[Aus dem Laboratorium für medicinische Bakteriologie der Universität
Kopenhagen.]

Ueber Immunisirung mit den Toxonen des Diphtheriegiftes.¹

Von

Georges Dreyer und Thorvald Madsen.

Wenn man Diphtheriegift mit Diphtherieantitoxin mischt, sieht man im Thierversuch, dass die Wirkung dieses Gemisches vor allem von dem Verhältniss der beiden genannten Bestandtheile abhängt. Dies tritt z. B. hervor, wenn man Mischungen untersucht, die stets dieselbe Menge Diphtheriegift und wechselnde Mengen Diphtherieantitoxin enthalten. Als Constante des Giftes wählt man zu den Versuchen am besten diejenige Menge, die von Ehrlich als Lo bezeichnet worden ist, und die der Definition entsprechend von einer Immunitätseinheit des Antitoxins gerade neutralisiert wird.² Diese Lo-dosis enthält bekanntlich ein hohes Multiplum der tödlichen Minimaldosis des Giftes. Vermindert man die der Lo-Dosis des Giftes zugefügte Antitoxinmenge, so kann die letztere — je nach den verschiedenen Giften — auf $\frac{7}{8}$ bis $\frac{1}{2}$ Immunitätseinheit herabgesetzt werden, bevor eine dem reinen Diphtheriegifte entsprechende Wirkung des Gemisches wahrzunehmen ist. Bis man diesen Punkt erreicht, hat die Mischung zwar toxische, aber ganz andersartige Eigenschaften als das Diphtheriegift.

Diphtheriegift ohne Antitoxinzusatz tödtet in bestimmten Gaben Meer-schweinchen im Laufe von wenigen Tagen mit typischen pathologisch-anatomischen Läsionen; in kleineren Gaben ruft es eine ausgedehnte Infil-

---

¹ Verkürzt mitgetheilt auf dem XIII. intern. med. Congress.

² Ehrlich, Die Werthbemessung des Diphtherieheilserums. *Klin. Jahrb.* 1897.

tration hervor, die von Necrose und Haarausfall gefolgt wird. Ein Gift-antitoxingemisch jedoch mit einem kleinen Giftüberschuss hat selbst in sehr grossen Mengen nicht die Fähigkeit, Versuchsthiere acut zu tödten. Das durch ein solches Gemisch verursachte Infiltrat ist klein und weich und verschwindet spurlos. Die charakteristische Giftwirkung der Mischung besteht in dem constanten Auftreten von Paresen nach einer bestimmten, mehrere Wochen währenden Latenzzeit¹.

Diese Eigenthümlichkeiten erklärt Ehrlich² dadurch, dass das Diphtheriegift ein complicirter Körper ist, aus zwei wesentlich verschiedenen Bestandtheilen bestehend. Der eine, das Toxin, hat die stärkere Affinität zum Antikörper und wird deswegen zuerst von diesem gebunden; es besitzt die obengenannte Eigenschaft acut zu tödten, die bei der Anwendung reinen Diphtheriegiftes zur Geltung kommt. Dem anderen Körper, dem Toxon, kommt eine viel geringere Affinität zum Antikörper als dem Toxin zu, und er wird daher erst dann vom Antitoxin neutralisirt, wenn alles Toxin gebunden ist. Seine giftigen Eigenschaften sind von der oben geschilderten, von der des Toxins abweichenden Art.

Die Verschiedenheit der toxischen Wirkung einerseits, das wesentlich gleichartige und nur nach dem Affinitätsgrad verschiedene Verhalten andererseits findet die einfachste Erklärung in der Annahme Ehrlich's, dass die Moleküle des Toxins und Toxons die gleichen haptophoren, jedoch verschiedene toxophore Gruppen besitzen.

Nehmen wir im Sinne der bekannten Seitenkettentheorie Ehrlich's an, dass es dieselben haptophoren Gruppen des Giftmoleculs sind, die von dem Antitoxin und von gewissen Gruppen (Receptoren) im Organismus selbst gebunden werden, und dass die Antitoxine nichts Anderes sind, als die in Freiheit gesetzten und im Blute circulirenden Receptoren — dann wird zur Auslösung der Antitoxinbildung keineswegs eine Giftwirkung nothwendig sein, sondern dieselbe ist zunächst nur von der Bindung des Giftes im Organismus abhängig als eine Function der haptophoren Gruppe.

Daher könnte man erwarten, Immunität und Antitoxinbildung durch Injection von Toxonen hervorrufen zu können. Das auf dieser Weise erzeugte Antitoxin muss dieselbe Wirkung haben, wie das bei gewöhnlicher Immunisirung mit Diphtheriegift gewonnene.

¹ Ehrlich, a. a. O.

Madsen, Ueber Messung der Stärke des antidiphtherischen Serums. *Diese Zeitschrift*. 1887. Bd. XXIV. — La constitution du poison diphthérique. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.

² Ehrlich, a. a. O. — Die Constitution des Diphtheriegiftes. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1898.

Schon in seiner Abhandlung: „Die Werthbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen“ deutet Ehrlich die Möglichkeit an, mit Toxonen zu immunisiren. Da aber bis jetzt diesbezügliche Untersuchungen nicht vorliegen, haben wir uns entschlossen, diese Frage einem eingehenden Studium zu unterwerfen.

Als Toxone bezeichnen wir im folgenden immer eine solche nicht ganz neutralisirte Mischung von Gift und Antikörper, die Meerschweinchen injicirt, die schon obenerwähnten Eigenschaften besitzt: Sie tödtet nicht acut, bildet kleine, weiche, schnell vorübergehende Infiltrationen, die nicht von Nekrose und Alopecie gefolgt werden, und ruft nach einer Incubationszeit von mehreren Wochen eine typische Parese hervor.

Toxongrenze nennen wir den Neutralisationsgrad, der eben den Uebergang von Toxon- zu Toxinwirkung bezeichnet.

Nach dem Vorgang Ehrlich's wird die Immunitätseinheit in 200 Antitoxinbindungseinheiten getheilt. Die von einer Antitoxinbindungseinheit ($\frac{1}{200}$ I-E.) neutralisirte Giftmenge wird ein Toxin- bzw. Toxonäquivalent genannt.

Bevor wir die eigentlichen Immunisirungsversuche vornahmen, mussten wir doch einige Vorfragen aufklären.

Die erste war, ob der Unterschied zwischen Toxinen und Toxonen vielleicht nur eine quantitative und nicht eine qualitative wäre, mit anderen Worten, ob man nicht bei der Anwendung von grossen Mengen Toxon echte Toxinwirkungen hervorrufen könnte. Es war von besonderer Wichtigkeit dieses zu entscheiden, da man im Laufe der Immunisirung grosse Mengen der Mischung injiciren musste.

Es zeigte sich, dass Mischungen von Gift und Antitoxin, die nahe an der Toxongrenze waren, in kleinen Dosen nur Toxonwirkung erzeugten. Wurden sie aber bis zum 10fachen vergrössert, dann sah man sehr häufig die Meerschweinchen in wenigen Tagen sterben. Wählte man aber solche Mischungen, die mit etwas mehr Antitoxin gesättigt waren, so erhielt man auch von der 10fachen Dosis nur Toxonwirkungen.

Für die Versuche wurden 3 verschiedene Gifte verwendet (C, E und F). Gift C ist früher ausführlich beschrieben¹. Die Constanten, an Meerschweinchen von 250 grm gemessen, waren

+M 250 grm	. . . . .	= 0.009 ccm
L ₊	„	= 0.82 „
L ₀	„	= 0.6 „
Toxonmenge = 50 Aequivalente.		

¹ Madsen, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.

Wie die 2 anderen Gifte war Gift E gewonnen von einer Diphtherie-cultur, die uns gütigst von Herrn Geh. Med.-Rath Prof. Dr. P. Ehrlich überlassen war; die Einstellung des Giftes wurde mit Testserum ausgeführt, das uns immer mit der grössten Liebenswürdigkeit von dem Kgl. Institute f. exper. Therapie zur Verfügung gestellt wurde.

Die Constanten des Giftes E für Meerschweinchen waren:

$$\begin{aligned} {}^+M \text{ 250 grm} & \dots \dots = 0.0076 \text{ cem} \\ L_+ \text{ „} & \dots \dots = 0.76 \text{ „} \\ L_o \text{ „} & \dots \dots = 0.6 \text{ „} \end{aligned}$$

Die Toxonmenge wurde nach Versuchen mit partieller Sättigung als ca. 33 bestimmt (Toxongrenze ca. $\frac{167}{200}$ I.-E.). Siehe Tabellen I bis III.

Tabelle I.

Gift E.

Tödliche Minimaldosis für Meerschweinchen. (Gew. 250 grm.)

Dosis in cem	† nach	Infiltration	Dosis in cem	† nach	Infiltration
0.01	72 Stunden	gross	0.0078	72 Stunden	gross
0.01	64 „	„	0.0076	84 „	„
0.009	65 „	„	0.0076	60 „	klein
0.009	64 „	mittelgross	0.0076	96 „	gross
0.0085	84 „	gross	0.0076	72 „	mittelgross
0.008	65 „	klein	0.0075	96 „	„
0.008	8 Tagen	mittelgross, Nekrosis	0.0075	6 Tage	„
0.008	62 Stunden	gross	0.0075	8 „	„
0.0078	72 „	„	0.007	8 „	gross
0.0078	108 „	klein	0.006	8 „	„

Tabelle II.

Gift E.

Bestimmung von L_+ und L_o für Meerschweinchen (Gew. 250 grm) subcutan.

1 I.-E. + folgende Giftmenge in cem	† nach	Infiltration	P a r e s e	
			Incubations- zeit in Tagen	† nach Tagen
0.93	40 Stunden	—		
0.82	32 „	—		
0.80	60 „	mittelgross		
0.80	60 „	gross		
0.80	96 „	„		
0.78	62 „	„		
0.78	60 „	mittelgross		
0.78	60 „	„		

Tabelle II. (Fortsetzung.)

1 I.-E. + folgende Giftmenge in cem	† nach	Infiltration	P a r e s e	
			Incubations- zeit in Tagen	† nach Tagen
0.77	60 Stunden	mittelgross	—	—
0.77	60 „	„	—	—
0.77	60 „	„	—	—
0.76	7 Tagen	gross	—	—
0.76	62 Stunden	„	—	—
0.76	84 „	mittelgross	—	—
0.76	72 „	gross	—	—
0.75	64 „	„	—	—
0.75	7 Tagen	„	—	—
0.75	72 Stunden	„	—	—
0.75	—	mittelgross	14	17
0.74	—	„	15	18
0.74	—	„	14	17
0.72	—	klein	15	19
0.70	—	mittelgross	13	20
0.69	—	„	14	23
0.69	—	„	14	21
0.68	—	klein	15	26
0.68	—	„	14	24
0.67	—	Spur	18	24
0.67	—	0	20	lebt
0.66	—	0	20	„
0.64	—	klein	13	22
0.62	—	0	18	lebt
0.60	—	0	0	„
0.60	—	0	0	„

Tabelle III.

Gift E.

Bestimmung der Toxongrenze für Meerschweinchen (250 g^{mm}) subcutan.

0.6 cem (Lo) + $\frac{x}{200}$ I.-E. x =	† nach	Infiltration	P a r e s e	
			Incubations- zeit in Tagen	† nach Tagen
194	—	0	0	lebt
188	—	klein	24	„
185	—	mittelgross	15	17
185	—	„	18	24
185	—	klein	16	24
185	—	„	14	19
185	—	„	14	18

Tabelle III. (Fortsetzung.)

0.6 ccm (Lo) + $\frac{x}{200}$ I.-E. $\frac{x}{x} =$	† nach	Infiltration	P a r e s e	
			Incubations- zeit in Tagen	† nach Tagen
185	—	klein	14	21
185	—	„	16	24
169	—	gross	14	17
169	5 Tagen	„	0	—
169	—	klein	19	24
169	11 Tagen	„	0	—
164	90 Stunden	gross	0	—
164	6 Tagen	„	0	—
160	80 Stunden	mittelgross	0	—
160	7 Tagen	„	0	—
159	60 Stunden	„	0	—
159	5 Tagen	gross	0	—
150	86 Stunden	„	0	—
150	60 „	„	0	—

Für Kaninchen (1200 bis 1600 grm) wurden folgende Constanten gefunden:

+K	. . . . .	= 0.0076 ccm
L ₊	. . . . .	= 0.61 „
Lo	. . . . .	= 0.5 „

(Vgl. Tabellen IV u. V.)

Tabelle IV.

Gift E.

Tödliche Minimaldosis für Kaninchen (Gew. 1200 bis 1600 grm) intravenös.

Dosis in ccm	† nach	Dosis in ccm	† nach
0.06	40 Stunden	0.0076	96 Stunden
0.05	21 „	0.0076	72 „
0.04	36 „	0.0076	60 „
0.03	50 „	0.0075	5 Tagen
0.02	40 „	0.0073	8 „
0.0076	84 „	0.0075	7 „

Tabelle V.

Gift E.

Bestimmung von L_+ und Lo für Kaninchen (Gew. 1200 bis 1600 ^{grm})
intravenös.

1 I.-E. + folgende Giftmenge in cem	† nach	P a r e s e	
		Incubations- zeit	Ausfall
0.64	36 Stunden	0	—
0.63	36 „	0	—
0.62	60 „	0	—
0.61	96 „	0	—
0.60	8 Tagen	0	—
0.59	—	12 Tagen	† nach 18 Tg.
0.52	—	27 „	lebt
0.50	—	0	„
0.50	—	0	„

Werden diese Werthe für L_+ und Lo mit den obenstehenden für Meerschweinchen verglichen, so sieht man, dass Lo für Meerschweinchen (0.6 ^{cem}) ungefähr L_+ für Kaninchen (0.61 ^{cem}) entspricht. Einige Versuche mit Gift C haben ganz ähnliche Verhältnisse gezeigt, nämlich dass die für Meerschweinchen ganz unschädliche Mischung von einer Immunitätseinheit mit 0.6 ^{cem} (Lo) tödtend (also L_+) für das viel grössere Kaninchen war, während man $Lo = 0.5$ ^{cem} fand.

Wird die Toxomenge für Gift E nach der Formel Ehrlich's mit den bei Kaninchen gefundenen Constanten berechnet, bekommen wir ca. 33, welche Zahl auch die partielle Sättigung zeigt. (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Gift E.

Bestimmung der Toxongrenze (Kaninchen) intravenös.

0.5 ^{cem} (Lo) + $\frac{x}{200}$ I.-E. $x =$	† nach	P a r e s e	
		Incubations- zeit in Tagen	† nach Tagen
175	—	16	22
175	—	18	24
175	—	13	16
175	—	14	18
169	—	12	18
167	8 Tagen	0	—
164	96 Stunden	0	—
161	60 „	0	—

Mischen wir 0.6^{cem} Gift mit einer ($\frac{200}{200}$) Immunitätseinheit, so ist dieses Gemisch vollkommen unschädlich für Meerschweinchen. Ganz dasselbe Verhältniss zwischen Gift und Antitoxin haben wir in der Mischung 0.5^{cem} Gift + $\frac{167}{200}$ I.-E. Wie oben erwähnt, ist diese aber gar nicht unschädlich für Kaninchen, enthält aber 33 Toxonäquivalente für diese Thiere. 0.6^{cem} Gift + $\frac{200}{200}$ I.-E. enthält folglich 40 Toxonäquivalente¹.

Da die von einer Immunitätseinheit neutralisirte Giftmenge (Lo) verschieden gefunden wird, wenn man die Prüfung auf Meerschweinchen oder auf Kaninchen vornimmt, ist es auch klar, dass ein „Aequivalent“ oder das von einer bestimmten Antitoxinmenge $\frac{1}{200}$ I.-E. neutralisirte Giftquantum nicht dasselbe ist gegenüber verschiedenen Thierspecies. Es ist z. B. kleiner für Kaninchen als für Meerschweinchen.

Wir können also folgendes Schema aufstellen:

$$\begin{array}{lcl}
 \begin{array}{l} 0.6^{\text{cem}} \\ (\text{Lo f. Meerschw.}) \\ + \frac{240}{200} \text{ I.-E.} \end{array} & \left\{ \begin{array}{l} \text{Ueberschuss von } \frac{40}{200} \text{ I.-E. für Meerschweinchen.} \\ \text{Neutral f. Kaninchen (entspricht dem Verhältniss:} \\ \quad 0.5^{\text{cem}} (\text{Lo Kan.}) + \frac{200}{200} \text{ I.-E.}) \end{array} \right. \\
 0.6^{\text{cem}} + \frac{200}{200} \text{ I.-E.} & \left\{ \begin{array}{l} \text{Neutral f. Meerschw.} \\ 40 \text{ frei Toxonäqu. f. Kan. entspr. dem Verhältniss:} \\ \quad 0.5 (\text{Lo Kan.}) + \frac{167}{200} \text{ I.-E.}) \end{array} \right. \\
 0.6^{\text{cem}} + \frac{167}{200} \text{ I.-E.} & \left\{ \begin{array}{l} 33 \text{ frei Toxonäqu. f. Meerschw.} \\ 40 \text{ „ „ „ + 33 freie Toxinäqu. f. Kaninchen} \\ \quad (\text{entspricht dem Verhältniss}) \\ \quad 0.5^{\text{cem}} (\text{Lo Kan.}) + \frac{139}{200} \text{ I.-E.}) \end{array} \right.
 \end{array}$$

Es geht aus dem obenstehenden Schema hervor, dass in 0.6^{cem} von Gift E 40 freie Toxonäquivalente sind, deren Existenz wir nur durch Injection am Kaninchen erkennen können, wo sie typische Paresen hervorrufen, während die Mischung ganz unwirksam gegenüber Meerschweinchen ist. Erst wenn wir die Antitoxinmenge allmählich verringern, von $\frac{200}{200}$ auf $\frac{167}{200}$ I.-E., erhält die Mischung Toxonwirkung den Meerschweinchen gegenüber, aber gleichzeitig Toxinwirkung für Kaninchen.

Man sieht also, dass Gift-Antitoxinmischungen, welche typische Toxonwirkung bei dem einen Versuchsthier (Kaninchen) zeigen, gar keine nachweisbare Wirkung bei Versuchsthieren anderer Species (Meerschweinchen) zu haben brauchen. Gift-Antitoxinmischungen ferner, die eine ausgesprochene und typische Toxonwirkung für eine Thierspecies (Meerschweinchen) haben, können als Toxin² gegenüber anderen Versuchsthieren (Kaninchen) wirken.

¹ Die Berechnung Madsen, siehe a. a. O. S. 807.

² v. Georges Dreyer, *Experim. Undersøgelser over Difteriegiftens Toxoner*. Kopenhagen 1900.

Das letzte Gift, F, wurde nicht so genau als die zwei anderen Gifte untersucht. Wir begnügten uns, die für die Immunisation nothwendigen Constanten für Meerschweinchen zu bestimmen:¹

$$L_0 = 0.62 \text{ ccm},$$

$$\text{Toxonmenge} = 50 \text{ Aequivalente.}$$

Als Antitoxin diente ein sehr schwaches Präparat, das bei zahlreichen, sorgfältigen Messungen stets 32 Immunitätseinheiten pro Ccm. zeigte.

Die Einzelheiten der Versuche finden sich in den nachstehenden Tabellen.

Die zur Immunisirung von Ziege und Pferd verwendete Gift-Antitoxinmischung war:

$$\text{Gift C: } 0.6 \text{ ccm} + \frac{160}{200} \text{ I.-E. (Toxongrenze } \frac{150}{200} \text{ I.-E.)}$$

$$,, \text{ E: } 0.6 \text{ ccm} + \frac{185}{200} \text{ „ „ } \frac{167}{200} \text{ „}$$

$$,, \text{ E: } 0.62 \text{ ccm} + \frac{175}{200} \text{ „ „ } \frac{150}{200} \text{ „}$$

also stets eine solche, die ganz sicher keine Toxinwirkung für Meerschweinchen hatte.

Die Kaninchen wurden mit folgender Mischung immunisirt:

$$0.5 \text{ ccm Gift E} + \frac{175}{200} \text{ I.-E.}$$

die also nur Toxonwirkung für Kaninchen zeigte.

Die Immunisirung wurde nach den üblichen Regeln gemacht, indem keine neue Injection vorgenommen wurde, bevor die Reaction nach der vorausgehenden vollständig verschwunden war. Die Blutproben wurden gemeinlich am 8. Tage nach der letzten Injection genommen, zu welchem Zeitpunkt die Antitoxincurve nach einer Einzelinjection von Diphtheriegift gewöhnlich ihre Akme zeigt.²

Die Immunisirung von Kaninchen war sehr schwierig; die Thiere gingen fast immer an Kachexie verloren, oft lange Zeit nach der Toxininjection.

Bei einem Thiere gelang es indessen, die Immunisirung durchzuführen. Am 28. IX. 1899 bekam das Kaninchen eine intravenöse Injection von

¹ Es ist zu bemerken, dass trotzdem die Diphtheriebouillon, von denen die drei Gifte C, E und F stammten, zu ganz verschiedenen Zeiten bereitet wurde (Gift F wurde von einer grossen Menge älterer und jüngerer Filtrate zusammengegossen), man doch eine grosse Uebereinstimmung unter den Constanten fand. Die tödtliche Minimaldosis war Anfangs für alle drei Gifte ca. 0.006 ccm , später schwächten sie sich allmählich ab. Auch L_0 war ungefähr dieselbe Dosis, 0.6 ccm für Meerschweinchen und 0.5 ccm für Kaninchen, welche Werthe noch unverändert sind.

² Salomonsen und Madsen, *Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphthérie. Annales de l'Institut Pasteur.* 1897 und 1899.

0.5 ^{cem} Gift + $\frac{192}{200}$ I.-E. = 8 Toxonäquivalenten. 16 Tage später wurde eine leichte Parese wahrgenommen, von der sich das Thier nach Verlauf von 16 Tagen vollständig erholt hatte. Als das Thier am 25. XI. 1899 circa 62 freie Toxonäquivalente bekam, wurde diese bedeutende Giftmenge verhältnissmässig gut vertragen, indem das Kaninchen 4 Wochen später nur eine ganz leichte kurzdauernde Parese zeigte. Darnach konnte die Dosis allmählich vergrössert werden, so dass das Kaninchen 7 Monate nach dem Anfang der Immunisirung leicht eine Mischung von 50 ^{cem} Gift und $\frac{17500}{200}$ I.-E. vertrug, welches 6.25 ^{cem} Gift ohne Antikörpern oder 2500 freie Toxonäquivalenten entspricht. Dies entspricht ca. der 100fachen einer Mischung, die nach 2 bis 3 Wochen mit Sicherheit eine tödtliche Parese bei Kaninchen von gleichem Gewicht hervorruft.

Nachdem die zwei ersten Attaquen von Parese glücklich überstanden waren, zeigte das Thier bei der weiteren Immunisirung keine Störungen; es entstanden so gut wie keine Infiltrationen an der Injectionsstelle; die Fresslust wurde nicht afficirt, es wurde keine Temperaturerhöhung wahrgenommen, und das Gewicht war in stetigem Zunehmen.

Offenbar lag hier eine ausgesprochene Unempfindlichkeit für die giftigen Wirkungen des Toxons vor. Um die Frage zu klären, ob diese Unempfindlichkeit auch die Wirkungen des Toxins umfasste, injicirte man in die Ohrvene am 12. V. 1900 6.25 ^{cem} Reingift = 822 Mal tödtliche Minimaldosis, in Aequivalenten genau gleich dem nicht gesättigten Gift-(Toxon-)Ueberschuss in der letztinjecirten Mischung, 50 ^{cem} Gift + $\frac{17500}{200}$ I.-E. Weder nach der erstgenannten noch nach der letztgenannten Injection war irgend eine Reaction wahrzunehmen. Später wurden Dosen bis 15 ^{cem} Reingift gut vertragen. Das Thier hatte also durch Behandlung mit Toxon Immunität sowohl gegen Toxon als gegen Toxin erworben.

Vor Beginn des Versuches wurde untersucht, ob das Serum des Kaninchens normal Antitoxin enthalte; dieses aber war nicht der Fall. Auch später gelang es niemals, auch nur Spürchen von Antitoxin in seinem Blut zu finden, selbst nicht beim Aderlass am 4. V. 1900, da das Thier alles in allem über 5000 Toxonäquivalente bekommen hatte, ca. 13 ^{cem} ungesättigten Giftes entsprechend. Wie es aus der Messung am 15. VI. 1900 hervorgeht, machte es in dieser Beziehung gar keinen Unterschied, dass man später statt Toxon Gift in gewöhnlicher Weise verwendete. (Tabelle VII).

Was die Ziege betrifft, konnte man ziemlich schnell — im Laufe von einigen Monaten — die Dosis zu 150 ^{cem} Gift + $\frac{46250}{200}$ I.-E. steigern, ohne dass das Thier merklich beeinflusst wurde. Nur einmal verursachte eine Injection eine geringe Temperaturerhöhung und eine unbedeutende einen Tag dauernde Infiltration. Irgend eine andere locale oder allgemeine

Tabelle VII. Immunisierungstabelle für Kaninchen.

I n j e c t i o n					A d e r l a s s		Reaction nach den Injectionen		
Datum	Gewicht in grm	Injections- weise	Gift	E i n z e l d o s i s		Datum		Immu- nisierungs- einheiten pro cem Serum	
				Giftosis in cem + $\frac{1}{200}$ (l.)	Ungesätt. Giftmenge in cem				Freie Toxonäqui- valente
1899 28. IX.	1240	intraven.	E.	0.5. + $\frac{102}{200}$	0.02	8	1899 22. IX.	< 0.1	{ Keine Reaction. Gewichts- zunahme. 14. X. 1899 leichte Parese, die am 30. X. 1899 vollständig verschwund. ist.
25. XI.	1790	"	"	1.25 + $\frac{137.5}{200}$	0.16	63	1900		{ Keine Reaction. Gute Fress- lust. Gew.-Zunahme. 27. XII. 1899 Spürchen von Parese, die nach 3-4 Tagen ver- schwunden ist.
6. III.	2130	"	"	5 + $\frac{1750}{200}$	0.63	250			{ Keine Reaction. desgl.
14. III.	2150	"	"	10 + $\frac{3500}{200}$	1.25	500			{ desgl.
22. III.	2200	"	"	15 + $\frac{8250}{200}$	1.88	750	26. III.	< 0.1	{ Kleine Infiltr., nach 24 Std. verschwunden. Gute Fress- lust. Keine Parenen.
14. IV.	2200	subcutan	"	25 + $\frac{8750}{200}$	3.15	1250			{ desgl.
26. IV.	2200	"	"	50 + $\frac{17500}{200}$	6.25	2500	4. V.	< 0.1	{ Keine Reaction. desgl.
12. V.	2240	intraven.	"	6.25					{ Keine Infiltr., nach 2 Tagen verschwund. Keine Nekrose.
22. V.	2280	"	"	9					{ Keine Parese. Gute Fresslust.
1. VI.	2290	subcutan	"	12					{ 12. VI. recht grosse Infiltrat.
11. VI.	2290	"	"	15			15. VI.	< 0.1	{ 16. VI. Abscess an Injections- stelle. Geringe Fresslust. Gewichtsverlust. 18. VI. Tod. Sect.: Pneumonien. Empyem.

Tabelle VIII.
Immunisirungstabelle für die Ziege.

I n j e c t i o n e n				A d e r l a s s		Reaction nach den Injectionen	
Datum	Injections- weise	Gift	E i n z e l d o s i s		Datum		Immu- nisierungs- einheiten pro cem Serum
			Giftosis in cem + $\frac{x}{200}$ (I.)	Ungesätt. Giftmenge in cem		Freie Toxonäqui- valente	
1899							{ Keine locale Reaction. Gute Fresslust. Keine Temperatur- erhöhung. Keine Reaction.
5. XII.	subcutan	E.	$0.3 + \frac{92.5}{200}$ (I.)	0.023	1899 4. XII.	< 0.1	
12. XII.	"	"	$0.6 + \frac{185}{200}$	0.045			
20. XII.	"	"	$1.2 + \frac{370}{200}$	0.09			
29. XII.	"	"	$2.4 + \frac{740}{200}$	0.18			desgl. desgl. desgl.
1900					1900		
6. I.	"	"	$6.0 + \frac{1850}{200}$	0.45			
13. I.	"	"	$15.0 + \frac{4625}{200}$	1.13			
20. I.	"	"	$30.0 + \frac{9250}{200}$	2.26			{ Geringe Infiltration, nach 24 Stunden verschwunden. Geringe Temp.-Erhöhung.
29. I.	"	"	$60.0 + \frac{18500}{200}$	4.51			
7. II.	"	"	$150.0 + \frac{46250}{200}$	11.28	17. II.	> 5 < 10	

Tabelle IX. Immunisirungstabelle für Pferd Nr. 18.

I n j e c t i o n e n			A d e r l a s s		Reaction nach den Injectionen		
Datum	Injections- weise	Gift	E i n z e l d o s i s			Datum	Immu- nisi- rungs- einheiten pro cem Serum
			Giftosis in cem + $\frac{1}{100}$ (l.)	Ungesätt. Giftmenge in cem			
27. XI. 1899	subcutan	E.	$0.3 + 92.5/_{200}$	0.023	7.5	24. XI. 1899	<0.1
5. XII. 1899	"	"	$0.6 + 135/_{200}$	0.045	15		{ Keine locale Reaction. Gute Fress- lust. Geringe Temp.-Erhöhung.
12. XII. 1899	"	"	$1.2 + 870/_{200}$	0.09	30		{ Keine Reaction.
20. XII. 1899	"	"	$1.8 + 550/_{200}$	0.135	45		{ desgl.
29. XII. 1899	"	"	$4.8 + 1480/_{200}$	0.36	120		{ desgl.
5. I. 1900	"	"	$12.0 + 8700/_{200}$	0.9	300		{ desgl.
12. I. 1900	"	"	$30.0 + 9280/_{200}$	2.26	750		{ desgl.
19. I. 1900	"	"	$60.0 + 18500/_{200}$	4.51	1500	23. I. 1900	>50 <100
26. I. 1900	"	"	$120.0 + 37000/_{200}$	9.02	3000	30. I. 1900	>90 <100
3. II. 1900	"	"	$300.0 + 92500/_{200}$	22.56	7500	3. II. 1900	>100
13. II. 1900	"	"	$399.0 + 123025/_{200}$	30.00	9975	10. II. 1900	>160 <200
25. II. 1900	"	"	$798.0 + 246050/_{200}$	60.00	19950	17. II. 1900	>200
						20. II. 1900	>300
23. III. 1900	"	F.	$50.0 + 14000/_{200}$	6.25	2000	6. III. 1900	>350 <400
30. III. 1900	"	"	$100.0 + 28000/_{200}$	12.5	4000		{ Kleine Infiltrat., nach 24 Std. ver- schwunden. Geringe T.-Erhöhung.
8. IV. 1900	"	"	$200.0 + 55000/_{200}$	25	8000		{ Temp. bis 39°, recht bedeutende Infiltrat., die 4—5 Tage dauerte.
17. IV. 1900	"	"	$400.0 + 112000/_{200}$	50	16000		{ desgl.
26. IV. 1900	"	"	$800.0 + 224000/_{200}$	100	32000		
14. V. 1900	"	"	100.0	100			

Tabelle X.
Immunisierungstabelle für Pferd Nr. 26.

I n j e c t i o n e n			A d e r l a s s		Reaction nach den Injectionen		
Datum	Injections- weise	Gift	E i n z e l d o s i s			Datum	Immu- nisierungs- einheiten pro cem Serums
			Giftosis in cem + $\frac{1}{200}$ (I.)	Ungesätt. Giftmenge in cem			
1900					1900		
15. III.	subcutan	E.	$0.3 + \frac{92.5}{200}$	0.023	1. III.	<0.1	
23. III.	"	"	$0.6 + \frac{185}{200}$	0.045	—	—	
30. III.	"	"	$1.2 + \frac{370}{200}$	0.09	—	—	
8. IV.	"	"	$1.8 + \frac{555}{200}$	0.135	—	—	
17. IV.	"	"	$4.8 + \frac{1440}{200}$	0.36	—	—	
24. IV.	"	"	$12.0 + \frac{3700}{200}$	0.9	—	—	
2. V.	"	"	$30.0 + \frac{9250}{200}$	2.26	—	—	
9. V.	"	"	$60.0 + \frac{18500}{200}$	4.51	—	—	
16. V.	"	"	$120.0 + \frac{37000}{200}$	9.02	—	—	
11. VI.	"	"	$300.0 + \frac{92500}{200}$	22.56	24. V.	30	
					20. VI.	30	

Reaction wurde nicht beobachtet. Indessen stieg der Antitoxingehalt des Blutes, der zu Anfang des Versuches unter 0.1 I.-E. war, auf 5 bis 10 Immunitätseinheiten pro Ccm. Später konnte dieselbe Ziege ohne Schwierigkeit grosse Mengen Reingift ertragen. (Tabelle VIII).

Von den 4 Pferden, die in Versuch genommen wurden, sind die zwei, Nr. 18 und Nr. 26, mit genau denselben Mengen Toxon (Gift E) behandelt. Es war indessen unmöglich, die Injectionen in denselben Zeitintervallen zu geben, indem die Thiere überaus verschieden reagierten.

Nr. 18 hatte während des ganzen Versuchs so gut wie keine Reaction nach den Injectionen. Nur einige Male zeigte sich nach der Einführung der grossen Giftmengen unter die Haut eine unbedeutende locale Schwellung, die immer am nächsten Tage verschwunden war und bisweilen von einer Temperaturerhöhung von einigen 0.1° begleitet wurde. (Tabelle IX).

Pferd Nr. 26 dagegen wurde schon nach den ersten kleinen Toxonmengen bedeutend angegriffen, und als die Dosen nach und nach vergrössert wurden, bekam das Thier nach jeder Injection eine grosse Infiltration mit Senkung unter den Bauch und nach den Extremitäten, sowie mit einer mehrere Tage dauernden Temperaturerhöhung bis ca. 40°, schlechtem Allgemeinbefinden und mangelnder Fresslust. (Tabelle 10).

Auch die Untersuchung der Sera dieser Thiere ergab grosse Unterschiede. Nachdem Pferd Nr. 18 alles in allem 111 ^{cem} Gift mit circa 175 Immunitätseinheiten gemischt, was nur 8 ^{cem} freiem Gift in Aequivalenten entspricht, bekommen hatte, zeigte es eine Serumstärke von zwischen 50 und 100 I.-E. pro Ccm. Während der fortgesetzten Immunisirung im Laufe der folgenden 5 Wochen stieg der Antitoxingehalt des Serums dieser Pferde so hoch, dass er nach 120 ^{cem} Gift + $\frac{37000}{200}$ I.-E. über 100 Immunitätseinheiten pro Ccm., nach 300 ^{cem} Gift + $\frac{92500}{200}$ I.-E. zwischen 160 und 200 Immunitätseinheiten pro Ccm. erreichte. Auf dem entsprechenden Stadium hatte Pferd Nr. 26 nur ca. 30 Immunitätseinheiten pro Ccm., welche Serumstärke es überhaupt niemals überschritt.

9 Tage nach einer Injection von ca. 800 ^{cem} Gift-Antitoxingemisch erreichte Nr. 18 zwischen 350 und 400 Immunitätseinheiten pro Ccm. Das Thier hatte dann während der ganzen Immunisirung ca. 130 ^{cem} freies Gift bekommen.

Die Immunisirung von zwei anderen Pferden, Nr. 24 und 25 wurde mit Gift C eingeleitet auf ganz dieselbe Weise wie bei den beiden anderen. Nach Injection von im Ganzen 174 ^{cem} Giftantitoxingemisch, 35 ^{cem} freiem Gift entsprechend, zeigte es sich, dass die Thiere zwischen 30 und 40 I.-E. pro Ccm. erreicht hatten. Die Immunisirung wurde dann mit Gift F fortgesetzt. Nach im Ganzen 1600 ^{cem} Giftantitoxingemisch, über 2 Monate

vertheilt, betrug der Antitoxingehalt von Nr. 24 50, von Nr. 25 100 Immunitätseinheit pro Ccm.

Nach Gift C äusserten die Pferde nur äusserst geringe Reaction, dieses war aber nicht der Fall nach Gift F. Namentlich die grossen Gaben von diesem Gifte erzeugten eine bedeutende Infiltration und Temperaturerhöhung bis 39 und 40°. Im Ganzen scheinen die Toxonen von Gift F eine viel intensivere Wirkung als die von Gift E und C zu haben. Da eine am 12. III. 1900 genommene Blutprobe zeigte, dass das Serum von Nr. 18 bis auf 150 I.-E. pro ^{ccm} heruntergegangen war, wurde die Immunisirung mit Gift F fortgesetzt, im Verhältniss 0.62 ^{ccm} Gift + ¹⁷⁵/₂₀₀ I.-E. Wir fingen dann an mit einer viel geringeren Anzahl von Toxonäquivalenten (2000) als bei der letzten Injection von Gift E (19.950); sowohl die allgemeine als die locale Einwirkung war trotzdem eine viel grössere. Diese starke Reaction wurde nach allen späteren Injectionen mit Toxonen des Giftes F wahrgenommen. Bei kleineren Versuchsthieren haben wir schon früher a. a. O. einen entsprechenden Unterschied zwischen den verschiedenen Toxonen gefunden, sowohl in ihrer Fähigkeit Infiltration als Parese hervorzurufen.

Bevor die obengenannten 4 Pferde in Versuch genommen wurden, wurde ihr Blut auf Antitoxin geprüft. Für 3 Pferde war das Resultat ein negatives; das Serum von Nr. 26 hatte aber kenntliche giftneutralisirende Eigenschaften, entsprechend ca. ¹/₄ I.-E. Wie erwähnt, war es eben dieses Thier, das nach der Immunisirung die niedrigste Serumstärke zeigte, indem es nicht über 30 kam. Diese Beobachtung scheint gegen die bisweilen angeführte Vermuthung zu sprechen, dass solche Thiere, die normal eine deutliche Antitoxinmenge in ihrem Blute haben, die für Antitoxindarstellung best geeigneten sein sollten.

Die erwähnten Versuche haben gezeigt, dass man mit Toxonen Immunität erreichen kann, und dass es gelungen ist, durch dasselbe Antitoxin bei Thieren verschiedener Species zu produciren.

Wir verhehlen uns nicht, dass gegen diese Folgerung ein Einwand erhoben werden kann. Wie oben erwähnt, giebt es gewisse Mischungen von Gift und Antitoxin, die gegenüber Meerschweinchen Toxonwirkung, gegenüber Kaninchen dagegen Toxinwirkung haben. Da die Constanten und die Toxongrenze für die zwei der angewandten Thierspecies, Ziege und Pferd, nicht bekannt sind, sind wir ganz ausser Stande zu entscheiden, ob die zur Immunisation verwendete Gift-Antitoxinmischung nicht Toxinwirkung gegenüber diesen 2 Thierspecies gehabt hat.

Dieser Einwand gilt aber nicht für den Versuch mit dem Kaninchen, indem hierzu eine solche Mischung gebraucht wurde, die sicher Toxonwirkung für Kaninchen hatte.

Es war von Interesse zu untersuchen, wie diese mit Toxon immunisirte Thiere gewöhnlichem Diphtheriegift gegenüber reagierten. Man könnte sich ja denken, dass eine Toxininjection eine ganz andere Reaction hervorrufen würde, als die äquivalente Menge Toxon, d. h. ein Quantum Toxon, welches von derselben Antitoxinmenge als das Toxin neutralisirt wurde.

Sowohl das Kaninchen, die Ziege und alle 4 Pferde haben nach der Immunisirung mit Toxonen Giftmengen bekommen, die der bei der letzten

Injection vertragenen Toxonmenge entsprechen. Das gewöhnliche Gift hat in keinem Fall eine stärkere Reaction als die Toxonen verursacht; es scheint auch nicht den Stoss zu einer kräftigen Antitoxinbildung gegeben zu haben. Dieses konnte andeuten, dass es keinen wesentlichen Unterschied giebt zwischen der durch Toxin und durch Toxon verursachten Antitoxinbildung. Zur Untersuchung dieser Frage steht noch ein Mittel zu unserer Verfügung, nämlich ein Vergleich von der durch Gift allein entstehenden Antitoxincurve mit der durch die äquivalente Menge Toxon entstehenden.

Zu dieser Untersuchung diente Pferd Nr. 18. Es wurde die früher erwähnte Mischung von 0.62^{cem} Gift F + $\frac{175}{200}$ I.-E. benutzt, in welcher $\frac{1}{8}$ des Giftes frei ist. Am 26. IV. wurden 800^{cem} Gift + $\frac{224000}{200}$ I.-E., 100^{cem} freiem Gift entsprechend, injicirt. Am $\frac{14}{5}$ bekam das Thier 100^{cem} von demselben Gift, ohne Antitoxin. Die locale und generelle Reaction war fast dieselbe nach beiden Einspritzungen. Das Resultat der Serummessungen ist graphisch durch die beigefügten Curven dargestellt.

Man sieht, dass die beiden Curven fast vollständig parallel sind. Auch dies spricht für die Vermuthung, dass die haptophoren Gruppen von Toxin und Toxon sehr verwendet sind.

Die erwähnten Versuche haben gezeigt, dass man mittels systematischer Injectionen von Toxon, deren Eigenschaften so sehr verschieden von den des Toxins sind, im Stande ist, bei verschiedenen Thiergattungen Unempfindlichkeit gegenüber den schädlichen Wirkungen sowohl von Toxon als Toxin hervorzubringen. Bei Ziege und Pferd gelang es auch, Antitoxin zu erzeugen; dieses war im Stande, nicht allein Toxon sondern auch Toxin zu neutralisiren, was ja schon daraus hervorgeht, dass es sich nach der neueren Methode Ehrlich's messen lässt.

Das Kaninchen wurde zwar auch unempfindlich bei der Toxonimmunisirung, es war aber weder nach den Toxoninjectionen noch nach den späteren Toxininjectionen eine Spur von Antitoxin in seinem Blut zu entdecken. Dieses ist ein neues Beispiel, dass die Immunität nicht eine directe Function von der Anwesenheit des Antitoxins ist.

Bei mehreren der Thiere ist es also gelungen, Antitoxin zu erzeugen durch Injection eines Körpers, der keine nennenswerthen krankhaften Symptome hervorrief. Hierdurch eröffnete sich die Möglichkeit, durch die immunisirende Fähigkeit der Existenz von freiem Gift in einem dem Anscheine nach neutralen Gift-Antitoxingemisch direct nachzuweisen, oder von einem Gifte, dessen Wirkung so abgeschwächt ist, dass es keine krankhafte Reaction machen konnte.

Vielleicht besitzten wir gerade in der immunisirenden Fähigkeit das schärfste Reagens für ein Gift, das nicht im Stande ist, irgend eine toxische Wirkung am Organismus auszuüben.