machte sich auch bei diesen Versuchen dieselbe Erscheinung geltend, auf die schon im vorstehenden Abschnitt hingewiesen wurde. Auch bei den mit Mumienmaterial vorbehandelten Meerschweinchen gelang die Anaphylaxieauslösung nicht so gleichmäßig bei allen Tieren, wie bei Anaphylaxieversuchen mit nativem Eiweiß. Je nach der individuellen Disposition machen sich hier doch stärkere Unterschiede in dem Verhalten bei den einzelnen Tieren bemerkbar.

Auffallend war ferner, daß die anaphylaktischen Erscheinungen auch bei und trotz intracardialer Applikationsweise einer verhältnismäßig großen Eiweißmenge verschiedentlich erst spät auftraten.

Zusammenfassend ergibt sich bezüglich der Versuche dieses Abschnittes, daß in Fällen, in denen die Präzipitinreaktion ein positives Ergebnis hatte, auch die Anaphylaxiereaktion positiv ausfiel, und daß mit ihr gegebenen Falles selbst bei negativem Ausfall der Präzipitinreaktion noch positive Resultate erhalten werden können. Besonders scharf trat die Feinheit der

Reaktion bei der Untersuchung alter Mumien zutage, indem es in verschiedenen Fällen gelang, selbst in mehrtausendjährigem Mumienmaterial noch einen auf das Vorhandensein menschlichen Eiweißes hinweisenden Ausfall der Reaktion zu erhalten. Gegenüber positiven Ergebnissen in einzelnen Fällen kann man in anderen jedoch auch negative Resultate erhalten. Das ist aber auch nicht besonders auffallend, da die Mumien äußeren Einflüssen in verschiedenster Weise ausgesetzt gewesen sind, wodurch bei manchen das reaktionsfähige Eiweiß wohl vollkommen zerstört ist.

Jedenfalls beansprucht die Tatsache, daß es unter Umständen gelingt, Mumien bezüglich ihrer Herkunft zu bestimmen, ein großes naturwissenschaftliches und speziell anthropologisches Interesse.

Auf die Verwertbarkeit und Bedeutung der Reaktion für die forensische Blutdifferenzierung kommen wir bei Besprechung unserer Versuche zur Differenzierung der Organeiweiße bzw. bei den Untersuchungen über Sekrete und Exkrete noch zurück.

IV. Versuche mit rohen Oelen und Fetten.

Die außerordentliche Feinheit der Reaktion, wie sie in vorstehenden Versuchen zutage trat, ließ es nicht aussichtslos erscheinen, die praktische Verwertbarkeit der Reaktion auch auf einem Gebiete zu versuchen, auf welchem die biologischen Methoden bisher versagt hatten und auch technisch nicht ausführbar waren, nämlich zur Differenzierung von Oelen.

Schon früher waren auf Veranlassung Uhlenhuths derartige Versuche in Angriff genommen, die aber deshalb ergebnislos verliefen, weil damals auch die Prüfungsinjektion mit den zur Vorbehandlung benutzten Oelen ausgeführt worden war. Bessere Resultate waren nun eventuell zu erhoffen, wenn auch bei den mit Oelen sensibilisierten Tieren die Prüfung mit dem nativen Eiweiß, mit den Extrakten aus den zur Oelgewinnung benutzten Samen oder Früchten, bei tierischen Oelen mit Serum erfolgte.

Daß Meerschweinchen bei Sensibilisierung und Nachprüfung mit dem entsprechenden nativen Pflanzeiweiß anaphylaktisch reagieren, ist durch die Untersuchungen verschiedener Autoren bekannt. Wir haben gemeinsam mit Schern ebenfalls entsprechende Versuche vorgenommen und dabei feststellen können, daß sich mittelst der Anaphylaxie-reaktion eventuell Futtermittelfälschungen durch Ricinussamen, Ackersenf, Kornrade, Mutterkorn nachweisen lassen. Es soll hier auf diese Untersuchungen nicht näher eingegangen werden, da Schern über dieselben an anderer Stelle besonders berichtet wird (Festschrift für Schütz). Zu den nachstehend mitgeteilten Untersuchungen benutzten wir rohes Leinöl, Rüßöl, Klauenöl, bei einer Versuchsreihe Mandelöl. Für die Ueberlassung der rohen Oele sind wir Herrn Professor Holde zu Danke verpflichtet. Einige Versuche stellten wir auch mit tierischen und pflanzlichen Fetten an, die uns zum größten Teil von Herrn Professor Juckenack in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt waren. Die Meerschweinchen wurden zunächst mit dem Oel bzw. Fett vorbehandelt und später mit Extrakten des in Betracht kommenden pflanzlichen Eiweißes bzw. mit Serum geprüft. Wir benutzten hauptsächlich rohe Oele, weil bei diesen am ehesten noch das Vorhandensein zwar minimalster, aber doch vielleicht noch sensibilisierend wirkender Eiweißspuren zu erwarten war.

Die Tiere wurden wieder 3mal je einen über den anderen Tag jeweils mit 1,0 ccm des betr. Oeles oder Fettes (bei 37° oder 60° verflüssigt) subkutan vorbehandelt. Die Extrakte zur Nachprüfung wurden in der Weise bereitet, daß eine bestimmte Gewichtsmenge des Samens unter allmählichem Zusatz von Kochsalzlösung im Mörser zerquetscht und das Gemenge dann 3mal 24 Stunden geschüttelt wurde. Filtration durch Mull und durch Kieselgur.

Versuch 24.

9 Meerschweinchen werden, wie angegeben, 3mal je mit 1,0 ccm rohen Leinöls vorbehandelt.

Am 37. Tage werden Meerschweinchen 2, 4, 5 und eine Kontrolle mit 1,0 ccm Leinsamenextraktes intracardial. Meerschweinchen 1 und eine Kontrolle mit 5,0 ccm Leinsamenextraktes intraperitoneal geprüft (Meer-

schweinchen 3 interkurrent gestorben; bei allen Tieren die Injektionsstellen noch infiltriert).

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	=	leichte Symptome
"	2	= schwere
"	4	= keine deutlichen Erscheinungen
"	5	= " " "
Beide Kontrollen	= 0	" " "

Am 38. Tage erhalten Meerschweinchen 6 und 7 1,0 ccm Leinsamenextrakt ic. Beide zeigen leichte Symptome.

Am 51. Tage erhalten Meerschweinchen 6 und 7 je 1,0 ccm Rübsamenextrakt ic. Beide zeigen keine Erscheinungen.

Meerschweinchen 8 und 9 erhalten je 1,0 ccm Leinsamenextrakt ic. und zeigen ganz leichte Symptome.

Versuch 25.

4 Meerschweinchen werden mit Rüböl wie angegeben vorbehandelt.

Am 32. Tage erhalten Meerschweinchen 1 und 2 und 2 Kontrollen je 1,0 ccm Rübsamenextrakt ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1 und 2	=	leichte Erscheinungen
Kontrollen	=	0

Am 46. Tage erhalten

Meerschweinchen 3 und 4 je 0,5 ccm Rübsamenextrakt intracardial

 " 1 " 2 " 1,0 " Leinsamenextrakt "

Alle 4 Tiere zeigen keine charakteristischen Erscheinungen.

Versuch 26.

3 Meerschweinchen mit Mandelöl vorbehandelt.

Am 32. Tage erhalten Meerschweinchen 1, 2, 3 und eine Kontrolle je 1,0 ccm Mandelextrakt ic.

Meerschweinchen 1 u. 2 = sofort nach der Einspritzung † (überempfindlich?)

 " 3 = sehr deutliche schwere Erscheinungen, erholt sich

Kontrolle = krank, aber ohne charakteristische Symptome

Versuch 27.

4 Meerschweinchen mit Klauenöl vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten Meerschweinchen 1—4 und eine Kontrolle je 0,5 ccm Rinderserum ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	=	leichte Symptome
"	2	= 0
"	3	= sehr schwere Erscheinungen
"	4	= " " "
Kontrolle	= 0	" " "

Versuch 28.

3 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1,0 ccm bei 37° verflüssigter Kokosbutter vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten Meerschweinchen 1—3 und eine Kontrolle 1,0 ccm Kokoskernextrakt¹⁾ ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1 = deutliche Erscheinungen, † nach 30 Minuten
 " 2 = " " " † nach 24 Stunden
 " 3 = keine deutlich ausgesprochenen Symptome
 Kontrolle = 0

Versuch 29.

3 Meerschweinchen mit Kokosbutter vorbehandelt.

Am 44. Tage erhalten Meerschweinchen 1—3 und eine Kontrolle je 1,0 ccm Kokosextrakt ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen 1 = leichte Erscheinungen
 " 2 = " "
 " 3 = 0 "
 Kontrolle = 0

Die Ergebnisse dieser Versuche sprechen unseres Erachtens dafür, daß auch mit rohen Oelen und Pflanzenfetten sensibilisierte Tiere bei späterer Prüfung mit dem entsprechenden pflanzlichen oder tierischen nativen Eiweiß unter anaphylaktischen Symptomen reagieren können. Im allgemeinen waren aber die ausgelösten Erscheinungen bei den mit Oelen und Pflanzenfetten vorbehandelten Tieren trotz der großen, intracardial eingespritzten Eiweißmengen nur leichter Natur. Ob es gelingt, durch massivere Dosen deutlichere Ausschläge zu erzielen, erscheint fraglich, da die Gefahr besteht, daß die zum Teil an sich giftigen Samenextrakte bei weiterer Steigerung der Konzentration oder der Extraktmenge auch bei normalen Tieren dann dem anaphylaktischen Krankheitsbilde ähnliche Vergiftungserscheinungen hervorrufen und dadurch schon die Verwendung der Reaktion unmöglich machen können. Es sei besonders hervorgehoben, daß die Reaktion noch am ehesten Aussicht auf Erfolg hat bei rohen, nicht besonderen Prozeduren (Erhitzen, Schwefelsäure) ausgesetzten Oelen.

Auch die Prüfung der mit tierischen Fetten vorbehandelten Meerschweinchen lieferte nicht in allen Fällen ein-

1) Kokosmilch (die in Kokosfrüchten enthaltene Flüssigkeit) erwies sich für Meerschweinchen bei intracardialer Applikation äußerst giftig. Durch einstündiges Erhitzen auf 60° wurde die Giftigkeit nicht wesentlich beeinträchtigt, wohl aber durch Filtration durch Kieselgur.

deutige Ergebnisse. Bei den mit Butter vorbehandelten Tieren konnte allerdings über den positiven Ausfall der Reaktion kein Zweifel sein. Weniger klar liegen aber die Verhältnisse bei den Versuchsreihen, bei denen die Meerschweinchen mit Rindertalg und mit Schweineschmalz sensibilisiert waren. Eine gewisse spezifische Beeinflussung war ja bei der Mehrzahl dieser Tiere ebenfalls zu erkennen, bei einzelnen fehlten aber charakteristische Erscheinungen völlig oder sie waren nur so leichter Natur und nicht so überzeugend, daß die Abgabe eines bestimmten Urteils in jedem Falle möglich gewesen wäre.

Versuch 30.

3 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1,0 ccm bei 37° verflüssigter Butter subkutan vorbehandelt.

Am 35. Tage erhält:

Meerschweinchen	1 = 0,5 ccm	Rinderserum	ic.
"	2 = 0,5 "	frische Milch	"
"	3 = 0,5 "	gekochte Milch	"
1 Kontrolle	= 0,5 "	Rinderserum	"
1 "	= 0,5 "	frische Milch	"

Es zeigen:

Meerschweinchen	1 = sehr schwere Symptome, erholt sich
"	2 = " " " " † nach 24 Stunden
"	3 = " " " " † " 24 "
Kontrollen	= 0

Am 37. Tage erhält Meerschweinchen 1 = 0,5 ccm rohe Milch intracardial und zeigt sehr schwere Erscheinungen, † nach 20 Sekunden.

Entsprechend und übereinstimmend mit den Ergebnissen der später noch mitgeteilten Organeiß-Differenzierungsversuche reagierten die mit Butter vorbehandelten Tiere sowohl auf die Prüfung mit roher und gekochter Milch wie auch mit Rinderserum. Bemerkenswert ist, daß von den 3 Tieren nur das mit Serum nachbehandelte die Prüfungsinjektion überlebte, während die mit Milch nachgeimpften Tiere zugrunde gingen. Hervorzuheben ist ferner der doppelte positive Prüfungsausfall bei Meerschweinchen 1, welches, trotzdem es bei der ersten Prüfung mit Rinderserum die schwersten anaphylaktischen Erscheinungen überstanden hatte, nach 48 Stunden auf Injektion von 0,5 ccm Milch wieder typisch erkrankte und unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde ging.

Die mit Rindertalg sensibilisierten Tiere reagierten auf die Prüfung mit Rinderserum nicht in so gleichmäßiger Weise. Von den in Versuch genommenen 4 Meerschweinchen erkrankten bei der Prüfung zwar 3 unter sehr schweren Erscheinungen, die sogar bei zweien sofort zum Tode führten, ein Tier fiel dagegen aber so gut wie vollkommen aus. Einer nach 24 Stunden wiederholten Injektion gegenüber erwiesen sich die beiden überlebenden Tiere dann antianaphylaktisch.

Versuch 31.

4 Meerschweinchen werden mit bei 60° verflüssigtem Rindertalg vorbehandelt.

Am 29. Tage erhalten die Tiere und eine Kontrolle je 0,5 ccm Rinderserum intracardial.

Es zeigen:

Meerschweinchen	1	=	sehr schwere Symptome, † nach 10 Minuten
"	2	=	" " " erholt sich
"	3	=	" " " † nach 8 Minuten
"	4	=	keine deutlichen Symptome
Kontrolle		=	0

Am 30. Tage erhält Meerschweinchen 2 u. 4 nochmals je 0,5 ccm Rinderserum intracardial. Beide Tiere zeigen keine Erscheinungen.

Ein Versuch mit Schweineschmalz führte zu nachstehendem Ergebnis:

Versuch 32.

3 Meerschweinchen werden mit bei 37° verflüssigtem Schweineschmalz vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten die 3 Tiere und eine Kontrolle je 0,5 ccm Schweineserum intracardial.

Es zeigen:

Meerschweinchen	1	=	leichte Erscheinungen
"	2	=	0
"	3	=	leichte Erscheinungen
Kontrolle		=	0

Auch hier war nach dem Versuchsausfall bei zweien der sensibilisierten Tiere eine Beeinflussung durch die Vorbehandlung unverkennbar, es ist aber fraglich, ob sich auf Grund nur solch leichter Symptome eine für die Praxis z. B. zum Nachweis von Butterverfälschungen brauchbare Prüfungsmethode mittelst der Anaphylaxiereaktion gewinnen lassen wird. Wir haben noch Versuche im Gange, bei denen die Tiere mit künstlichen Gemischen von Butter und Schmalz.

sowie mit verschiedenen Schmalz- und Margarinearten vorbehandelt sind und hoffen nach ihrem Abschluß Klarheit bezüglich einer eventuellen praktischen Verwertbarkeit des Phänomens nach dieser Richtung hin zu erhalten.

Die Versuche sind weiterhin auch auf verschiedene Nährpräparate ausgedehnt worden. Es ist dabei gelungen, bei mit verschiedenen Nährpräparaten (Valentines meat juice, Fortose, Liebig's Fleischextrakt) sensibilisierten Meerschweinchen durch Prüfung mit Rinderserum positive Reaktionen zu erhalten, obwohl in den Präparaten durch Koagulation und mittelst der Präzipitation kein Eiweiß nachzuweisen war. Bei einem Präparat (Valentines meat juice), das nach der chemischen Untersuchung kein Eiweiß enthielt, mit Rinder-, Pferde-, Hammeleiweißantiserum keine Niederschläge gab — auch nicht in der Konzentration 1:10 — und in diesen Konzentrationen auch Komplement nicht ablenkte, bewirkte nach dreimaliger Vorbehandlung der Meerschweinchen an aufeinanderfolgenden Tagen mit je 1 ccm einer 10-proz. Lösung die intracardiale Nachspritzung nach 6 Wochen von je 1 ccm eines Gemisches gleicher Volumteile inaktivierten Rinderserums und physiologischer Kochsalzlösung bei einem der Tiere schwere, bei einem leichtere, bei einem dritten keine Symptome.

Ein von koagulierbarem Eiweiß freies, nach der chemischen Untersuchung vorwiegend aus Albumosen bestehendes Nährpräparat (Fortose) gab bei der Präzipitation mit 0,1 ccm Rinderantiserum in der Verdünnung 1:10 eine Trübung, nicht bei schwächeren Konzentrationen, lenkte in der gleichen Verdünnung Komplement nur schwach, bei schwächeren Konzentrationen gar nicht ab; bei der Nachspritzung mit 0,5 ccm Rinderserum 6 Wochen nach dreimaliger Vorbehandlung erkrankte ein Meerschweinchen leicht, ein anderes schwer. Der eiweißfreie, vorwiegend aus Peptonen und niederen Abbauprodukten bestehende Liebig'sche Fleischextrakt gibt mit Rinderantiserum keinen Niederschlag, lenkt bei 1:10 schon in der Kontrolle, dagegen nicht bei 1:50 mit Antiserum Komplement ab; zwei wie oben vorbehandelte Meerschweinchen erkrankten bei der intracardialen Nachspritzung mit Rinderserum.

Hailer, welcher auf Veranlassung Uhlenhuths diese Versuche durchgeführt hat, wird darüber besonders noch ausführlich berichten.

Anhangsweise mögen hier noch ganz kurz einige Untersuchungen mitgeteilt werden, welche sich mit der Anaphylaxie durch Insekteneiweiß befaßten. Wir hatten gehofft, bei mit Honig vorbehandelten Tieren durch Prüfung mit Extrakten aus Bienen ebenfalls eventuell anaphylaktische Erscheinungen auslösen zu können, nachdem uns dies bei mit Bienenextrakt vorbehandelten und mit Bienenextrakt nachgeprüften Meerschweinchen gelungen war. Entsprechende Versuche haben aber keine klaren Ergebnisse geliefert.

Versuch 33.

5 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1,0 ccm Bienenextrakt subkutan vorbehandelt. Der Bienenextrakt war in der Weise hergestellt, daß 20 Bienen im Mörser zerquetscht und in 20 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden. Die Aufschwemmung wurde 2 Tage geschüttelt. Filtration durch Kieselgur.

Am 40. Tage erhalten:

Meerschweinchen	1 = 1,0 ccm Bienenextrakt (1:4) ic.
"	2 = 1,0 " " " "
"	4 = 0,5 " " " "
"	5 = 0,2 " " " "
Kontrolle	1,0 " " " "
Meerschweinchen	3 interkurrent †.

Es zeigen:

Meerschweinchen	1 = sehr schwere Erscheinungen, † nach 12 Minuten
"	2 = " " " " † " 9 "
"	4 = " " " " erholt sich
"	5 = keine deutlichen Erscheinungen
Kontrolle	= leicht krank, aber keine charakteristischen Erscheinungen.

Versuch 34.

4 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1 ccm Honiglösung (1:10 Kochsalz) subkutan vorbehandelt.

Am 35. Tage erhalten Meerschweinchen 1—4 und eine Kontrolle 1,0 ccm Bienenextrakt (1:4) ic.

Es zeigen:

Meerschweinchen	1 = krank, aber keine deutlichen Erscheinungen
"	2 = 0
"	3 = 0
"	4 = leichte Erscheinungen
Kontrolle	= 0

Versuch 35.

3 Meerschweinchen mit Honig vorbehandelt wie vor.

Am 46. Tage erhalten Meerschweinchen 1—3 und eine Kontrolle 0,5 ccm Bienenextrakt (unverdünnt) ic.

Es zeigen :

Meerschweinchen	1 = schwere typische Erscheinungen, † nach 12 Minuten
„	2 = krank, aber keine charakteristischen Symptome
„	3 = „leichtkrank“
Kontrolle	= „leichtkrank“

Die mit Bienenextrakt sensibilisierten und nachbehandelten Meerschweinchen erkrankten bzw. starben sonach unter typischen Symptomen, während bei den mit Honig vorbehandelten Tieren keine eindeutigen Ergebnisse bei der Prüfung erhalten wurden. Eine erheblichere Steigerung der Extraktmenge zur Prüfungsinjektion über 0,5 ccm des unverdünnten Extraktes war nicht durchführbar, da bei Anwendung von 1,0 ccm Extrakt auch unbehandelte Tiere bereits schwer erkrankten.

V. Versuche zur Differenzierung verschiedener Organeiw ei ß e desselben Organismus.

Von Ranzi (20) sind bereits eingehendere Versuche an gestellt worden, mit Hilfe der Anaphylaxiereaktion Organeiw ei ß e desselben Organismus zu differenzieren. Ranzi kam bei seinen Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß es zwar ge lingt, mit den Extrakten aus den verschiedensten Organen Kaninchen und Meerschweinchen zu sensibilisieren, daß es sich aber bei diesem durch derartige Organextrakte hervorgerufenen anaphylaktischen Zustand nicht um eine organspezifische Ana phylaxie handelt. Die mit Extrakten aus einem bestimmten Organ vorbehandelten Tiere reagierten auch, wenn die Prüfungs injektion mit Extrakten aus anderen Organen oder mit Serum erfolgte. Da aber in der Arbeit Ranzis nichts darüber an gegeben ist, ob und in welcher Weise die zur Extraktbereitung benutzten Organe von Blut und Serumeiw ei ß befreit waren, so bringen die Versuche Ranzis keinen sicheren Beweis dafür, daß mit Hilfe der Anaphylaxiereaktion die Differenzierung verschiedener Organeiw ei ß e desselben Organismus unmög lich ist.

Uhlenhuth und Andrejew (21), sowie Kraus, Doerr und Sohma (22) konnten jedenfalls zeigen, daß bezüglich des Linseneiw ei ß es die Dinge auch bei der Anaphylaxiereaktion ebenso liegen, wie sie von Uhlenhuth für die Präzipitation

festgestellt worden waren. Auch bei Prüfung mit der Anaphylaxiereaktion gelingt der Nachweis, daß das Linseneiweiß von dem Serumeiweiß desselben Organismus verschieden ist, der Artspezifität entbehrt und insofern eine biologische Sonderstellung einnimmt, als das Linseneiweiß der verschiedenen Tiere durch die ganze Tierreihe hindurch als biologisch gleichartiger Eiweißkörper anzusehen ist.

Erwähnt sei hier, daß es uns bei Fortsetzung der Untersuchungen bezüglich des Linseneiweißes auch gelungen ist, bei Meerschweinchen, welche mit Meerschweinchenlinsen vorbehandelt waren, durch Prüfung mit Meerschweinchenlinseneiweiß typische Anaphylaxiereaktion zu erhalten. Es war sogar möglich, Meerschweinchen mit dem Eiweiß der Linse ihres einen Auges zu sensibilisieren und durch Nachbehandlung mit dem Linseneiweiß des anderen Auges bei den Tieren dann anaphylaktische Symptome auszulösen.

Versuch 36.

3 Meerschweinchen werden mit je 1,0 ccm Meerschweinchenlinsenslösung (1 Linse auf 1,0 ccm Kochsalzlösung) subkutan vorbehandelt.

Am 33. Tage erhalten:

Meerschweinchen 1	= 5 ccm Meerschweinchenlinsenslösung	ip.
„ 2	= $\frac{1}{2}$ „	ic.
„ 3	= $\frac{1}{4}$ „	„
Kontrolle	= $\frac{1}{2}$ „	„

Es zeigen:

Meerschweinchen 1	= deutliche, schwere Symptome
„ 2	= sehr schwere Symptome, † nach 8 Minuten
„ 3	= schwere Symptome, erholt sich
Kontrolle	= 0

Versuch 37.

2 Meerschweinchen werden die Linsen der linken Augen herausgenommen und die Tiere jeweils mit einer Lösung der eigenen Linse in 1 ccm Kochsalz subkutan vorbehandelt.

Am 28. Tage werden die Tiere mit Lösungen der Linse ihres anderen Auges nachbehandelt.

Meerschweinchen 1	erhält $\frac{1}{4}$ ccm ic. und zeigt leichte Erscheinungen
„ 2	„ $\frac{1}{2}$ „ „ „ „ schwere „

Zu einer eingehenden Prüfung der Frage, ob eine Differenzierung verschiedener Organeiweiße mittelst der Ana-

phylaxiereaktion möglich wäre, schien es nun zweckmäßig, zunächst in erster Linie zu den Untersuchungen solche Organe Eiweiße zu verwenden, bei denen ein Arbeiten möglichst mit reinem Organeiweiß durchführbar war. Wir wählten hierzu verschiedene Eiweißkörper vom Rind (Serum, Milch, Glaskörper) und vom Huhn (Serum, Blutkörperchen, Hämoglobin, Stromata, Eigelb und Eiklar). Außerdem prüften wir auch Parallelserien von Meerschweinchen, welche mit Hämoglobin bzw. Serum von verschiedenen Tierarten (Pferd, Hammel) vorbehandelt waren, da der Frage der Unterscheidung von Blut gegenüber allen anderen Eiweißkörpern ja eine besondere forensische Bedeutung zukommt. Schließlich untersuchten wir auch verschiedene Sekrete und Exkrete bezüglich ihrer Fähigkeit Meerschweinchen für die spätere Prüfung mit dem entsprechenden Serum zu sensibilisieren, da eine etwaige anaphylaktisierende Wirkung derartiger Stoffe in forensischer Hinsicht ebenfalls von großer Bedeutung sein kann.

Was nun die biologische Differenzierung von Kuhmilch und Rinderserum mittelst der Präzipitation anbelangt, so ist es nach den Versuchen von Schloßmann (23) bekannt, daß die gegen die Eiweißkörper der Kuhmilch hergestellten präzipitierenden Kasein- und Albuminantisera auch in Rinderblutlösungen eine Reaktion geben, während nach den Untersuchungen von Meyer (24) durch Injektion von Rinderserum gewonnene Antisera in Kuhmilch keine Fällung hervorrufen. Uhlenhuth (25) konnte allerdings zeigen, daß sehr hochwertige Blutantisera doch eine leichte Reaktion in der Milch geben, dieselbe ist allerdings nur schwach und mit der spezifischen Fällung nicht zu verwechseln.

Bezüglich des Verhaltens dieser beiden Eiweißkörper bei Prüfung mit der Anaphylaxiereaktion liegt seitens Besredka die Angabe vor, daß mit Rinderserum vorbehandelte Meerschweinchen nur bei der Prüfung mit Rinderserum, nicht aber, wenn sie mit Milch nachbehandelt wurden, anaphylaktisch reagierten.

Wir haben zur Prüfung dieser Frage einige Versuche angestellt, deren Protokolle auszugsweise nachstehend wiedergegeben werden.

Nach 48 Stunden erhalten:

Meerschw. 1 = 0,5 ccm fr. Milch ic. u. zeigt = schwere Symptome, † nach
3 Minuten
 „ 2 = 0,5 „ Rinders. „ „ „ = 0
 „ 3 = 0,5 „ Milch „ „ „ = sofort † (überempfindlich?)
 „ 4 = 0,5 „ „ „ „ „ = sehr schwere Symptome, †
nach 6 Minuten

Versuch 41.

2 Meerschweinchen werden mit $\frac{1}{100}$ ccm Rinderserum sk. vorbe-
handelt.

Am 40. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 0,5 ccm (1:100) Rinders. ic. u. zeigt = leichte Symptome
 „ 2 = 1,0 „ (1:50) „ „ „ „ = schwere Symptome

Nach 48 Stunden, am 42. Tage, erhalten:

Meerschw. 1 = 0,5 ccm Milch ic. = schwere Symptome, † nach 24 Stunden
 „ 2 = 0,5 „ „ „ = leichte Symptome

Versuch 42.

4 Meerschweinchen werden mit $\frac{1}{100}$ ccm Rinderserum sk. vorbe-
handelt.

Am 41. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 0,5 ccm frische Milch und zeigt = sehr schwere Symptome,
† nach 5 Minuten
 „ 2 = 0,5 „ gekochte (45 Min.) Milch u. zeigt = 0
 „ 3 = 0,5 „ „ (45 Min.) „ „ „ = 0
 „ 4 = 0,5 „ „ (45 Min.) „ „ „ = 0
 eine Kontr. = 1,0 „ „ (45 Min.) „ „ „ = 0

Nach 24 Stunden, am 42. Tage, erhalten:

Meerschw. 2 = 0,5 ccm (1:10) Rinders. ic. u. zeigt = sehr schwere Sympt.
 „ 3 = 0,5 „ frische Milch und zeigt = schwere Symptome
 „ 4 = 0,5 „ „ „ „ „ = „ „

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß mit frischer Milch vorbehandelte Meerschweinchen auch auf eine Prüfungsinjektion mit gekochter Milch und mit Serum und ebenso mit Serum sensibilisierte Tiere auch auf die Nachbehandlung mit frischer Milch unter anaphylaktischen Erscheinungen reagieren.

Man könnte hier zunächst ein Uebergreifen der Reaktion annehmen; so einfach scheinen die Dinge jedoch nicht zu liegen, denn mit Milch vorbehandelte Meerschweinchen, welche infolge der Prüfung mit Rinderserum schwere anaphylaktische Erscheinungen überstanden haben, sind dadurch nicht antianaphylaktisch geworden, sondern starben nach einer erneuten, nach 24 oder 48 Stunden vorgenommenen Nachbehandlung

mit Milch unter den schwersten Erscheinungen. Ebenso führte bei einem mit Milch sensibilisierten Tiere die Prüfung mit gekochter Milch keinen anaphylaktischen Zustand für Rinder-serum herbei, sondern das Tier starb bei der nach 48 Stunden vorgenommenen Prüfung mit Rinder-serum ebenfalls unter den typischen Symptomen eines schweren anaphylaktischen Krankheitsbildes. Ebenso erkrankten mit Rinder-serum sensibilisierte Meerschweinchen, obwohl sie den durch die Nachbehandlung mit Rinder-serum ausgelösten anaphylaktischen Shock überstanden hatten, bei einer erneuten Prüfung mit Milch. Man könnte allerdings diese Beobachtung auch so erklären, daß die zur ersten Prüfungsinjektion benutzte Eiweißmenge zwar zur Auslösung typischer Erscheinungen genügte, aber nicht ausreichte, um die Tiere in einen antianaphylaktischen Zustand gegenüber einer weiteren Prüfungsinjektion zu versetzen. Man muß aber andererseits doch auch daran denken, daß bei den mit Milch bzw. mit Serum sensibilisierten Tieren sowohl die gegen Milch- wie die gegen Serumeiweiß gerichtete Anaphylaxie unabhängig voneinander bestehen. Die Ergebnisse der Versuche 40 und 42 mit gekochter Milch scheinen in gewissem Sinne für diese Annahme zu sprechen, denn es hat hier den Anschein, als ob durch das Kochen der Milch die Serumeiweißkomponente so beeinträchtigt worden wäre, daß sie weder mehr sensibilisierend noch Anaphylaxie auslösend in diesen Versuchen zu wirken vermochte. Ganz eindeutig sind die Resultate aber auch diesen Versuchen nicht, da bei der Versuchsreihe 40 ein Tier bei der Prüfung mit Rinder-serum, doch ebenfalls, wenn auch nur leichte, Erscheinungen aufwies und bei Versuch 42 die zunächst mit gekochter Milch erfolglos geprüften Tiere dadurch der 24 Stunden später erfolgten Nachprüfung mit frischer Milch gegenüber anscheinend doch soweit geschützt wurden, daß sie zwar noch schwer erkrankten, aber mit dem Leben davorkamen. Es wäre daher immerhin möglich, daß durch den Kochprozeß der sensibilisierende und Anaphylaxie auslösende Milcheiweißkörper so geschädigt sein könnte, daß sowohl seine sensibilisierende wie auch reaktionsauslösende Wirkung nicht mehr ausreichte, um bei den mit gekochter Milch vorbehandelten Tieren bei Nachprüfung mit Serum und bei den mit Serum vorbehandelten Meerschwein-

chen bei der Prüfung mit gekochter Milch ein deutlich ausgesprochenes Uebergreifen der Reaktion in Erscheinung treten zu lassen. Nach den bei Versuch 42 erhaltenen Ergebnissen ließen sich bei dieser Versuchsanordnung gekochte und frische Milch differenzieren. Ob sich diese Beobachtung in praktischer Hinsicht verwerten lassen wird, darüber sind noch Untersuchungen im Gange.

Wir versuchten nun mit Hilfe der passiven Ueberempfindlichkeit einer Klärung der Frage des Zusammenhangs von Serum- und Milcheiweißanaphylaxie näher zu kommen, erhielten aber auch auf diesem Wege, wie gleich bemerkt sein mag, keine eindeutigen Resultate.

Versuch 43.

9 Meerschweinchen werden je mit 1,0 ccm präzipitierenden Rinderantiserums vom Kaninchen (Titer 1:10000) ip. vorbehandelt.

Nach 24 Stunden erhielten:

Meerschw. 1	= 0,3 ccm Rinders.	ic. u. zeigt = deutliche Symptome
" 2	= 0,3 " " " "	= schwere Symptome, † nach 5 Minuten
" 3	= 0,5 " Milch	" " " = nur leicht angedeutete Sympt.
" 4	= 0,5 " " " "	" " " = 0
" 5	= 1,0 " " " "	" " " = 0
" 6	= 1,0 " " " "	" " " = 0
" 7	= 0,1 " Rinders.	" " " = 0
" 8	= 0,5 " " " "	= schwere Symptome, † nach 8 Minuten
" 9	= 1,0 " Milch	" " " = leicht krank, nur angedeutete Symptome

24 Stunden später erhalten:

Meerschw. 1	= 1,0 ccm Milch	= sofort † (überempfindlich?)
" 3	= 0,3 " Rinders.	= schwere Symptome, erholt sich
" 5	= 0,5 " " "	" " " " " "
" 6	= 0,5 " " "	" " " " " "
" 7	= 0,5 " Milch	= 0 " " " "
" 9	= 0,5 " Rinders.	= " " " " "

Versuch 44.

8 Meerschweinchen. Vorbehandlung wie bei Versuch 43.

Nach 48 Stunden erhalten:

Meerschw. 1	= 1,0 ccm gekochte Milch	u. zeigt = 0
" 2	= 1,0 " frische	" " " = leichte aber deutliche Symptome, nach 24 Stunden †
" 3	= 1,0 " " "	" " " = leicht ausgesprochene Sympt., nach 24 Std. †
" 4	= 0,5 " Rinderserum	" " " = sehr schwere Symptome, nach 5 Minuten †
" 5	= } 1,0 ccm gekochte Milch	u. zeigt = 0
" 6	= }	
" 7	= 1,0 ccm frische Milch	u. zeigt = 0

Nach weiteren 24 Stunden erhalten :

Meerschw.	1 = 0,5	Rinders.	ic. u.	zeigt	= sehr schwere Sympt., erholt sich
"	5 = 0,5	"	"	"	= † nach 10 Minuten
"	6 = 0,5	"	"	"	= † " 30 "
"	7 = 0,5	"	"	"	= sehr schwere Sympt., erholt sich
"	8 = 0,5	"	"	"	= " " " † nach 8 Minuten

Aus den Ergebnissen dieser Versuche ging hervor, daß mit einem Rinderserum präzipitierenden Antiserum passiv anaphylaktisch gemachte Meerschweinchen sich gegenüber einer nach 24 bzw. 48 Stunden erfolgten Prüfungsinjektion mit frischer oder gekochter Milch im allgemeinen refraktär verhielten. Doch gilt dies für frische Milch auch nicht absolut, denn die Erscheinungen bei Meerschweinchen 3 und 9 (Versuch 43) und bei Meerschweinchen 2 und 3 (Versuch 44) müssen doch wohl als leichte Reaktionen aufgefaßt werden. Die Vorprüfung mit frischer oder gekochter Milch vermochte aber bei der nach weiteren 24 bzw. 48 Stunden erfolgten Nachbehandlung mit Serum das Auftreten schwerer anaphylaktischer Erscheinungen nicht zu verhüten. Ein gewisser schützender Einfluß muß allerdings wohl der frischen Milch vielleicht insofern zuerkannt werden, als von den mit frischer Milch vorgeprüften Tieren bei der 2. Prüfung mit 0,5 ccm Rinderserum keines starb, während alle Tiere, welche bei der 1. Prüfung 0,5 ccm und selbst 0,3 ccm Rinderserum erhalten hatten, zugrunde gingen. Bei den mit gekochter Milch vorgeprüften Meerschweinchen machte sich ein derartiger Schutz nicht allgemein bemerkbar, da verschiedene dieser Tiere bei der wiederholten Prüfung mit 0,5 ccm Rinderserum ebenfalls starben. Völlige Klarheit über die Frage, ob die erhaltenen Ergebnisse auf ein einfaches Uebergreifen der Reaktion zurückzuführen sind, oder ob Serum- und Milcheiweißanaphylaxie unabhängig voneinander bestehen, brachten auch diese Versuche nicht. Wir müssen diese Frage offen lassen.

In praktischer Hinsicht ergibt sich, daß eine absolut sichere Differenzierung von Serum und frischem Milcheiweiß weder mit aktiver noch mit passiver Anaphylaxie in unzweifelhafter Weise möglich ist. Quantitative Differenzen machen sich allerdings ähnlich wie bei der Präzipitation

bemerkbar. Eindeutiger waren die Ergebnisse gegenüber gekochter Milch.

Bei mit Glaskörper vom Rinderauge (30 Minuten sterilisiert) aktiv sensibilisierten Tieren führte die Prüfung zu negativen Resultaten, sowohl wenn die Prüfungsinjektion mit Serum oder mit 2 Stunden bei 60° flüssig gemachtem Glaskörper erfolgte. Es ist dabei allerdings möglich, daß die Ergebnisse nur deshalb negativ ausfielen, weil durch die Sterilisation bezw. auch durch die Erwärmung auf 60° die reaktionsfähigen Eiweißsubstanzen geschädigt und unwirksam geworden waren¹⁾.

Versuch 45.

4 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1 ccm sterilisierten (30 Min.) Rinderglaskörpers sk. vorbehandelt.

Am 35. Tage erhalten:

Meerschweinchen	1 = 1/2 ccm	Rinderserum ic.	und zeigt = 0.
"	2 = 1 "	"	" " " = 0.
"	3 = 1 "	flüssig " gemachten "	(2 Std. bei 60°) Glaskörp. u. zeigt = 0.
"	4 = 1 "	flüssig gemachten (2 Std. bei 60°) Glaskörp.	u. zeigt = 0.

Zu ähnlichen Ergebnissen wie die Versuche mit Milch- und Serumeiweiß des Rindes führten nun auch die Untersuchungen mit verschiedenen Organeiweißarten des Huhnes. Wie erwähnt, hatten wir zur Prüfung dieser Frage jeweils Serien von Meerschweinchen mit Dotter, Eiklar, Serum sowie mit gewaschenen Hühnerblutkörperchen, mit Hämoglobin und mit Hühnerblutkörperchenschatten vorbehandelt. Die Trennung von Eiklar und Dotter erfolgte in der schon früher von Uhlenhuth durchgeführten Weise dadurch, daß nach Abgießen des Eiklars der Dotter in ein mit flüssiger Gelatine gefülltes Wasserglas eingebracht wurde, so daß das Dottereweiß nach dem Erstarren der Gelatine leicht isoliert gewonnen werden konnte.

Zur Hämoglobingewinnung wurden 8mal in Kochsalzlösung gewaschene Hühnerblutkörperchen in einer Kältemischung zum Einfrieren gebracht und dann bei 60° aufgetaut.

1) Wie weitere Versuche zeigten, reagieren mit bei 60° flüssig gemachten Glaskörper vorbehandelte Meerschweinchen anaphylaktisch, wenn die Prüfung mit Serum oder mit Milch, nicht aber, wenn sie mit verflüssigtem (60°) Glaskörper erfolgte.

Aus der lackfarbenen Blutlösung wurden die Stromata durch Zentrifugieren (elektrische Zentrifuge, 4000 Umdrehungen) entfernt, die überstehende lackfarbene Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und der aus Stromata bestehende Bodensatz erneut mit Kochsalz 8mal gewaschen.

Versuch 46.

5 Meerschweinchen werden mit 0,5 ccm Hühnerserum sk. vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Eiklar (1:10)	ic. u. zeigt =	sehr schwere Sympt.
„ 2 = 1 „ Hämoglobin (1:5)	„ „ „	= leichte aber deutliche Symptome
„ 3 = 1 „ Dotter (1:10)	„ „ „	= schwere Symptome
„ 4 = 1 „ Serum (1:10)	„ „ „	= schwere Symptome, † nach 4 Minuten
„ 5 = 1 „ Hämoglobin (1:5)	„ „ „	= schwere Symptome.

4 unbehandelte Meerschweinchen, je 1 ccm einer der 4 in Betracht kommenden Eiweißlösungen ic. (zugleich als Kontrollen auch für die nachstehenden Reihen bis Versuch 51 einschließlich) und zeigen = 0.

Nach 48 Stunden, am 33. Tage, erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Serum (1:10)	ic. =	sehr schwere Sympt., † n. 6 Min.
„ 2 = 1 „ „ (1:10)	„ =	„ „ „ † „ 3 „
„ 3 = 4,0 ccm Ser.	ip. =	„ „ „ † „ 20 „
„ 5 = 1 ccm Serum (1:20)	ic. =	„ „ „ † „ 5 „

Versuch 47.

5 Meerschweinchen werden 3mal je einen über den anderen Tag mit 1 ccm einer Hühnereiweißlösung 1:500 sk. vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Hühnereiweiß (1:10)	ic. u. zeigt =	sehr schwere Sympt., † nach 4 Min.
„ 2 = 1 „ Hämoglobin (1:5)	„ „ „	= 0
„ 3 = 1 „ Dotter (1:10)	„ „ „	= sehr schwere Sympt.
„ 4 = 1 „ Serum (1:10)	„ „ „	= „ „ † nach 5 Min. „

(Meerschweinchen 5 interkurrent †.)

Nach 48 Stunden, am 33. Tage, erhalten:

Meerschw. 2 = 5 ccm Eiweißlösung ($\frac{3}{2}$)	ip. =	sehr schwere Erscheinungen, † nach 25 Min.
„ 3 = 1 „ Eiweiß (1:10)	ic. =	sehr schwere Erscheinungen, † nach 5 Min.

Versuch 48.

5 Meerschweinchen werden je mit 1,0 ccm Dotterlösung (1:500) 3mal sk. vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm einer Eiweißlösung (1:10) ic. u. zeigt = schwere Sympt.,
erholt sich
" 2 = 1 " " Hämoglobinlös. (1:5) " " " = 0
" 3 = 1 " " Dotterlösung (1:10) " " " = s. schw. Sympt.,
† nach 5 Min.
" 4 = 1 " " Serum (1:10) " " " = s. schw. Sympt.
(Meerschweinchen 5 interkurrent †.)

Nach 48 Stunden, am 33. Tage, erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Dotterlös (1:10) = sehr schw. Sympt., † nach 5 Min.,
2 = 1 " " (1:10) = " " " erholt sich
" 4 = 1 " " (1:10) = " " " † nach 10 Min.

Versuch 49.

5 Meerschweinchen werden je mit 1 ccm Smal mit Kochsalzlösung gewaschener Hühnerblutkörperchenaufschwemmung (5-proz.) sk. vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Eiweiß (1:10) u. zeigt = 0.
(" 2 interkurrent †.)
" 3 = 1 ccm Hämoglobin (1:5) " " = sehr schwere Symptome,
† nach 12 Min.
" 4 = 1 " Dotterlös. (1:10) " " = leichte Symptome
" 5 = 1 " Serum (1:10) " " = " "

Nach 48 Stunden, am 33. Tage, erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Hämoglobin (1:5) u. zeigt = sehr schwere Symptome,
† nach 6 Min.
" 4 = 1 " " (1:5) " " = sehr schwere Symptome.
† nach 5 Min.
" 5 = 1 " " (1:5) " " = sehr schwere Symptome,
† nach 12 Min.

Versuch 50.

5 Meerschweinchen werden je mit 1 ccm gewaschener Hühnerblutkörperchenschatten vorbehandelt.

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Hämoglobin (1:5) u. zeigt = leichte Erscheinungen
" 2 = 1 " Serum (1:10) " " = schwere Symptome, erholt sich.
" 3 = 1 " Eiweiß (1:10) " " = 0;
" 4 = 1 " Dotter (1:10) " " = schwere Symptome, erholt sich
(" 5 interkurrent †.)

Nach 48 Stunden am 33. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Serum (1:10) u. zeigt = leichte Erscheinungen
" 2 = 1 " Hämoglobin (1:10) " " = } ganz leichte Ersch.
" 3 = 1 " " (1:5) " " = }
" 4 = 1 " Serum (1:10) " " = leichte Erscheinungen,
aber sehr deutlich ausgesprochen

Versuch 51.

5 Meerschweinchen werden je mit 1,0 ccm Hämoglobin sk. vorbe-
handelt.

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Eiweiß (1:10) u. zeigt = 0
 „ 2 = 1 „ Hämoglobin (1:5) „ „ = sehr schwere Symptome,
 † nach 8 Min.
 („ 3 interkurrent †.)
 „ 4 = 1 ccm Serum (1:10) und zeigt = schwere Symp., † nach
 12 Min.
 „ 5 = 1 „ Dotterlösung „ „ = 0

Nach 48 Stunden, am 33. Tage, erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Hämoglobin (1:5) = leichte Erscheinungen
 „ 5 = 1 „ „ (1:5) = schwere Ersch., † nach
 8 Min.

Bei diesen Versuchen reagierten sonach die mit Hühnerserum vorbehandelten Tiere, sowohl wenn zur Nachprüfung wieder Hühnerserum, wie auch wenn Hühnereiweiß, Hühnerdotter oder Hämoglobin benutzt worden war. Ein Unterschied machte sich allerdings insofern geltend, als die mit Serum nachgespritzten Tiere zugrunde gingen, während die mit den anderen Eiweißarten geprüften Tiere zwar schwer erkrankten, aber sich schließlich doch wieder erholten. Wurden die mit Serum vorbehandelten Tiere, nachdem sie bei der ersten Nachprüfung mit einer anderen Eiweißart des Huhnes unter den schwersten anaphylaktischen Erscheinungen erkrankt, aber durchgekommen waren, nach 48 Stunden mit Hühnerserum nachgespritzt, so waren sie nicht antianaphylaktisch, sondern gingen unter typischen Ueberempfindlichkeitserscheinungen zugrunde. Ganz in derselben Weise verhielten sich die mit Hühnereiweiß und mit Hühnerdotter vorbehandelten Meerschweinchen, nur gelang es bei diesen Tieren nicht, durch die Prüfung mit Hämoglobin typische Anaphylaxiesymptome auszulösen. Entsprechend zeigten die mit Hämoglobin vorbehandelten Tiere zwar bei der Prüfung mit Hühnereiweiß und Hühnerdotter keine deutlichen Erscheinungen, wohl aber, wenn die Nachbehandlung mit Hämoglobin oder aber auch mit Serum erfolgt war. Von den mit Hühnerblutschatten vorbehandelten Meerschweinchen erkrankten die mit Hühnerserum und Dotter nachgespritzten Tiere unter schweren anaphylaktischen Symptomen, während bei den mit Hämoglobin behan-

delten nur ganz leichte Erscheinungen auftreten. Das mit Eiweiß geprüfte Tier reagierte überhaupt nicht. Anscheinend bestehen danach zwischen Stromataeiweiß einerseits und dem Serum- und Dottereiweiß andererseits engere Beziehungen als zwischen dem ersteren und dem Eiklar und Hämoglobin des Huhnes. Die mit gewaschenen Hühnerblutkörperchen sensibilisierten Meerschweinchen reagierten auf jeden der zur Prüfung benutzten Eiweißkörper, nur das mit Eiweiß nachbehandelte Tier zeigte keine Erscheinungen.

Wurden die zuerst mit heterologem Eiweiß nachgespritzten Tiere 48 Stunden später mit dem zur Sensibilisierung benutzten Eiweiß zum zweiten Mal nachgeprüft, so zeigten sie trotz der zuvor überstandenen Erkrankung erneut typische Symptome. Hervorzuheben wäre schließlich noch, daß bei den Versuchsreihen 46—51 alle Tiere, welche bei der ersten Prüfung mit dem auch zur Sensibilisierung benutzten Eiweiß behandelt wurden, starben, während bei der Prüfung mit dem heterologen Eiweiß die Tiere auch bei schwerster Erkrankung mit dem Leben davon kamen. Eine Ausnahme machte hier nur Meerschweinchen 4 in Versuch 47. In Versuchsreihe 50 starb bei der ersten Prüfung überhaupt kein Tier, was vielleicht damit zusammenhängt, daß eine Prüfung mit Hühnerblutschatteneiweiß nicht erfolgt war. Dieselbe Beobachtung nun, wie bei diesen Versuchsreihen, daß nämlich die mit Serum sensibilisierten Tiere auch bei der Prüfung mit Hämoglobin und umgekehrt die mit Hämoglobin vorbehandelten Tiere auch auf die Nachspritzung mit Serum reagierten, machten wir auch bei verschiedenen Versuchsserien, bei denen die Tiere mit Serum bzw. Hämoglobin von Säugetieren vorbehandelt waren.

Es seien hier folgende Resultate angeführt:

Versuch 52.

5 Meerschweinchen werden mit 0,5 Hammelserum sk. vorbehandelt.

Nach 34 Tagen erhalten:

Meerschw. 1	= 1 cem Hämoglobin (1:10)	ic. und zeigt = 0
" 2	= 1 " " (1:10)	" " = 0
" 3	= 1 " " (1:5)	u. zeigt = sehr schwere Sympt., † nach 24 Stunden
" 4	= 1 " " (1:5)	" " = sehr schwere Sympt., † nach 15 Minuten
" 5	= 1 " Serum (1:10)	" " = sehr schwere Sympt., † nach 5 Minuten
Kontrolle	= 1 " Hämoglobin (1:5)	" " = 0

24 Stunden später erhalten :

Meerschw. 1 = 0,5 ccm Hammelser. (1 : 10) ic. u. zeigt = sehr schwere Ersch.,
 † nach 9 Minuten.
 „ 2 = 0,5 „ „ (1 : 10) „ „ „ = sehr schwere Ersch.,
 † nach 12 Minuten.

Versuch 53.

5 Meerschweinchen wurden je mit 0,5 ccm Hämoglobin (Hammel, Herstellung wie bei Versuch 51) sk. vorbehandelt.

Am 33. Tage erhalten :

Meerschw. 1 = 1,0 Hämoglobin (1 : 5) und zeigt = sehr schwere Sympt.,
 † nach 5 Minuten
 „ 2 = 1,0 „ (1 : 10) „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 5 Minuten
 „ 3 = 1,0 Serum (1 : 5) „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 8 Minuten
 „ 4 = 1,0 „ (1 : 10) „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 6 Minuten
 „ 5 = 1,0 „ (1 : 10) „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 10 Minuten

Versuch 54.

4 Meerschweinchen werden mit je 0,5 ccm Hämoglobin (Esel, Herstellung wie vor.) sk. vorbehandelt.

Am 28. Tage nach der Sensibilisierung erhält :

Meerschw. 1 = 1 ccm Hämoglobin (1 : 5) ic. u. zeigt = sehr schwere Sympt.,
 † nach 2 Minuten
 „ 2 = 1 „ „ (1 : 10) „ „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 5 Minuten
 „ 3 = 1,0 „ Eselserum „ „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 5 Minuten
 „ 4 = 1,0 „ „ sc. „ „ = sehr schwere Sympt.,
 † nach 2 Minuten

Zu etwas anderen Ergebnissen führte eine Versuchsreihe, bei der die Tiere nur mit sehr verdünnten Serumlösungen vorbehandelt waren.

Versuch 55.

4 Meerschweinchen wurden mit je 1,0 Eselserum (1 : 1000) sk. vorbehandelt.

Am 40. Tage erhalten :

Meerschweinchen 1 = 1 ccm Hämoglobin (1 : 10) ic. und zeigt = 0
 „ 2 = 1 „ „ (1 : 10) „ „ „ = 0
 „ 3 = 1 „ „ (1 : 5) „ „ „ = 0
 „ 4 = 1 „ „ (1 : 3) „ „ „ = 0

Nach 48 Stunden wurden die Tiere erneut geprüft, es erhalten :

Meerschw. 1 = 1 ccm Eselserum ic. und zeigt = sehr schwere Symptome,
 † nach 6 Minuten
 „ 2 = 1 „ „ „ „ „ = sehr schwere Symptome,
 † nach 3 Minuten
 „ 3 = 1 „ „ (1 : 10) „ „ „ = sehr schwere Symptome,
 † nach 10 Minuten
 „ 4 = 1 „ „ „ „ „ = sehr schwere Symptome,
 † nach 10 Minuten

52*

Auch bei diesen Versuchen läßt sich die Frage, ob die erhaltenen Resultate durch ein Uebergreifen der Reaktion bedingt sind, oder ob Serum- und Hämoglobinaphylaxie unabhängig voneinander bestehen, nicht absolut eindeutig entscheiden.

Der Ausfall der Versuchsreihe 55 spricht vielleicht mehr für die letztere Annahme. Die Erscheinungen, daß mit Serum bzw. Hämoglobin sensibilisierte Tiere sich bei der Nachprüfung gegen beide Eiweißarten anaphylaktisch¹⁾ erweisen, wären danach wohl so zu erklären, daß sowohl im Serum geringe Mengen Hämoglobin wie in dem nach der angewandten Methode gewonnenen Hämoglobin nach geringe Mengen Serum-eiweiß vorhanden sind, welche jeweils sensibilisierend oder anaphylaxieauslösend zu wirken vermögen. Wird aber das Serum so stark verdünnt, wie bei Versuch 55, dann ist in der zur Vorbehandlung benutzten Serumlösung keine zur Sensibilisierung für das Hämoglobineiweiß ausreichende Hämoglobinmenge mehr vorhanden, die Tiere reagieren daher in diesem Falle nur bei der Nachbehandlung mit Serum. Es kann sich auch nur um ein einfaches Uebergreifen der Reaktion handeln, das bei quantitativem Arbeiten (entsprechender Verdünnung der Eiweißlösungen) nicht mehr in Erscheinung tritt. Nach Klein (26) zeigen diese beiden Eiweißarten auch bei der Präzipitation ein zwar ziemlich weitgehendes, aber doch nicht vollständig unabhängiges Verhalten.

Aehnlich liegen die Dinge wohl auch hinsichtlich der wechselseitigen Beeinflussung zwischen Eiklar-, Dotter-, Hämoglobin-, Stromata- und Serumeiweiß. Bemerkenswert ist dabei, daß nach dem Ausfall unserer Versuche das Stromata-eiweiß zum Serum- und Dottereisweiß, sowie zum Hämoglobin

1) In einer kürzlich (Zeitschrift für Immunitätsforschung etc., Bd. 3, 1909, H. 6) erschienenen Mitteilung kommt Thomsen zu dem Schluß, daß mit Serum sensibilisierte Meerschweinchen nicht anaphylaktisch sind für die homologen Erythrocyten und die letzteren allein keine Anaphylaxie gegenüber dem homologen Serum bewirken. Daß Thomsen zu diesen unseren Resultaten nicht entsprechenden Ergebnissen gelangt ist, beruht einmal wohl auf der verschiedenen, zur Hämoglobinherstellung benutzten Technik, dann aber auch darauf, daß dieser Autor mit geringeren Eiweißkonzentrationen gearbeitet hat.

Nach H. Pfeiffer (Zeitschrift für Immunitätsforsch. etc., Bd. 4, 1909) reagieren mit Hämoglobin vorbehandelte Meerschweinchen auch auf die Prüfung mit Serum, mit Serum sensibilisierte Tiere dagegen nicht auf Hämoglobin.

in engerer Beziehung zu stehen scheint als zum Eiklar. Wir haben uns nun auch noch mit Hilfe der passiven Anaphylaxie über das wechselseitige Verhalten von Hämoglobin- und Serumüberempfindlichkeit zu orientieren versucht, indem wir je eine Serie von Meerschweinchen mit einem hämolytischen (hämolytischer Titer 0,0005, präzipitierender Titer = 0) und einem präzipitierenden (präzipitierender Titer 1:20000, hämolytischer Titer = 0,01) Hammel-Antiserum vorbehandelten. Diese Versuchsreihen haben aber insofern zu keinem verwertbaren Ergebnis bezüglich dieser Frage geführt, als die mit präzipitierendem Serum anaphylaktisch gemachten Tiere nur auf die Nachspritzung mit Hammelserum, die mit dem hämolytischen Serum vorbehandelten Meerschweinchen aber überhaupt nicht, weder bei Prüfung mit Serum, noch mit Hämoglobin, reagierten¹⁾.

Versuch 56.

In zwei Versuchsreihen von je 8 Meerschweinchen werden die Tiere jeweils mit 1,0 ccm präzipitierenden Hammel-Antiserums (Serie a), bezw. mit 1,0 hämolytischen Hammelblut-Antiserums (Serie b) vom Kaninchen vorbehandelt.

Nach 48 Stunden erhalten von:

Serie a.	Serie b.
Meerschw. 1 = 0,5 ccm Ser. ic. u. zeigt = sehr schwere Sympt., † n, 2 Min.	Meerschw. 1 = 0,2 ccm Ser. ic. u. zeigt = 0
Meerschw. 2 = 0,1 ccm Ser. ic. u. zeigt = sehr schwere Sympt., † n, 5 Min.	Meerschw. 2 = 0,5 ccm Ser. ic. u. zeigt = 0
Meerschw. 3 = 0,05 ccm Ser. ic. u. zeigt = sehr schwere Sympt., † n, 5 Min.	Meerschw. 3 = 1,0 ccm Ser. ic. u. zeigt = 0
Meerschw. 4 = 0,005 ccm Ser. u. zeigt = sehr schwere Sympt., † n, 15 Min.	Meerschw. 4 = 0,5 ccm Hämoglobin ic. und zeigt = 0
Meerschw. 5 = 0,0025 ccm Ser. u. zeigt = sehr schwere Symptome	Meerschw. 5 = 1,0 ccm Hämoglobin c. und zeigt = 0
Meerschw. 6 = 0,5 ccm Hämoglobin ic. und zeigt = 0	Meerschw. 6 = 1,0 ccm Hämoglobin ic. und zeigt = 0
Meerschw. 7 = 1,0 ccm Hämoglobin ic. und zeigt = 0	Meerschw. 7 = 2,0 ccm Hämoglobin, sofort † (ebenso auch ein mit derselben Menge behandeltes Kontrolltier)
Meerschw. 8 = 1,0 ccm Hämoglobin ic. und zeigt = 0	Meerschw. 8 = 1,0 ccm Hämoglobin und zeigt = 0

1) Passive Anaphylaxieversuche unter gleichzeitiger Applikation von Hämoglobin und hämolytischem Serum entsprechend dem Vorgehen Friedemanns (diese Zeitschrift, Bd. 2, Heft 5) haben wir nicht an- gestellt.

Nach 24 Stunden erhalten von:

Serie a.	Serie b.
Meerschw. 6 = 1,0 ccm Ser. ic. = sehr schwere Symptome, † nach 3 Min.	
Meerschw. 7 = 0,5 ccm Ser. ic. = sehr schwere Symptome, † nach 3 Min.	
Meerschw. 8 = 0,1 ccm Ser. ic. = sehr schwere Symptome	

VI. Versuche mit Sekreten und Exkreten.

Zu diesen Versuchen hatten wir zunächst zwei Sekrete herangezogen, bei denen durch chemische Reaktion bzw. durch Präzipitation Eiweiß nachzuweisen war. Im ersteren Fall handelte es sich um eiweißhaltigen menschlichen Urin, im zweiten um Magensaft eines Carcinomkranken, welcher bei Prüfung mit einem hochwertigen Menschenantiserum vom Kaninchen (Titer 1:20000) eine schwache, aber deutliche Reaktion gab.

Versuch 57.

3 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1 ccm Urin (Salpetersäurekochprobe = Eiweiß +) subkutan vorbehandelt.

Am 34. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1,0 ccm Menschenser. ic. = sehr schwere Sympt., † nach 3 Min.	
„ 2 = 1,0 „ „ „ = „ „ „ † „ 7 „	
„ 3 = 0,5 „ „ „ = „ „ „ „ erholt sich	

Versuch 58.

4 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1 ccm Magensaft eines Carcinomkranken subkutan vorbehandelt (Präzipitinreaktion = schwach +).

Am 37. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1,0 ccm Menschenser. ic. und zeigt = sehr schwere Symptome, † nach 3 Minuten	
„ 2 = 1,0 „ „ „ „ „ = sehr schwere Symptome, † nach 2 Minuten	
„ 3 = 1,0 „ Pferdeserum „ „ „ = 0	
„ 4 = 0,5 „ Rinderserum „ „ „ = 0	

Nach den eindeutig positiven Ergebnissen dieser beiden Versuche prüften wir auch mit normalem Urin und normalem Magensaft vorbehandelte Meerschweinchen mit der Ueberempfindlichkeitsreaktion, nachdem wir uns bezüglich des letzteren Falles noch überzeugt hatten, daß mit künstlich verdautem Pferdeserum vorbehandelte Meerschweinchen gegen natives Pferdeserum überempfindlich werden.

Versuch 59.

2 Meerschweinchen werden je mit 1,0 ccm verdauten Pferdeserums vorbehandelt. (Präzipitation mit Kaninchenserum, Titer 1:20000 = 0.)

Am 31. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 0,5 ccm Pferdeser. ic. und zeigt = sehr schwere Symptome,
 † nach 4 Minuten
 „ 2 = 0,2 „ „ „ „ „ = sehr schwere Symptome,
 † nach 6 Minuten

Erwähnt sei hier, daß auch mit Alkali-Pferdeserum, welches nach dem Vorgange von Schmidt (Kairo) hergestellt worden war, Meerschweinchen gegen Pferdeserum sensibilisiert werden konnten.

Versuch 60.

3 Meerschweinchen werden je mit 1,0 Alkali-Pferdeserum subkutan vorbehandelt. [Präzipitation mit gewöhnlichem Pferdeantiserum vom Kaninchen (Titer 1 : 20000) = 0, Biuretreaktion +.]

Nach 34 Tagen erhalten:

Meerschw. 1 = 1,0 ccm Pferdeser. ic. u. zeigt = sehr schwere Sympt., erholt sich
 „ 2 = 0,5 „ „ „ „ „ = „ „ „ „ „
 „ 3 = 1,0 „ Rinderser. „ „ „ = 0 „ „ „ „

Versuch 61.

4 Meerschweinchen werden 3mal je einen über den anderen Tag mit je 1,0 ccm normalen Magensaftes subkutan vorbehandelt.

Am 33. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1 ccm Menschenser. ic. u. zeigt = schwere deutliche Symptome
 „ 2 = 1 „ „ „ „ = „ „ „ „ „
 „ 3 = 1 „ „ „ „ = krank, keine deutl. Erschein.
 „ 4 = 1 „ „ „ „ = leichte Erscheinungen

Bemerkenswert ist, daß in diesem Falle bei den Tieren die anaphylaktischen Erscheinungen verhältnismäßig spät, erst nach 8—15 Minuten eintraten.

Versuch 62.

4 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1,0 ccm menschlichen Urins (nach chemischer Probe nicht eiweißhaltig) subkutan vorbehandelt.

Am 29. Tage erhalten:

Meerschw. 1 = 1,0 ccm Menschenser. ic. und zeigt = sehr schwere Symptome,
 erholt sich
 „ 2 = 3,0 „ menschl. Urins ic. „ „ = 0
 „ 3 = 1,0 „ Menschenser. „ „ = sehr schwere Symptome
 „ 4 = 1,0 „ Rinderserum „ „ = 0

Versuch 63.

3 Meerschweinchen werden 3mal mit je 1,0 ccm Eselusin (nach der chemischen Probe nicht eiweißhaltig) subkutan vorbehandelt.

Am 45. Tage erhält:

Meerschw. 1 = 1,0 ccm Eselusin ic. und zeigt = sehr schwere Symptome
 „ 2 = 0,5 „ „ „ „ = leichte, aber deutl. Ersch.
 „ 3 = 1,0 „ Menschenser. ic. u. zeigt = 0

Es reagierten sonach die mit Urin vorbehandelten Tiere in ausgesprochener Weise auf die Nachbehandlung mit dem entsprechenden Serum, während die Prüfung mit großer Urinmenge ohne jeden Einfluß blieb. Von Interesse erscheint diese Beobachtung auch deshalb, weil die Tiere nur auf die Prüfung mit dem entsprechenden Serum unter Anaphylaxiesymptomen reagierten, und es sonach mittelst der Anaphylaxiereaktion eventuell möglich wäre, die Urine der einzelnen Tierarten zu differenzieren. Ein Versuch, bei Meerschweinchen, welche mit Meerschweinchenurin vorbehandelt waren, durch intracardiale Injektion von Meerschweinchenserum Anaphylaxie auszulösen, hatte keinen Erfolg. Dagegen gelang es durch Vorbehandlung mit menschlichem Schweiß Tiere zu sensibilisieren.

Versuch 64.

4 Meerschweinchen werden 3mal je einen über den anderen Tag mit je 1,0 ccm menschlichen Schweißes subkutan vorbehandelt.

Am 37. Tage erhalten:

Meerschw. 1	= 1,0 ccm menschlichen Serums	und zeigt = leichte Symptome
" 2	= 1,0 " " " " "	= " "
" 3	= 1,0 " " " " "	= " "
" 4	= 1,0 " " " " "	= " "

Die Ergebnisse namentlich der letzten Versuche sind auch in forensischer Hinsicht von Bedeutung und mahnen jedenfalls zu großer Vorsicht bezüglich der Anwendung der Anaphylaxiereaktion für forensische Zwecke, da eine eventuelle Beschmutzung oder Durchtränkung von Stoffen oder Kleidungsstücken mit Urin oder Schweiß in vielen Fällen nie mit Sicherheit wird ausgeschlossen werden können. Es sei hier daran erinnert, daß Friedberger mit Schweiß auch mit der Komplementbindungsmethode positive Ausschläge erhielt und auch die forensische Bedeutung dieser Tatsache hervorhob. Wie die mit Urin und Schweiß angestellten Untersuchungen führte auch eine Versuchsreihe mit Galle zu positiven Ergebnissen.

Versuch 65.

3 Meerschweinchen werden mit je 1,0 ccm Schweinegalle subkutan vorbehandelt.

Am 35. Tage erhält:

Meerschw. 1	= 0,5 ccm Schweineser. ic. u.	zeigt = sehr schwere Erscheinungen,
		† nach 6 Minuten
" 2	= 0,5 " " " "	= sehr schwere Erscheinungen,
		† nach 5 Minuten
" 3	= 0,5 " Rinderser. " " "	= 0

Auch hier gelang sonach die Auslösung der Symptome nur bei Anwendung des entsprechenden Serums bei der Prüfungsinjektion.

Zu negativen Ergebnissen führten einige Versuche, bei denen wir Meerschweinchen mit Sputum sensibilisiert und mit Menschenserum geprüft hatten. Die Versuche sollen wiederholt werden.

Schließlich sei noch erwähnt, daß auch der Versuch, in alkoholischen Extrakten aus menschlichen Organen etwa noch vorhandene minimale Spuren von menschlichem Eiweiß mittelst der Anaphylaxiereaktion durch Prüfung der mit solchen Extrakten vorbehandelten Tiere mit menschlichen Serum nachzuweisen, mißlang. Es ist allerdings dabei zu bemerken, daß sowohl bei den mit Sputum wie bei den mit alkoholischen Extrakten sensibilisierten Meerschweinchen infolge der Vorbehandlung ziemlich ausgedehnte Nekrosen aufgetreten waren.

Anhang.

In Heft 3 (27) des III. Bandes dieser Zeitschrift hatten wir die Beobachtung mitgeteilt, daß es uns auch mit sehr hochwertigen Pferdeeiweiß präzipitierenden Antiseris vom Huhn nicht gelungen war, Meerschweinchen gegen Pferdeserum passiv anaphylaktisch zu machen, während dies mit den verschiedenartigsten von Kaninchen gewonnenen präzipitierenden Seris ohne weiteres möglich ist. Nachstehend seien die Protokolle zweier derartigen Versuche mitgeteilt.

Versuch 66.

Meerschweinchen 1—3 wurden je mit 2 ccm eines präzipitierenden Pferdeantiserums vom Huhn (Titer 1:10 000), Meerschweinchen 4 u. 5 mit je 1 ccm desselben Serums ip. vorbehandelt.

Nach 24 Stunden erhält:

Meerschweinchen	1 = 0,5	Pferdeserum	ic.	und zeigt	= 0
"	2 = 1,0	"	"	"	" = 0
"	3 = 1,0	"	"	"	" = 0
"	4 = 2,0	"	"	"	" = 0
"	5 = 3,0	"	"	"	" = 0

Versuch 67.

Meerschweinchen 1 u. 2 erhalten je 2 ccm eines präzipitierenden Pferdeantiserums vom Huhn (Titer 1:40 000) ip.

Nach 24 Stunden erhält:

Meerschweinchen 1	= 1,0	Pferdeserum ic. und zeigt	= 0
„ 2	= 2,0	„ „ „ „	= 0

Anschließend hatten wir die Vermutung ausgesprochen, daß unsere Beobachtung auf einen gewissen Zusammenhang mit dem Komplementbindungsphänomen hindeute, und daß anscheinend auch bezüglich der Anaphylaxie in dieser Hinsicht ähnliche Verhältnisse vorliegen, wie sie von Moreschi (28) bezüglich der Komplementbindung durch von Vögeln stammende Antisera mitgeteilt waren.

Die Annahme, daß ein gewisser Zusammenhang zwischen dem Komplementbindungsphänomen und der Anaphylaxie besteht, ist ursprünglich zuerst wohl von Nicolle (29), dann aber auch von einigen anderen Autoren vertreten worden.

Friedberger (30) hat ebenfalls bereits bei der Aufstellung seiner Theorie darauf hingewiesen, daß die Komplementbindung wahrscheinlich bei der Anaphylaxiereaktion eine Rolle spielt.

Wir waren zu dieser Anschauung gekommen und zur Anstellung von Versuchen, passiv bei Meerschweinchen Anaphylaxie mit präzipitierenden Seris vom Huhn zu erzeugen, mit dadurch veranlaßt worden, daß es uns in keiner Weise gelungen war, Hühner aktiv gegen Säugtier- oder Vogeleiweiß anaphylaktisch zu machen, wie aus folgenden Protokollen hervorgeht.

Versuch 68.

1 Huhn und 1 Hahn werden je mit 0,5 ccm Pferdeserum sk. vorbehandelt.

Nach 30 Tagen erhalten beide Tiere je 2,0 ccm Pferdeserum iv. und zeigen = 0.

Nach weiteren 35 Tagen erhält das Huhn 3,0 ccm Pferdeserum iv. und zeigt = 0, der Hahn 4,0 ccm Pferdeserum und zeigt = 0.

Versuch 69.

Huhn 1—4 werden je mit 0,5 ccm Pferdeserum sk. vorbehandelt.

Am 32. Tage erhalten sie jeweils 3,0 ccm Pferdeserum iv. und zeigen = 0.

Nach weiteren 30 Tagen erhalten Huhn 1 u. 2 = je 4,0 ccm Pferdeserum iv., Huhn 4 u. 5 = 5 ccm Pferdeserum iv. und zeigen = 0.

Nach weiteren 28 Tagen erhalten Huhn 1—3 = je 5,0 Pferdeserum iv. und zeigen = 0 (Huhn 4 interkurrent †).

Versuch 70.

Huhn 1—4 werden mit 0,5 Taubenserum sk. vorbehandelt.

Nach 34 Tagen erhalten:

Huhn 1 u. 2	= je 1,0	Taubenserum iv.	und zeigen	= 0
" 3	= "	2,0	" " zeigt	= 0
" 4	= "	3,0	" " "	= 0

Inzwischen ist von Friedberger (31) in der Tat auch durch quantitative Bestimmungen des Komplementgehaltes in einwandfreier Weise experimentell das regelmäßige Eintreten eines beträchtlichen Komplementschwundes bei der Anaphylaxiereaktion bei Meerschweinchen, besonders ausgesprochen, bei passiven Anaphylaxieversuchen, nachgewiesen und diese Beobachtung auch von anderer Seite, so von Doerr und Russ (32) bei Hunden, bestätigt worden.

Als weitere Stütze für diese Auffassung führt nun Friedberger (33) ferner die Beobachtung an, daß es ihm auch nicht gelungen war, mit einem von einem Säugetier stammenden präzipitierenden Serum passiv bei Vögeln Anaphylaxie gegen das entsprechende Serum zu erzeugen.

Wir können diese Angaben Friedbergers vollkommen bestätigen und geben nachstehend einige Versuchsprotokolle auszugsweise wieder.

Versuch 71.

1 Gans erhält 1,0 ccm präzipitierenden Pferdeantisera von Kaninchen (1:20000) iv.

Nach 24 Stunden wird das Tier mit 1,0 ccm Pferdeserum iv. nachbehandelt und zeigt = 0.

Versuch 72.

2 Gänse erhalten 2,0 ccm präzipitierenden Pferdeantisera von Kaninchen (1:20000) iv.

Nach 24 Stunden wird Gans 1 mit 2,0 ccm Pferdeserum iv. nachbehandelt und zeigt = 0.

Nach weiteren 24 Stunden wird Gans 2 mit 3,0 ccm Pferdeserum nachbehandelt und zeigt ebenfalls = 0.

Versuch 73.

2 Tauben erhalten 1,0 ccm präzipitierenden Pferdeantisera von Kaninchen (1:20000) iv.

Nach 24 Stunden wird Taube 1 mit 1,0 ccm Pferdeserum iv. nachbehandelt und zeigt = 0.

Nach weiteren 24 Stunden wird Taube 2 mit 2,0 ccm Pferdeserum nachbehandelt und zeigt ebenfalls = 0.

Meerschweinchen, welche mit 1,0 ccm desselben präzipitierenden Serums ip. vorbehandelt waren, wurden nach 24 Stunden durch die ic. Injektion von 0,05 Pferdeserum regelmäßig unter den schwersten Symptomen getötet.

Diese letzteren Beobachtungen können aber unseres Erachtens doch wohl nicht in dem von Friedberger gedachten Sinne verwertet werden. Sie weisen im Gegenteil viel eher darauf hin, daß bei den Vögeln bezüglich der Anaphylaxie, im Gegensatz zu der auch von uns ursprünglich gehegten Auffassung, die Verhältnisse anscheinend doch etwas anders liegen als sie von Moreschi bei dem Komplementablenkungsphänomen festgestellt worden sind.

Denn wie Moreschi fand, vermögen nur die von Vögeln stammenden präzipitierenden Sera überhaupt kein Komplement zu binden, während präzipitierende Säugetiersera auch Vogelkomplement zu fixieren imstande sind.

Bestände daher hier ein vollständiger Parallelismus zwischen den beiden biologischen Reaktionen entsprechend den von Moreschi bei seinen Versuchen erhobenen Befunden, so müßte eigentlich die Auslösung passiver Ueberempfindlichkeit bei Vögeln durch ein präzipitierendes Säugetierserum eher gelingen als die Erzeugung aktiver Anaphylaxie.

An und für sich beweist ja allerdings der Umstand, daß die Auslösung passiver Anaphylaxie bei Vögeln durch präzipitierende Säugetiersera nicht gelingt, in dieser Hinsicht noch nicht sehr viel. Einmal bestehen ja, wie schon aus den Untersuchungen von Moreschi hervorgeht, jedenfalls keine besonders engen Beziehungen zwischen präzipitierenden Säugetierseris und dem Vogelkomplement, und andererseits ist die Möglichkeit der Auslösung passiver Anaphylaxie mit präzipitierenden Seris jeweils auch mit von der Tierart abhängig. Sie gelingt, wie wir uns selbst überzeugen konnten und wie auch von Kraus (34) bereits berichtet ist, unter Umständen auch bei einem für aktive Anaphylaxie empfindlichen Säugetier, wie z. B. dem Kaninchen, nicht. Friedberger hat dagegen auch bei Kaninchen erfolgreiche passive Anaphylaxieversuche ausgeführt. Er nimmt an, daß es sich hier nur um einen quantitativen, durch die verschiedene Empfänglichkeit der beiden Tierspecies (Meerschweinchen und Kaninchen) bedingten Unterschied handelt. Wir haben, wie aus dem nachstehenden

Protokoll ersichtlich ist, auch bei Anwendung großer Serum-
mengen keinen Erfolg gehabt.

Versuch 74.

7 junge Kaninchen von ca. 1000 g werden mit präzipitierendem Pferde-
antiserum vom Kaninchen (Titer 1 : 20 000) vorbehandelt, und zwar erhalten

Kaninchen 1 und 2	je	2 ccm	ip.
"	3	5 "	iv.
"	4	5 "	ip.
"	5	5 "	sk.
"	6	7 "	iv.
"	7	10 "	iv.

Nach 48 Stunden erhalten

Kaninchen 1, 3 und 7	je	3 ccm	Pferdeserum	iv.	und	zeigen	=	0
" 2-5	" 4	"	"	"	"	"	"	= 0
" 4	" 6	"	"	"	"	"	"	= 0
" 6	" 8	"	"	"	"	"	"	= 0

Friedberger (33) war es nun aber weiterhin noch gelungen, auch aktive Anaphylaxie bei Vögeln (Taube, Ente, Huhn) zu erzeugen. Wir können diese Angaben Friedbergers, soweit sie sich auf Taube und Ente beziehen, ebenfalls bestätigen. Auch wir konnten bei Tauben bei aktiven Anaphylaxieversuchen regelmäßig das von diesem Autor ausführlich beschriebene typische anaphylaktische Krankheitsbild hervorrufen. Dagegen haben wir bis heute bei Hühnern noch in keinem Falle typische Anaphylaxieerscheinungen auftreten sehen. Wohl aber lassen sich auch Enten aktiv anaphylaktisch machen. Das Krankheitsbild ist bei dieser Tierart etwas anders als bei der Taube, aber die Erscheinungen sind ganz charakteristisch und erinnern in gewisser Beziehung, da ein offenbar überaus starker Juckreiz im Vordergrund steht, etwas an die bei den Meerschweinchen auftretenden Symptome.

Das geeignetste Versuchstier zu Anaphylaxieversuchen unter den Vögeln ist nach unseren bisherigen Beobachtungen jedoch die Gans. Auch hier ist der Juckreiz das hervorstechendste Symptom des überaus charakteristischen Krankheitsbildes. Die Tiere machen, indem sie rasch wechselnd nur auf dem linken oder nur auf dem rechten Beine zu stehen versuchen, mit dem freien Fuß heftige krampfartige Kratzbewegungen am Kopfe und Schnabel. Häufig setzen sie sich und suchen sich mit beiden Füßen am Kopfe zu kratzen. Auch mit dem Schnabel und selbst dem ganzen Hals suchen sie

sich am Rücken und am übrigen Körper wegen des heftigen Juckens zu schupfern und zu kratzen. In manchen Fällen tritt schwere Atemnot auf, die Tiere atmen beschleunigt und mühsam mit weitgeöffnetem Schnabel. Im allgemeinen gehen die Erscheinungen verhältnismäßig schnell vorüber, nur ein Tier haben wir bisher unter solchen Erscheinungen zugrunde gehen sehen. Diese Beobachtung, daß Vögel aktiv anaphylaktisch werden, weisen ebenso, wie die zuletzt von Friedberger noch mitgeteilte Tatsache, wonach er bei einer Taube mit präzipitierendem Antihammelserum von der Ente auch passive Anaphylaxie auslösen konnte, darauf hin, daß die Vorgänge bei der Anaphylaxie anscheinend den von Moreschi bezüglich des Komplementbindungsphänomens festgestellten Verhältnissen nicht vollständig parallel gehen und ihnen jedenfalls nicht völlig entsprechen. Dies schließt natürlich aber keineswegs aus, daß doch auch bei der Anaphylaxiereaktion der Vögel die Fixierung des Komplements eine Rolle spielt. Mit Untersuchungen über diese Frage auch im Vergleich zu den Komplementbindungsversuchen im Reagenzglase nach Moreschi sind wir zurzeit noch beschäftigt.

Zusammenfassung.

1) Die Differenzierung verwandter Blutarten ist weder mittelst aktiver noch passiver Anaphylaxie möglich.

Mit einem präzipitierenden Hasenantiserum vom Kaninchen (Titer 1 : 20 000) bei passiven Anaphylaxieversuchen vorbehandelte Meerschweinchen erweisen sich nur gegen Haseneiweiß, nicht gegen Kanincheneiweiß überempfindlich.

Meerschweinchen, welche wie zu passiven Anaphylaxieversuchen mit einem hochwertigen (1 : 20 000) Meerschweincheneiweiß präzipitierenden Antiserum vom Kaninchen vorbehandelt wurden, erkrankten sowohl auf die erste Einspritzung des präzipitierenden Serums wie auch auf die nach 24 Stunden erfolgte intracardiale Injektion von normalem Meerschweinchenserum unter anaphylaxieartigen Symptomen. Ein Tier erkrankte auf die Prüfung mit dem eigenen Serum.

2) In allen Fällen, in denen die Präzipitationsmethode zur Eiweißidentifizierung oder -differenzierung anwendbar ist, kann die Anaphylaxiereaktion wie die Komplementbindungs-

methode nur als weitere Ergänzung des Präzipitationsverfahrens herangezogen werden. Das Ergebnis der Präzipitation ist allein als ausschlaggebend anzusehen.

3) Die Anaphylaxiereaktion kann jedoch auch bei solchen Untersuchungen eventuell verwertet werden und Ausschläge geben, bei denen bisher die Präzipitation und die Komplementbindung entweder technisch nicht ausführbar waren oder infolge Denaturierung, bezw. zu weit fortgeschrittenen Abbaues der reaktionsfähigen Eiweißsubstanzen oder wegen zu geringer Mengen derselben versagten.

4) So kann die Reaktion noch Ausschläge geben bei der Untersuchung von gekochten Fleischwaren, von Oelen, Fetten, Futtermitteln, Nährpräparaten sowie Se- und Exkreten.

Besonders interessant ist es, daß es gelang, mehrtausendjährige Mumien ihrer Herkunft nach zu bestimmen, was bekanntlich, wie frühere Arbeiten beweisen, mit Hilfe der Präzipitation oder Komplementablenkung nicht möglich war.

5) Auch gegen Insekteneiweiß werden Meerschweinchen anaphylaktisch.

6) Die Prüfung der sensibilisierten Tiere wird in allen diesen Fällen zweckmäßig beträchtlich später als bei Anaphylaxieversuchen mit nativem Eiweiß vorgenommen.

7) Zur Gewinnung verwertbarer Ausschläge ist außerdem bei allen derartigen Versuchen die plötzliche Ueberschwemmung des vorbehandelten Organismus mit möglichst großen Mengen des nativen Eiweißes erforderlich.

8) Trotzdem tritt in diesen Fällen die verschiedene individuelle Empfindlichkeit der einzelnen Tiere gegenüber der Reaktion weit auffallender und ausgesprochener hervor als bei Anaphylaxieversuchen mit nativem Eiweiß. Selbst auf die Anwendung einer Eiweißmenge, welche der schon bei normalen Tieren Krankheitserscheinungen auslösenden Dosis nahekommt, können einzelne der vorbehandelten Tiere nur mit ganz leichten Symptomen reagieren oder selbst ganz ausfallen, während andere unter den schwersten Erscheinungen zugrunde gehen.

9) Die Schwere und Deutlichkeit der anaphylaktischen Krankheitssymptome ist nicht allein abhängig von der Art des zur Vorbehandlung benutzten Eiweißmaterials und der

Größe der bei der Prüfung eingespritzten Eiweißmenge sowie der Schnelligkeit ihrer Resorption, sondern auch die jeweilige Beschaffenheit des zur Prüfung verwandten nativen Eiweißes (Serums) ist anscheinend von Einfluß auf einen stärkeren oder schwächeren Verlauf der Reaktion.

10) In einzelnen Fällen können die anaphylaktischen Erscheinungen auch trotz intracardialer Applikation einer verhältnismäßig großen Eiweißmenge erst relativ spät auftreten.

11) Im allgemeinen wird aber die Anaphylaxiereaktion im Hinblick auf das bei derartigen Versuchen besonders scharfe Hervortreten der verschiedenen, individuellen Empfindlichkeit der einzelnen Tiere und die nach den Ergebnissen der Versuche mit gekochtem Fleisch und zur Organeißdifferenzierung bestehende Möglichkeit eines eventuellen Uebergreifens der Reaktion bei Anwendung großer Eiweißdosen für praktische Zwecke und namentlich auch in forensischer Hinsicht nur mit größter Vorsicht herangezogen werden dürfen.

12) Bei den Organeißdifferenzierungsversuchen konnte mittelst der Reaktion nur bezüglich des Linseneißes eine strenge Organspezifität festgestellt werden.

Es gelang sogar, Meerschweinchen mit der Linse ihres einen Auges zu sensibilisieren und durch Nachbehandlung mit dem Linseneiß des anderen Auges bei den Tieren dann anaphylaktische Symptome auszulösen.

Alle übrigen zu den Versuchen herangezogenen verschiedenen Organeißkörper reagierten auch mit einzelnen oder selbst mehreren anderen Organeißes desselben Organismus.

Das Ueberstehen des anaphylaktischen Shocks nach Prüfung mit einem Organeißkörper machte die Tiere dabei nicht antianaphylaktisch gegenüber einer zweiten Nachbehandlung nach 24 oder 48 Stunden mit einem anderen reaktionsfähigen Organeiß. Ob die Anaphylaxie der verschiedenen Eiweißkörper in diesen Fällen unabhängig nebeneinander bestand oder ob jeweils ein einfaches Uebergreifen der Reaktion vorlag, ließ sich nicht eindeutig entscheiden.

13) Mit roher Kuhmilch vorbehandelte Meerschweinchen reagieren auch auf die Prüfung mit gekochter Milch und mit Rindereserum und ebenso mit Serum sensibilisierte Tiere auch auf die Nachbehandlung mit frischer, nicht aber auf gekochte

Milch. Entsprechend reagieren mit gekochter Milch vorge-spritzte Meerschweinchen nicht auf die Prüfung mit Rinder-serum.

14) Passiv gegen Rinderserum anaphylaktisch gemachte Meerschweinchen verhalten sich bei Prüfung mit gekochter Milch vollkommen, gegen frische Milch im allgemeinen refraktär.

15) Mit Serum oder Hämoglobin verschiedener Tierarten vorbehandelte Meerschweinchen erwiesen sich jeweils gegen beide Eiweißarten anaphylaktisch.

16) Mit Hühnerserum vorbehandelte Tiere reagierten außer auf Hühnerserum und Hämoglobin auch auf die Prüfung mit Eiweiß oder Dotter. Die mit Eiweiß und Dotter sensi-bilisierten Tiere erwiesen sich sowohl gegenüber diesen beiden Eiweißarten wie auch gegen Serum, dagegen nicht gegen Hämoglobin anaphylaktisch. Entsprechend zeigten die mit Hämoglobin vorbehandelten Tiere nur bei der Prüfung mit Serum oder Hämoglobin deutliche Erscheinungen, aber keine bei Nachbehandlung mit Dotter oder Eiweiß. Nach Vor-behandlung mit Stromataeiweiß hatte nur die Prüfung mit Serum und Dotter deutlichen Erfolg.

17) Es gelingt sowohl durch Vorbehandlung mit Magen-saft, wie mit Urin, Schweiß oder Galle, Meerschweinchen gegen das entsprechende Serum anaphylaktisch zu machen.

Es ist interessant, daß man so eventuell Urin verschiedener Tiere unterscheiden kann, was auf andere Weise mit Sicher-heit kaum gelingen dürfte.

18) Mit von Vögeln (Huhn) stammenden präzipitierenden Antiseris läßt sich bei Meerschweinchen keine passive Ana-phyllaxie erzeugen.

19) Von den Vögeln ist neben Taube und Ente (Fried-berger) namentlich die Gans für Anaphylaxieversuche ge-eignet. Dagegen gelang es uns im Gegensatz zu Fried-berger nicht, Hühner aktiv oder passiv anaphylaktisch zu machen.

Literatur.

- 1) Uhlenhuth, Deutsche militärärztliche Zeitschr., 1909, No. 2, und Zeitschr. f. Immunitätsf. usw., Bd. 1, 1909, Heft 6.
- 2) Pfeiffer, H., Wien. klin. Wochenschr., 1909.
- 3) Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsf. usw., Bd. 1, 1909, Heft 6.
Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. IV.

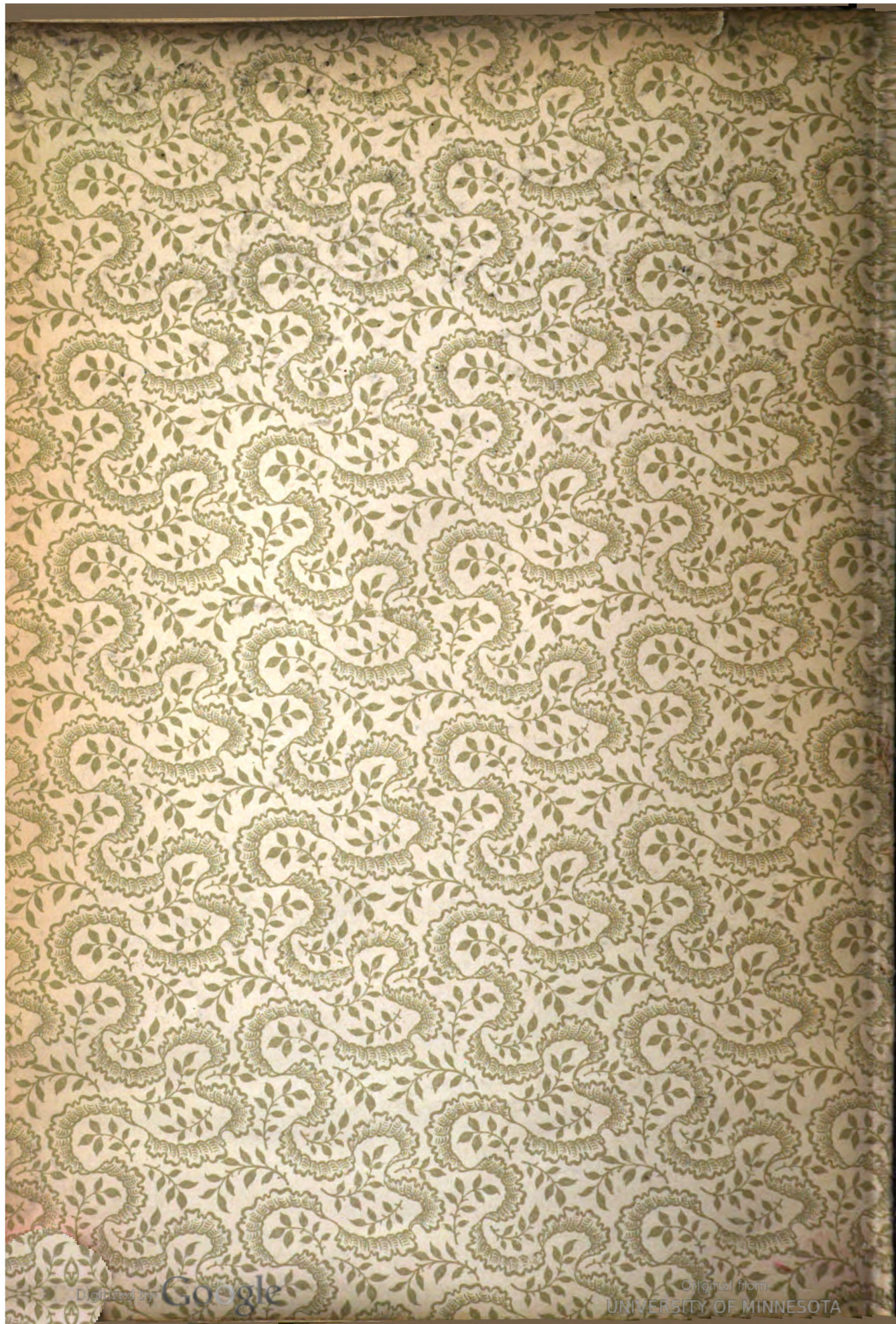
816 Uhlenhuth und Haendel, Verwertbarkeit der Anaphylaxie.

- 4) Sleswijk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, Heft 1.
- 5) Pfeiffer und Finsterer, Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 28.
- 6) Kraus, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.
- 7) Ranzi, Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 40.
- 8) Pfeiffer, ebenda, und Zeitschr. f. Immunitätsforschung usw., Bd. 4, 1909, Heft 4.
- 9) Uhlenhuth, Verhandl. der 77. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte, Meran 1905.
- 10) Doerr und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf. usw., 1909.
- 11) Uhlenhuth und Weidanz, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 30, 1909, Heft 2.
- 12) Trommsdorff, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 32, 1909.
- 13) Rosenau und Anderson, Bull. Hyg. Lab. Washington, 1906, ebenda 1907, und Journ. of infect. Diseases, Vol. 5, Heft 1.
- 14) Besredka, Ann. de l'Institut Pasteur, 1908.
- 15) Kraus und Volk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909.
- 16) Pick und Yamanouchi, ebenda.
- 17) Schmidt, W. A., Biochem. Zeitschr., Bd. 14, Heft 3 u. 4.
- 18) Uhlenhuth, Deutsche medicin. Wochenschr., 1905, No. 6.
- 19) Schmidt, W. A., Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. 7, 1907.
- 20) Ranzi, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909.
- 21) Andrejew, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 30, 1909.
- 22) Kraus, Doerr und Sohma, Wien. klin. Wochenschr., 1908.
- 23) Schlossmann und Moro, Münch. med. Wochenschr., 1903.
- 24) Meyer und Aschoff, Ueber die Rezeptoren der Milcheiweißkörper. Berlin. klin. Wochenschr., 1907.
- 25) Uhlenhuth, Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch.
- 26) Klein, Wien. klin. Wochenschr., 1903 und 1905.
- 27) Uhlenhuth und Haendel, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, Heft 3.
- 28) Moreschi, Centralbl. f. Bakt., Referate, Bd. 38.
- 29) Nicolle et Abt, Annal. de l'Institut Pasteur, 1908.
- 30) Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, Heft 2.
- 31) Friedberger und Hartoch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, Heft 6.
- 32) Doerr und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, Heft 7.
- 33) Friedberger, Berlin. klin. Wochenschr., 1909, No. 36, und Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, Heft 7.
- 34) Kraus und Novotny, ebenda, Bd. 3, 1909, Heft 7.

Druckfehlerberichtigung.

Auf p. 673 Zeile 3 muß es heißen statt pro 100 kg Tier . . . „pro kg Tier“.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3646





Digitized by

Google

Original from

UNIVERSITY OF MINNESOTA

UNIVERSITY OF MINNESOTA
biom.per bd.4:originale
stack no.160

Zeitschrift f ur Immunit atsforschung un



3 1951 002 688 015 Q