XVI.

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg.

Studien zur unspezifischen Reiztherapie.

2. Mitteilung: Über die experimentelle Steigerung der Anthrakozidie im Blute.

Von

E. G. Dresel und H. Freund.

Wie in der vorausgehenden Mitteilung von Freund gezeigt werden konnte, lassen sich als Folge der unspezifischen Reiztherapie bei Kaninchen physiologisch wirksame Substanzen im strömenden Blute nachweisen, die denen gleichen, welche in jedem — auch normalem — Blute bei der Gerinnung entstehen. Neben der Wirksamkeit an einigen pharmakologischen Testobjekten, die erst durch den Zerfall der Blutplättchen bei der Gerinnung auftritt, ist für das Kaninchenblut noch eine andere Eigenschaft bekannt, die es anscheinend ausschließlich beim Zerfall der Blutplättchen erlangt. Es handelt sich dabei um das Auftreten eines chemischen Stoffes, der ganz spezifisch wirksam gegen Milzbrandbazillen ist, ohne jedoch mit Immunkörpern im Sinne der Ehrlichschen Theorie etwas zu tun zu haben. Wir verdanken die Entdeckung und Untersuchung dieser eigenartigen Erscheinung Gruber und seinen Mitarbeitern (1). Ihre Ergebnisse lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Das lebende Blut des normalen Kaninchen ist vollkommen frei von gelösten milzbrandfeindlichen Stoffen; desgleichen das von Mensch, Hammel und Ziege.

2. Die milzbrandfeindlichen Stoffe des Kaninchenserums werden von den Blutplättchen geliefert, sie sind verschieden vom thermolabilen Alexin. Dieses Plakanthrakozidin oder Plakin ist ein Antigen, und thermostabil.

3. Plättchenfreies Plasma des Kaninchen soll normalerweise keine Plakine enthalten.

4. Normale Plättchen für sich allein sind unwirksam, doch da ein gewisser Plättchenzerfall bei der Gewinnung nicht verhütet werden kann, wird das Milzbrandwachstum etwas gehemmt.

5. Die Blutplättchen von Kaninchen, Ratte und Pferd enthalten bakterizide Stoffe gegen den Milzbrandbazillus, die in Blutplättchen vom Ochsen, Hammel, Schwein, Hund und Mensch fehlen.

6. Die Anwesenheit von Plakinen in den Blutplättchen einer Tierart geht der natürlichen Immunität derselben gegen Milzbrand nicht parallel.

Für die Untersuchung der unmittelbaren Folgen der unspezifischen Reiztherapie erschienen diese Erfahrungen sehr bedeutsam. Damit war anscheinend eine Methode gegeben, die einen sicheren Beweis für eine früher von Freund (2) geäußerte Hypothese erwarten ließ, nach der diese Art der Therapie auf dem Umwege über die als die labilsten Zellen des Organismus bekannten Blutplättchen wirkt. Der Anwendungsbereich der Methode war allerdings eingeschränkt, denn nur gewisse Tierarten, so z. B. Kaninchen, enthalten in ihren Blutplättchen die Anthrakoplakine, während den menschlichen Blutplättchen milzbrandfeindliche Stoffe fehlen sollen. Aber wenn der Plättchenzerfall als Folge der unspezifischen Reiztherapie für eine Tierart bewiesen werden könnte, so wäre der Analogieschluß auf den gleichen Wirkungsmechanismus auch bei andern Arten wohl erlaubt. Diesem Zwecke sollen die folgenden Versuche dienen. Sie stützen sich auf die Möglichkeit durch quantitative Messung der milzbrandfeindlichen Stoffe, teils — nach Gruber — im Zitratplasma, teils — nach der vorausgehenden Mitteilung von Freund — in den Frischblutextrakten, Schlüsse auf das Vorkommen der Plakine im Blute des lebenden Tieres zu ziehen und ihre quantitativen Veränderungen nachzuweisen.

Versuchsanordnung.

Aus der Arteria carotis der Kaninchen wurden etwa 20 ccm Blut durch ein eingebundenes vorher in Natr. citr. ausgekochtes Glasröhrchen in 3% Natr. citr. (1 Teil auf 9 Teile Blut) aufgefangen und scharf $^3/_4$ Stunden lang zentrifugiert. In einem zweiten Zentrifugenröhrchen wurde Blut aufgefangen und nach Stehenlassen das Serum durch Zentrifugieren gewonnen.

Auf je 4 Spitzgläschen wurde Plasma und Serum in Mengen zu je 0,1, 0,3 und 0,5 verteilt, die beiden ersten auf 0,5 mit Bouillon

aufgefüllt. Von einer 24stündigen sporenfreien sehr gut durchgeschüttelten Milzbrandbouillonkultur wurde eine Verdünnung 1 : 1000 hergestellt und davon jedem Röhrchen ein Tropfen zugesetzt. Die erste Reihe wurde durch Ausgießen sofort zu Agarplatten verarbeitet, die zweite Reihe nach 1stündigem, die dritte nach 4stündigem, die vierte nach 6stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37°. Als Kontrolle wurden zu jedem Versuch je vier Röhrchen, enthaltend 0,5 Bouillon und 1 Tropfen der Milzbrandverdünnung, verwandt.

Anfangs wurden zum Zentrifugieren paraffinierte Gläschen, später Quarzgläschen benutzt.

Von jedem Kaninchen wurde zuerst zur Kontrolle mit Serum und Plasma ein Normalversuch gemacht. Die Ergebnisse waren anfangs nicht so gut, wie nach den Mitteilungen aus der Literatur erwartet werden mußte. Diese atypischen Fälle und die Ursache ihrer Entstehung werden weiter unten mitgeteilt.

Als sich durch Vorversuche herausgestellt hatte, daß Frischblutextrakt von vorbehandelten Tieren Anthrakozidine enthielt, während sie bei unbehandelten Kaninchen fehlten, wurde von Tier 13 an gleichzeitig mit dem Plasma und Serumnormalversuch und bei den Versuchen nach Vorbehandlung der Tiere Frischblutextrakt gewonnen. Außerdem wurde nach dem gleichen Verfahren Serumalkoholextrakt gewonnen.

Die Wirkung der Plakine im Frischblutextrakt und im Serumalkoholextrakt war jedoch stets etwas schwächer als im Plasma und Serum; eine Erscheinung, die ihre Erklärung zwanglos in der Schwierigkeit einer quantitativen Dosierung findet, da beim Ausfällen und Filtrieren anthrakozide Stoffe verloren gehen. Beim Frischblutextrakt ist zu berücksichtigen, daß die Blutmenge etwa nur zu $^3/_4$ Plasma enthält.

Als dieser Parallelvorgang der Bildung anthrakocider Stoffe im Frischblutextrakt nach Vorbehandlung mit dem im Plasma sichergestellt war, wurde in den Versuchen von Tier 18 an die umständliche Plasmagewinnung fortgelassen; das jedesmal gewonnene Serum wurde dem gleichen Alkoholextraktverfahren in einer Reihe von Versuchen unterworfen.

Um die Wiedergabe der Versuchsprotokolle nicht zu umfangreich zu gestalten, werden nur die Ergebnisse mit 0,5 Plasma, Serum, Frischblutextrakt und alkoholischem Serumextrakt zum Abdruck gebracht. Die Versuche mit 0,1 und 0,3 Plasma und Serum hatten stets das gleiche nur verhältnismäßig schwächere Ergebnis.

I. Versuche mit Proteinkörpern und Reiztherapie.

1. Versuche mit Caseosan.

Kaninchen 6.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.[1]	368	89	129	∞
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	710	726	2520	∞
Das Tier erhält nach der Blutentnahme 1 ccm Caseosan intravenös, am nächsten Tage wieder 1 ccm und am dritten Tage 2 ccm. 4 Stunden nach der letzten Caseosandosis Blutentnahme.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	158	8	13	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	4	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	490	460	1580	∞

Tier 15.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	642	170	25	50
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	12	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	690	680	1120	∞
0,5 Frischblutextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	1120	1040	230	∞
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	1500	1480	∞	∞
Das Tier erhält an 3 Tagen hintereinander je 1,0 ccm Caseosan intravenös. Zweite Blutentnahme 4 Stunden nach der letzten Caseosangabe.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	580	16	0	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	6	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	2180	2160	∞	∞
0,5 Frischblutextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	168	3	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	833	850	1246	∞

1) M.B.K. soll immer Milzbrandbouillonkultur bedeuten.

Tier 14.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	171	129	80	600
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	1	1	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	167	180	1130	∞
0,5 Frischblutextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	133	—	128	∞
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	146	—	760	∞
Das Tier erhält an 3 Tagen hintereinander je 0,5 ccm Caseosan intravenös. Zweite Blutentnahme 4 Stunden nach der letzten Caseosangabe.				
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	364	258	217	85
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	600	620	2640	∞

Ergebnis: Nach Caseosangaben steigen die Anthrakozidine im Plasma und Frischblutextrakt stark.

2. Versuche mit Typhusimpfstoff.

Kaninchen 17.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	500	340	1220	∞
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	540	740	1300	∞
Das Tier erhält 24 Stunden später 0,1 ccm polyvalenten Typhusimpfstoff Op. 59 vom 17. II. 1921 Hyg. Inst. Heidelberg intravenös. Am nächsten und übernächsten Tage die gleiche Gabe.				
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	202	130	230	760
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	300	350	3972	∞

Kaninchen 18.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Serum + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	64	0	0	0
0,5 Frischblutextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	448	300	290	1400
0,5 Serumalkoholextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	386	257	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	580	500	∞	∞
Danach an 3 Tagen je 0,1 Typhusimpfstoff intravenös.				

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	618	254	0	0
0,5 Serumalkoholextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	696	68	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	650	640	∞	∞

Ergebnis: Eine dreimalige Gabe von je 0,1 Typhusimpfstoff steigert die Anthrakozidine im Frischblutextrakt erheblich.

3. Versuche mit Aderlässen.

Kaninchen 16.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	515	124	18	19
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	1	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	600	738	1000	2760
0,5 Frischblutextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	600	420	300	410
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	834	920	1544	∞
Nach 2 Tagen 50 ccm Aderlaß. Am dritten Tage 40 ccm Blutentnahme zur Untersuchung.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	1400	2	0	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	3	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	5000	∞	∞	∞
0,5 Frischblutextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	151	2	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	335	300	540	1500
Nach weiteren 2 Tagen vierte Blutentnahme etwa 45 ccm.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	290	0	0	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	1	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	1050	1230	2220	∞

Kaninchen 3.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch etwa 25 ccm Blutentnahme.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	700	690	400	∞
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	940	970	1400	∞
Am nächsten und übernächsten Tage je ein Aderlaß von 30 ccm. Das letzte Blut wurde untersucht.				

		Keimzahl			
		sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Plasma	+ 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	456	21	0	0
0,3 Serum + 0,2 Bouillon	+ 1 » $^1/_{10/0}$ »	158	0	0	0
0,5 Bouillon	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	820	900	1500	∞
4 Wochen später vierte Blutentnahme etwa 25 ccm.					
0,5 Plasma	+ 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	1	1	0	0
0,5 Serum	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	1120	1020	3400	∞

Ergebnis: Wiederholte Aderlässe steigern die Anthrakozidine sehr stark. Die Wirkung ist nach 4 Wochen unverändert.

4. Versuche mit Röntgenbestrahlung[1]).

Kaninchen 20.

		Keimzahl			
		sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.					
0,5 Frischblutextrakt	+ 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	250	125	80	90
0,5 Serum	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	280	220	—	∞
Das Tier wurde 10 Minuten der Röntgenbestrahlung ausgesetzt (6 x).					
$^1/_4$ Stunde später wurde Blut zur Untersuchung entnommen.					
0,5 Frischblutextrakt	+ 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	342	230	1650	∞
0,5 Serum	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Serumextrakt	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	310	40	10	1
0,5 Bouillon	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	340	400	3500	∞
Nach 8 Tagen wurde zum drittenmal Blut entnommen.					
0,5 Frischblutextrakt	+ 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	520	366	42	1000
0,5 Serum	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	700	600	660	∞

Kaninchen 21.

		Keimzahl			
		sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.					
0,5 Frischblutextrakt	+ 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	500	400	360	800
0,5 Serum	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon	+ 1 » $^1/_{1000}$ »	480	550	580	∞
Das Tier wurde 10 Minuten der Röntgenbestrahlung ausgesetzt (6 x).					
$1^1/_2$ Stunde später wurde Blut zur Untersuchung entnommen.					

1) Herr Privatdozent Dr. Holthusen hatte die Freundlichkeit, die Bestrahlungen in der Röntgenabteilung der medizinischen Klinik vorzunehmen.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 6 Stunden	nach 8 Stunden
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	380	190	—	1800
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Serumextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	28	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	450	490	700	∞

Nach 8 Tagen wurde zum drittenmal Blut entnommen.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	420	270	60	230
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	700	600	660	∞

Ergebnis: Nach Röntgenbestrahlung mit kleinen Dosen zeigt sich in den beiden ersten Stunden keine Steigerung der Anthrakozidie, wohl aber ist sie nach 8 Tagen etwas gesteigert.

Kaninchen 3.

Dieses Tier hatte nach 3 Aderlässen 4 Wochen Ruhe gehabt. In der Annahme, daß das Tier sich vollständig wieder erholt hätte, wurde eine vierte Blutentnahme gemacht, die als Normalversuch dienen sollte. Wie unter 4. Aderlässe berichtet ist, zeigte sich wider Erwarten eine sehr starke Anthrakozidie. Trotzdem wurde das Tier $1^1/_2$ Stunden einer Röntgenbestrahlung auf den Bauch (55 x) ausgesetzt. 22 Stunden später wurde Blut zum Versuch entnommen.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	230	100	900	∞
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	40	0	7	50
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	450	450	∞	∞

Nach 5 Tagen wurde das Tier, das seit der Bestrahlung schlecht fraß und dauernd Durchfälle hatte, durch Ausbluten getötet.

0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	230	110	100	∞
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	70	2	41	∞
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	260	220	670	∞

Ergebnis: Ein Kaninchen mit sehr hohem Gehalt an Anthrakozidinen im Blut verlor diesen nach einer Röntgenbestrahlung mit sehr großer Dosis fast vollständig, ein einmaliger Aderlaß vermochte nicht mehr eine Ver-

mehrung der Anthrakozidine herbeizuführen. Auch eine Spätwirkung der Röntgenbestrahlung wie bei Tier 20 und 21 trat nicht auf. Auch im Serum ging die Anthrakozidie zurück.

Die Obduktion ergab mehrere alte, einzelne frische Blutungen im Darm, die Milz war sehr dünn und klein; sonst kein pathologischer Befund.

Kaninchen 9.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	170	40	20	2090
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	12	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	210	200	300	∞
Nach 48 Stunden wurde das Tier $1^1/_2$ Stunden lang der Röntgenbestrahlung (55 x) ausgesetzt. Sofort danach wurde Blut zum Versuch entnommen.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	730	1470	1440	∞
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	90	160	1	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	1250	1310	∞	∞

Ergebnis: Eine Steigerung der Anthrakozidine im Blut wird durch eine sehr große Röntgenbestrahlung nicht ausgelöst. Wegen der großen Keimzahlunterschiede in den Bouillonkontrollen sind die Ergebnisse schwer vergleichbar.

Kaninchen 19.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Normalversuch.				
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	540	340	50	170
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Serumalkoholextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	210	50	0	2
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	700	550	∞	∞
Das Kaninchen wurde einer $^1/_2$stündigen Röntgenbestrahlung (18 x) ausgesetzt, das Blut sofort danach entnommen.				
0,5 Frischblutextrakt + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	205	140	40	17
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	18	14	3	1
0,5 Serumalkoholextrakt + 1 » $^1/_{1000}$ »	220	60	5	4
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	330	300	1440	∞

Ergebnis: Eine mittlere Dosis Röntgenbestrahlung verändert den Gehalt an Anthrakozidinen im Frischblutextrakt nicht wesentlich. Im Serum hat die anthrakozide Kraft etwas abgenommen.

II. Besondere Versuche.

Kaninchen 5.

Dem Tier waren an beiden Oberschenkeln mit Milchsäure je 5 markstückgroße Verätzungen gesetzt. Am Tage darauf wurde Blut zur Untersuchung entnommen.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	920	40	2	1
0,3 Serum + 0,2 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	495	40	1	∞
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	1450	1850	2300	∞
An zwei aufeinanderfolgenden Tagen erhielt das Tier je 1,0 ccm Caseosan intravenös. 4 Stunden nach der zweiten Injektion wurde Blut zur Untersuchung entnommen.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	275	10	115	160
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	60	1	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	1490	1475	∞	∞

Ergebnis: Eine kräftige Hautverätzung löst beim Kaninchen das Entstehen von starker Anthrakozidie aus. Eine folgende zweimalige Caseosangabe von je 1,0 ccm vermag die Anthrakozidie nicht weiter zu steigern, schwächt sie eher ab.

Kaninchen 7.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Dem Tier wurde zum Normalversuch Blut entnommen.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	21	0	1	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	7	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	980	1020	∞	∞
An zwei aufeinanderfolgenden Tagen erhielt das Tier je 1,0 ccm Caseosan intravenös. 4 Stunden nach der zweiten Injektion wurde Blut zur Untersuchung entnommen.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	403	4	3	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	2	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	950	1020	∞	∞

Ergebnis: Eine zweimalige Caseosangabe von je 1,0 ccm vermag eine vorhandene starke Anthrakozidie nicht zu beeinflussen. Das Tier starb 3 Tage später. Die Obduktion ergab ausgebreitete Coccidiose, sonst keinen pathologischen Befund. Zur Erklärung für das Vorhandensein der starken Anthrakozidie im Blute des Tieres ohne Vorbehandlung muß die Coccidiose herangezogen werden.

Kaninchen 8.

Dem Tier wurde zum Normalversuch Blut entnommen, das unerwartet starke Anthrakozidine enthielt.

	Keimzahl			
	sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	6	2	0	0
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	0	0	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	250	370	630	∞
An drei aufeinanderfolgenden Tagen erhielt das Tier je 1,0 ccm Typhusimpfstoff.				
4 Stunden nach der dritten Injektion wurde Blut zum Versuch entnommen.				
0,5 Plasma + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	260	20	80	∞
0,5 Serum + 1 » $^1/_{1000}$ »	300	3	0	0
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	370	420	620	∞

Ergebnis: Das Vorhandensein der starken Anthrakozidie im zum Normalversuch entnommenen Blut fand seine Erklärung in bestehender Trächtigkeit, denn 14 Tage später warf das Kaninchen 5 Junge. Bei einem Kaninchen mit großen Mengen anthrakozider Stoffe im Blut vermindert eine dreimalige Injektion von je 1,0 Typhusimpfstoff die anthrakozide Kraft.

III. Versuche mit Menschenserum.

a) Normales Serum.

Versuch Nr.		Keimzahl sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
1.	Serum 532/4 0,5 + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	900	850	∞	∞
	Bouillon 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	700	750	∞	∞
2.	Serum 0,5 (neg. W. R.) + 1 » $^1/_{1000}$ »	440	350	840	∞
	Bouillon 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	408	390	500	∞
3.	H. Kr. Serum 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	310	320	∞	∞
3a	» » » 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	305	340	∞	∞
	(3 Stunden nach 1,0 Caseosan)				
4.	L. R. Serum 0,5 + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	320	350	∞	∞
4a	» » » 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	295	360	∞	∞
	(3 Stunden nach 1,0 Caseosan)				
	Bouillon 0,5 + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	300	320	∞	∞
7.	Otto Serum 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	1300	2400	∞	∞
8.	Str. Serum 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	1300	2500	∞	∞
	Bouillon 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	1340	1880	∞	∞
9.	Serum 961/6 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	600	580	1440	∞
	Bouillon 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	590	560	1280	∞
10.	Serum 46/8 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	900	800	∞	∞
	Bouillon 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	1000	1500	∞	∞

Ergebnis: 10 menschliche Sera erhielten keine anthrakoziden Stoffe.

Nr. 1, 2, 9 und 10 waren dem Untersuchungsamt zugesandte Blutproben zwecks Anstellung der Agglutination bei Nr. 1 und der Wassermannschen Reaktion bei Nr. 2, 9 und 10. Nr. 1 ergab einen negativen Ausfall der Agglutinationsprobe mit Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbazillen Flexner und Shiga-Kruse. Die Wassermannsche Reaktion bei Nr. 2, 9 und 10 fiel negativ aus. Nr. 7 und 8 stammen von zwei gesunden Ärzten. Bei Nr. 7 waren von Ende April bis Ende Mai 10 Blutentnahmen à 10 ccm zu Transfusionen gemacht. 6 Wochen später wurde das Serum auf Anthrakozidie untersucht. Nr. 8 hatte von Mitte März bis Mitte April alle 5 Tage je 1 ccm Caseosan intramuskulär bekommen. Sein Serum wurde 8 Wochen danach auf Anthrakozidie untersucht. Nr. 3, 3a, 4 und 4a sind doppelt interessant, sie stammen von zwei Patienten der Chirurgischen Klinik vor und 3 Stunden nach einer Caseosangabe von 1,0 ccm intravenös. Bei Nr. 3 und 4 wurde 24 Stunden nach der Caseosangabe von 1 ccm intravenös nochmals Blut entnommen mit folgendem Ergebnis:

Versuch Nr.		Keimzahl sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
3b	H. Kr. Serum 0,5 + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	60	10	0	50
4b	L. R. Serum 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	170	72	129	94
	Bouillon 0,5 + 1 » $^1/_{1000}$ »	500	480	600	1200

Ergebnis: 24 Stunden nach einer Caseosangabe von 1,0 ccm intravenös tritt bei zwei menschlichen Seren deutliche Anthrakozidie auf.

Das Vorhandensein starker Anthrakozidine beim trächtigen Kaninchen veranlaßte uns

b) Serum von schwangeren Frauen

zu untersuchen.

Versuch Nr.		Keimzahl sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunde
1.	0,5 Serum 24. Woche + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	76	198	450	690
2.	0,5 » 34. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	196	31	29	48
3.	0,5 » 35. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	138	14	48	127
	0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	193	153	276	1533
4.	0,5 Serum 23 Jahre I 36. Woche + 1 » $^1/_{1000}$ »	150	57	98	1200
5.	0,5 » 21 » I 34. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	156	52	80	800
6.	0,5 » 23 » I 33. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	220	75	200	325
7.	0,5 » 21 » I 39. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	188	107	70	200
	0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	700	1000	∞	∞

Versuch Nr.		Keimzahl sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
8.	0,5 Serum 26 Jahre I 38. Woche + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	43	7	40	52
9.	0,5 » 20 » I 32. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	12	0	1	0
10.	0,5 » 20 » I 40. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	32	2	4	0
11.	0,5 » 23 » I 36. » + 1 » $^1/_{1000}$ »	58	3	13	15
	0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	1000	1500	∞	∞

Ergebnis: Schwangerschaft in den letzten Wochen ruft im Serum gesunder Frauen starke Anthrakozidie hervor.

c) Menschenserum (besondere Fälle).

	Keimzahl sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
0,5 Serum 950/4 U. A. + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	56	1	3	5
0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	286	260	∓	∞

Das zur Agglutination eingesandte Blut ergab: Agglutination mit Bazillus Flexner 1 : 50, 1 : 100 positiv, 1 : 200 negativ; mit Bazillus Shiga-Kruse 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200 negativ. Typhus und Paratyphus 1 : 50, 100, 200 negativ. Klinisch lag keine Ruhr vor, es handelte sich um einen periproktitischen Abszeß bei chronischer Tuberkulose.

d) Sicher unbehandelte Erkrankungen an Lues.

Versuch Nr.		Keimzahl sofort	nach 1 Stunde	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
1.	Bg. 0,5 Serum + 1 Tropfen $^1/_{1000}$ M.B.K.	600	108	21	19
	0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	590	560	1280	∞
2.	H. 0,5 Serum (Lues III) + 1 » $^1/_{1000}$ »	122	8	60	8
	0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	193	153	276	1533
3.	M. 0,5 Serum (Lues mit Spir.) + 1 » $^1/_{1000}$ »	430	310	850	1200
	0,5 Bouillon + 1 » $^1/_{1000}$ »	460	500	∞	∞

Dazu kommen noch 10 Sera, die von behandelten Luesfällen stammen, die alle mehr oder weniger starke Anthrakozidie im Serum aufweisen. Sie sollen einer späteren Mitteilung vorbehalten bleiben. Seit den Untersuchungen von Mayrhofer ist bekannt, daß nach der Injektion von Salvarsan menschliches Serum anthrakozide Stoffe enthält. Jetzt ergab sich, daß auch Serum von nur mit Quecksilber

oder Embarin (ohne Salvarsan) behandelten Luetikern Milzbrandbazillen abtötende Stoffe enthält. Dieser und der Befund im Serum unbehandelter Luetiker läßt Mayrhofers Schlußfolgerung, daß es sich um eine Desinfektionswirkung im lebenden Organismus beim Salvarsan handele, als zu eng erscheinen. Weiteren Untersuchungen muß vorbehalten bleiben, ob es sich um bakterizide oder um ausschließlich milzbrandfeindliche Stoffe (Anthrakozidine) handelt.

Zusammenfassung.

Wir fanden bei 20 Normalversuchen im Plasma oder im Frischblutextrakt bei Kaninchen stets ein schwankendes, wenn auch sehr geringes Vorhandensein von Anthrakozidinen. Dieses erscheint uns auch wahrscheinlicher, als das von den genannten Autoren angenommene vollständige Fehlen anthrakozider Stoffe, denn wenn die Plättchen für das Entstehen milzbrandfeindlicher Stoffe verantwortlich zu machen sind, dann wird auch bei normalen Tieren geringes schwankendes Vorhandensein von Anthrakozidinen wahrscheinlicher sein, weil im Leben immer ein geringer Plättchenzerfall stattfindet.

Es gelang uns durch Caseosan, Typhusimpfstoff in kleinen Dosen, durch wiederholte Aderlässe, durch Röntgenbestrahlung in kleinen Dosen eine recht erhebliche Steigerung der anthrakoziden Stoffe im Plasma, Serum und Frischblutextrakt beim Kaninchen nachzuweisen. Große Dosen von Typhusimpfstoff, von Röntgenbestrahlung und das Zusammenwirken von Caseosan mit Coccidiose, von Röntgenbestrahlung und Aderlaß, von Caseosan und Hautverätzung lassen die Plättchenstoffe aus dem strömenden Blut verschwinden. Außerdem ergab sich, daß Zunahme des Plakingehaltes des strömenden Blutes beim Kaninchen ausgelöst wird durch pathologische Zustände wie Coccidiose und Verätzung und durch Trächtigkeit.

Wir überzeugten uns durch Parallelversuche davon, daß beim Kaninchen die Steigerung der anthrakoziden Stoffe gleichsinnig verläuft den von Freund angegebenen Vorgängen an pharmakologischen Versuchsanordnungen. Da Gruber und andere Autoren die Entstehung der anthrakoziden Stoffe aus den Blutplättchen des Kaninchens sichergestellt haben, läßt sich aus dem parallelen Verhalten unserer Versuche schließen, daß der Plättchenzerfall auch an den pharmakologischen Wirkungen beteiligt ist. Damit soll nicht gesagt sein, daß es sich um die gleichen chemischen Stoffe handelt. Jedenfalls liegt der Gedanke nahe, daß die Proteinkörper und die unspezifische Reiztherapie zum Teil auf dem Umwege über den Plättchenzerfall wirken.

Das kann aber nicht der einzige Angriffspunkt sein. Menschliches Serum wirkt ja normalerweise vasokonstriktorisch, ohne Anthrakozidine zu enthalten, und wenn Gruber-Futakis Ansicht zu Recht besteht, daß Blutplättchen des Menschen keine anthrakoziden Stoffe enthalten, dann müssen die wirksamen Stoffe beim Menschen auch noch aus anderen Zellen stammen können. Denn obwohl menschliches Serum an sich normalerweise nicht anthrakozid wirkt, kann es milzbrandfeindliche Kraft erlangen, ohne daß es sich etwa um einen Immunisierungsprozeß im gewöhnlichen Sinne handelt.

Sera von Frauen aus den letzten Wochen der Schwangerschaft enthalten große Mengen milzbrandfeindlicher Stoffe. Desgleichen kann durch kleine Caseosangaben beim Menschen Anthrakozidie ausgelöst werden; auch das Serum von nichtbehandelten Luetikern kann starke Anthrakozidine enthalten. Ob das Vorhandensein von Anthrakozidinen bei mit Salvarsan allein oder mit Salvarsan in Verbindung mit Quecksilber oder mit Quecksilber allein behandelten Luetikern von vornherein unabhängig von der Behandlung oder als Folge der Behandlung auftritt, ist noch nicht entschieden.

Literatur.

Gruber und Futaki, Deutsche med. Woch. 1907, Nr. 39 und Münchener med. Woch. 1906, Nr. 6 und 1907, Nr. 6. — R. Schneider, Archiv für Hygiene Bd. 65, 70, 75 und 81. — Barreau, Ebenda Bd. 70. — Werbitzki, Zeitschrift für Hygiene 1911, Bd. 68. — Gonzenbach und Uemura, Zentralblatt für Bakteriologie 1916, Nr. 78. — Mayrhofer, Zur Kenntnis der Salvarsantherapie. Dissertation Heidelberg 1914. — Vgl. ferner Freund, Dieses Archiv Bd. 91.