[Aus den Lungenheilstätten Beelitz bei Berlin der L.V.A. Berlin.]
(Chefarzt: Dr. Pickert.)

Über aktive Schutzimpfung bei Tetanus durch Toxoide.

Von

Dr. Ernst Loewenstein,
ärztlichem Abteilungsdirigenten.

Wenn eine Schutzimpfungsmethode eine allgemeine Anwendung finden soll, so muß die Vaccine folgenden Bedingungen entsprechen.

1. Die Vaccine muß völlig unschädlich sein,
2. Auch kleinste und höchstempfindliche Tiere müssen sich durch eine einzige Impfung schützen lassen.

Zum Studium dieser Frage hat Verfasser den Tetanus gewählt, da sein Toxin eine charakteristische Wirkung und eine enorme Giftigkeit für Mäuse und Meerschweinchen besitzt.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war also, das Tetanusgift so zu verändern, daß die giftigen Eigenschaften völlig verschwinden, jedoch die immunisatorischen Eigenschaften in vollem Umfange erhalten bleiben.

Gewiß hat es an Bemühungen in dieser Richtung nicht gefehlt. Ehrlich hatte schon durch die Ermittlung der Tatsache, daß Toxizität und Antitoxinbindung beim Diphtheriegift nicht parallel gehen, den Weg gezeigt, auf welchem sich eine gefahrlose aktive Immunisierung durchführen lassen wird. Die Entdeckungen Ehrlichs beim Diphtheriegift wurden bald durch von Behring erweitert in seinen Untersuchungen über den direkten und indirekten Giftwert des Tetanustoxins. In Gemeinschaft mit Kitashima und Ransom hat von Behring „eine große Zahl von löslichen und unlöslichen Mitteln sowie physikalischen Agentien darauf

untersucht, ob sie unter solchen Umständen einen bedeutenden modifizierenden Einfluß ausüben, unter welchen Kontrollgiftlösungen gar nicht oder nur in gewissem Maße verändert werden“. „Unter Innehaltung besonderer Kautelen haben wir Säuren und Alkalien, die meisten der bekannten Desinfektionsmittel, Farbstoffe, Edelmetalle, Kohle, tierische Gewebe und Organteile geprüft. Wir haben aber nur sehr wenig Stoffe gefunden, welche Tetanusgiftlösungen innerhalb kurzer Zeit in beträchtlichem Grade so modifizieren, daß der direkte Giftwert für Mäuse vermindert wird, während der indirekte Giftwert mehr oder weniger vollständig erhalten bleibt. Auch das Jodtrichlorid braucht immer noch eine für unsere Zwecke zu lange Zeit bis zum Eintritt der von uns beabsichtigten Giftmodifikation; die Konkurrenz anderer Agentien konnte dabei nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Von in Wasser löslichen Mitteln zeigten sich manche, welchen wir eine stark abschwächende Wirkung zugetraut hatten, überraschenderweise als gute Konservierungsmittel so z. B. das Kalihypermanganicum, das Quecksilberchlorid und namentlich die Pyrogallussäure. Ransom hat konzentrierte Tetanusgiftlösungen mit 0.5 und 0.2 Prozent Progallussäure länger als ein Jahr aufbewahrt und danach den direkten Giftwert für Mäuse fast völlig unverändert gefunden, während die unter Toluol aufbewahrten Kontrolllösungen sehr stark modifiziert waren. Andere lösliche Mittel, wie Hydrochinon und Resorzin setzten zwar sehr energisch den direkten Giftwert herunter, verminderten aber auch in sehr bedeutendem Grade den indirekten Giftwert; das können wir aber durch Erhitzen der Giftlösungen noch viel schneller erreichen.“

Es existiert eine einzige Angabe in der Literatur über die Entgiftungsmöglichkeit des Tetanustoxins mit Erhaltung der immunisierenden Komponente. Ehrlich beschreibt ein Tetanustoxin, das er durch Kontaktbehandlung mit (CS₂) Schwefelkohlenstoff nahezu völlig entgiftet hat; der Verfasser, der diese Angaben Ehrlichs in vollem Umfange bestätigen kann, wird diesbezügliche Versuchsreihen in kurzem veröffentlichen. Hier sei nur mitgeteilt, daß auch dieser Entgiftungsmodus selbst bei Anwendung (50 Prozent) großer Mengen von Schwefelkohlenstoff 2 bis 3 Monate in Anspruch nimmt.

Gegenüber anderen chemischen Agentien erwies sich das Tetanusgift viel labiler als andere gut studierte Gifte. Während nach Dörr das Diphtherie- und Dysenterietoxin durch Mineralsäuren in atoxische Modifikationen übergeführt werden kann, die nach Neutralisierung wieder alle Charakteristika annehmen, „wird das Tetanustoxin durch Säuren so weit abgebaut, daß eine Restitution des ursprünglichen Moleküls nach Aufhebung der Säurewirkung nicht mehr eintritt“. (Dörr.)

Es mußten also schonendere Methoden ausfindig gemacht werden. Vor mehr als 7 Jahren hat Verfasser begonnen, die Versuche Behrings fortzusetzen. Ein Teil jener Versuche ist in der Arbeit „Über Katalasen in Bakterienfiltraten“¹ enthalten.

In den dort beschriebenen Entgiftungsversuchen durch Superoxyde (Wasserstoff- und Calcium superoxyd) wurde gezeigt, daß durch den naszierenden Sauerstoff das Tetanustoxin in allen seinen drei Funktionen, die uns bis jetzt bekannt sind, zerstört wird. Auch bei anderen Versuchen mit Platinmoor, Zinnchlorür, ergaben sich Resultate, die mit denen von Behrings völlig übereinstimmen: Es gelang in keinem einzigen Falle, die immunisierende Komponente bei völliger Entgiftung zu konservieren.

Auch die Versuche durch fraktionierte Erhitzung bis zu 65°, 68°, 70° eine Ausscheidung der giftigen Komponente zu erzielen, wie es C. Fraenkel bereits 1890 für das Diphtheriegift zuerst angegeben, führten hier zu keinem brauchbaren Resultat; auch dann nicht, als die Bouillonfiltrate mit Formalin zusammen auf 70° erhitzt wurden. Dabei lag die Absicht zugrunde — der Versuch war wohl berechtigt —, das Toxinmolekül gewissermaßen in seiner Struktur zu fixieren, denn nach einer oft bestätigten Beobachtung Blums verlieren formalinhaltige Eiweißlösungen zum Teil ihre Gerinnbarkeit.

In den sehr umfangreichen Arbeiten von Behrings über den Tetanus finden wir eine Beobachtung ganz scharf gefaßt, die für den weiteren Gang meiner Untersuchung von ausschlaggebender Bedeutung hätte sein müssen, wenn ich sie nicht übersehen hätte:

„Von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß die Einwirkung des Tageslichtes und des direkten Sonnenlichtes zwar einen stark modifizierenden Einfluß auf Tetanusgiftlösungen ausübt, aber in ganz anderer Weise als das Erhitzen auf 65° und darüber. Der indirekte Giftwert bleibt nach der Belichtung fast völlig erhalten, und die Abschwächung des direkten Giftwertes für Mäuse betrifft in erheblichem Grade nur den Wert für die tödliche Minimaldosis, nicht für die krankmachende Minimaldosis, so daß belichtete Tetanusgiftlösungen einen außerordentlich hohen D-Wert bekommen, der bis über Hundert steigen kann. Bei geeigneter Versuchsanordnung, deren Auffindung noch weiter von uns verfolgt wird, wird danach wahrscheinlich die Benützung der Lichtwirkung sich sehr gut für die schnelle Herstellung stark modifizierter Tetanusgiftlösungen eignen.“²

Nun war es eine jedem Bakteriologen geläufige Tatsache, daß die Giftigkeit eines jeden Toxins im Lichte abnimmt, aber mangels systematischer

¹ *Wiener klin. Wochenschrift*. 1903. Festnummer für Robert Koch.

² *Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten*. 1899.

Untersuchungen fehlte jede nähere Vorstellung über diesen Entgiftungsmodus. Derartige Untersuchungen waren nur für eine Reihe von Fermenten angestellt worden. So haben Fermi und Pernossi eine Abschwächung von Pepsin und Trypsin im Sonnenlichte konstatiert.

Auch die bakteriellen Enzyme, welche die Gelatine verflüssigen, entfalten im dunkeln eine regere Wirksamkeit. Green beschäftigte sich mit der Wirkung des Lichtes auf die Diastase und fand, daß die diastatischen Enzyme dem Lichte ausgesetzt an Wirksamkeit einbüßen. Auch Schmidt-Neelsen zeigte, daß das Chymosin und sein Proferment durch konzentriertes elektrisches Licht eine gewisse, wenn auch geringe Schädigung erfahre. Schließlich gehören hierher auch noch die Untersuchungen von Tappeiner und seinen Schülern Stark, Jodlbauer, Raab, Jakobsohn, welche ergaben, „daß Eosin, Magdalarot und Chinolinrot die Lösungen von Diastase, Invertin, Papayotin im Tageslichte kräftig beeinflussen.“

Tageslicht allein hingegen vermag nach Stark nicht, reine Enzymlösungen zu beeinflussen.

Einfluß des Tageslichtes auf Tetanustoxinlösungen.

Im Januar 1904 war ein Toxin mit verschiedenen Desinfizientien versetzt in hellen Flaschen dem Lichte exponiert worden. Bei der Auswertung im August 1904 ergab sich, daß nur eine einzige Flasche ein völlig entgiftetes Toxin enthielt; hier war Formalin als Desinfiziens angewendet worden und zwar so, daß das Toxin 2 Promille Formalin enthielt. Da hier ein Zufall im Spiel sein konnte, wurde im September 1904 der Versuch in derselben Weise wiederholt und Kontrollproben in dunklen Flaschen im Eisschrank aufbewahrt. Die tödliche Minimaldosis des Ausgangstoxins betrug 1:32 000 für 10^gm Maus.

Am 1. X. wurden Giftlösungen wieder austitriert und ergaben noch keine Veränderung ihrer Wirksamkeit. Erst die am 23. X. vorgenommene Auswertung ergab einen sichtlichen Toxinverlust, wie das nachstehende Protokoll zeigt.

23. X.	24. X.	25. X.	26. X.	27. X.	28. X.	29. X.	2 XI.
Unberechnet $\frac{1}{30\,000}$	0	0	—?	—	—	—	—
Kopf rot $\frac{1}{10\,000}$	0	—	=	≡	+		
Rechter Vf. rot $\frac{1}{1\,000}$	0	—	≡	+			
Linker Vf. rot $\frac{1}{100}$	0	=	+				
Rücken rot $\frac{1}{10}$	=	+					
Rechter Hinterfuß $\frac{5}{10}$	+						

Am 23. XII. 05 wurde derselbe Versuch wiederholt und ergab, daß $\frac{1}{10000}$ den Tod noch nach 7 Tagen herbeiführte. Das Toxin in der dunklen Flasche erwies sich noch nicht abgeschwächt.

Am 16. I. war die Dosis $\frac{1}{10000}$ nicht mehr tödlich.

Am 14. II. war der Giftwert auffallend herabgegangen, indem erst 0.002 ^{cem} den Tod nach 5 Tagen zur Folge hatten.

Am 23. IV. war die Entgiftung so weit vorgeschritten, daß 0.01 ^{cem} den Tod erst am 6. Tage bewirkte.

Am 28. V. erwies sich 0.5 ^{cem} als unschädlich, 1.0 nicht geprüft.

Am 13. VI. wurde auch 1.0 ^{cem} ohne sichtbare Krankheitserscheinungen vertragen.

Um dieselbe Zeit erwies sich dasselbe Toxin in der dunklen Flasche noch sehr giftig, 0.0001 tötete noch nach 5 Tagen, ja selbst die Giftbestimmung am 22. VI. 07 ergab, daß der Giftwert nicht unter 0.0005 gesunken war.

Es geht also aus diesem Versuch einwandfrei hervor, daß dem diffusen Tageslichte die wesentlichste Rolle beim Entgiftungsprozeß zugesprochen werden muß. Zwar waren mehr als neun Monate notwendig, um das Toxin zu zerstören. Trotzdem erscheint die Zeit nicht zu lang, wenn man bedenkt, daß im vorliegenden Falle — die Flasche enthielt 200 ^{cem} Toxin — 6 400 000 tödliche Dosen für die Maus entgiftet worden sind.

Es wäre aber weitgefehlt, die Durchschnittstagesleistung berechnen zu wollen, da die Entgiftung durchaus nicht gleichmäßig vorschreitet. Im Anfang geht die Entgiftung sehr langsam vor sich, wie die nur im Auszuge wiedergegebenen Protokolle beweisen.

Das Verhalten des Tetanustoxins entspricht hier völlig dem Verhalten anderer lichtempfindlicher Substanzen. Auch hier ist die in Erscheinung tretende Anfangswirkung eine geringe, erst nach Ablauf der „Induktionsperiode“ kann man die eintretenden Veränderungen klar erkennen.

Offenbar haben auch hier die Gesetze der photochemischen Induktion, wie sie von Bunsen und Roscol für das lichtempfindliche Gemisch von Chlor und Wasserstoff ermittelt worden waren, Geltung.

„Eine Induktionswirkung des Lichtes scheint ja auch bei den meisten photographischen Prozessen einzutreten, nur ist die Induktionszeit hier so kurz, daß man sie kaum nachweisen kann. Nur bei sorgfältigen Untersuchungen ergibt sich, daß unterbrochene Belichtung auf Bromsilberplatten nicht so stark wirkt wie kontinuierliche Belichtung mit der gesamten Lichtmenge“.¹

Die Umsetzungen in der Tetanusbouillon beginnen also erst dann, wenn eine gewisse Menge Licht absorbiert ist. Erst dann setzt der Entgiftungsprozeß ein und schreitet auch fort, wenn die Einwirkung des

¹ Zitiert nach Eder, *Photochemie*.

Lichtes aufgehört hat. Giftproben, deren Titer nach der Exposition festgestellt worden war, gingen in der Folge noch bedeutend zurück in ihrem Giftwert trotz Aufbewahrung im Eisschrank. Eine ähnliche Beobachtung Greens führt Neelsen an. Diastaselösungen, welche durch die Belichtung 42 Prozent ihrer Wirksamkeit eingebüßt hatten, wiesen nach 6 wöchentlicher Aufbewahrung im Eisschrank nur Spuren ihrer früheren Wirkung auf.

„Schließlich vermag auch die in Lichtstimmung (Photonus) versetzte Pflanze nach Entziehung der Beleuchtung normal weiterzuarbeiten, bis endlich bei dauerndem Aufenthalt im dunkeln Starre eintritt oder die Wachstumsfähigkeit in abnorme Bahnen gelenkt wird.“ (Pfeffer, Pflanzenphysiologie, Kraftwechsel.) Ebenso genügt beim Tetanustoxin der durch die intensive Lichtabsorption erhaltene Anstoß, um den chemischen Prozeß der Entgiftung zu Ende zu führen. Dieser Prozeß verläuft bei 37° schneller als im Eisschrank.

Wie sich also aus dem vorhergehenden ergibt, muß das diffuse Tageslicht durch eine sehr lange Zeit einwirken, wenn das Toxin völlig entgiftet werden soll. Die Einwirkung des direkten Sonnenlichtes dürfte intensiver sein, doch war es leider nicht möglich, hier systematische Untersuchungen anzustellen. Jedenfalls hat eine durch 22 Tage fortgesetzte Exposition zwar einen erheblichen Giftverlust, aber bei weitem nicht eine für praktische Zwecke brauchbare Abschwächung zur Folge gehabt.

Übrigens fand auch Emmerling 1901, daß das Sonnenlicht eine verhältnismäßig schwache Einwirkung auf Ferment erkennen lasse. Oft konnte ein schädlicher Einfluß kaum nachgewiesen werden (Invertin, Laktase, Emulsin, Amylase); sichere Wirkung wurde hingegen bei Chymosin und Maltase beobachtet.

Für systematische Untersuchungen am Tetanustoxin ist das Sonnenlicht deshalb nicht geeignet, weil man von den meteorologischen Verhältnissen zu sehr abhängig ist.

Um eine möglichst gleichmäßige und genau dosierbare Belichtung durchzuführen, ist deshalb die Verwendung von künstlichem Licht notwendig. Wegen ihres gleichmäßigen, ruhigen und wärmearmen Lichtes wurde die Nernstlampe gewählt.

Das Licht wurde mittels eines Blechemailleschirmes in einen großen Blecheimer (alte Konservenbüchse) geworfen, dessen Boden und oberer Innenrand durchlocht waren, um durch genügende Ventilation ein Anstauen der Wärme zu verhüten. Das Nernstlicht selbst entfaltet keine besondere Wärmewirkung. In einer 16 tägigen Bestrahlungsperiode, während welcher der Deckel nicht gelüftet worden war, betrug die Höchsttemperatur 33.6. Das Thermometer lag am Boden des Gefäßes.

Als Giftlösungen kamen stets nur Pukallfiltrate von Bouillonkulturen in Verwendung, die in kleine Bechergläser von 40^{ccm} Inhalt verfüllt wurden.

Nur dort, wo es ausdrücklich hervorgehoben ist, kam ein sporenfreies, durch Ammonsulfatfällung aus dem Filtrat gewonnenes Präparat zur Belichtung.

Auf das reine Tetanustoxin wirkt das Nernstlicht zwar intensiver als das diffuse Tageslicht ein, aber hier scheint der Verlauf der Vergiftungskurve doch ein ganz anderer zu sein. Während bei dem Tageslichte mit einer langen Induktionsperiode, aber einer sehr weitgehenden Entgiftung gerechnet werden kann, fällt hier der Giftwert bis zu einer bestimmten Grenze in kurzer Zeit (96 Stunden) steil ab, um sich dann lange, oft während der ganzen Beobachtungszeit auf dieser Höhe zu halten. Dieses Verhalten wird durch das Schicksal der Giftlösung VII veranschaulicht. Denn nach 72 stündigem Bestrahlen durch eine $\frac{1}{4}$ Ampère-Nernstlampe war der Giftwert von 0.01 auf 0.05 gesunken, welcher in 9 Tagen noch den Tod herbeiführte. Dieser Wert änderte sich aber nicht mehr, trotzdem die Belichtung noch 16 Tage fortgesetzt wurde. Hier handelte es sich um ein Ammonsulfatgift.

Die Giftbouillon Halle, deren zugehörigen Stamm ich der Liebenswürdigkeit des Hrn. Geheimrat Prof. Fraenkel verdanke, erwies sich noch resistenter, hier war der Giftwert überhaupt nicht gesunken; denn die Giftbestimmung am 22. IV. hatte ergeben, daß 0.0002 noch schweren Tetanus auslöste. Die Austitrierung nach 2, 4, 6, 10 Tagen ergab, daß 0.0002 sogar nach 10 Tagen noch allerdings die Maus zu töten imstande war, während nach 14 Tagen die Maus mit derselben Dosis mit schwerem Tetanus davon kam.

Der Einfluß des Nernstlichtes auf lichtempfindlich gemachtes Tetanustoxin.

Der Entgiftungsprozeß tritt aber in unglaublich kurzer Zeit in Erscheinung, wenn die Giftlösung für die Lichtwirkung sensibilisiert wird.

Die nächstliegenden Versuche beschäftigten sich damit, die Versuche Tappeiners und seiner Schüler fortzusetzen. Dabei ergab sich die auffallende Tatsache, daß Ammonsulfatgiftlösungen viel besser durch Eosin zersetzt wurden, als Bouillongiftlösungen; gerade die letzteren erwiesen sich gegenüber diesem Entgiftungsmodus verhältnismäßig stabil, wie der Versuch vom 22. III. 1907 beweist:

Eosin-Bouillon 72 Stunden $\frac{1}{4}$ Ampère.

	23. III.	24. III.
0.001	≡ schwerer Tetanus	+
0.01	Tetanus, im Sterben.	
0.1	+	
1.0	+	

Das Ammonsulfattoxin war hingegen völlig entgiftet worden. Zur Entscheidung der Frage, wie weit das Toxinmolekül dabei verändert worden ist, wurden am 11. III. fünf Meerschweinchen mit 5 bis 7 ^{ccm} der entgifteten Lösung injiziert. Die am 26. III. 07 vorgenommene Prüfung mit der 3 bis 10fach tödlichen Dosis ergab bei allen Tieren Tetanus und Tod am 30. III.

Die Giftzerstörung, die das Licht durch die fluoreszierenden Farbstoffe bewirkt, ist also eine so tiefgreifende, daß die immunisierende Komponente nicht erhalten bleibt.

Das Verhalten der Formalinbouillon.

Von den Desinfizientien, die bei den Versuchen über den Einfluß des Tageslichtes zur Verwendung gekommen waren, gestattete nur das Formalin den Schluß, daß es nachdrücklich die Wirkung des Lichtes unterstütze.

Deshalb wurden 1 Promille Formalinbouillongiftlösungen unter den oben beschriebenen Bedingungen dem Lichte einer Nernstlampe von $\frac{1}{4}$ Ampère ausgesetzt. Zur Verwendung kam das Toxin Halle, von dem 0.0002 noch schweren Tetanus auslöste, der aber noch langsam in Genesung überging; 0.0003 tötete in 10 Tagen. Zu der Beurteilung der folgenden Protokolle muß vorausgeschickt werden, daß durch den Formalinzusatz die Inkubationszeit des Tetanus um ungefähr 12 Stunden verlängert wird.

Toxinbestimmung nach $5\frac{1}{2}$ Stunden Belichtung.

Kopf rot	1:1000	0	0	0	0	kein Tetanus.
R. Vf. rot	1:100	0?	—?	=	≡	+
L. Vf. rot	1:10	—	+			
Rücken rot	0.5	≡	+			

Toxinbestimmung nach 24 Stunden Belichtung.

Kopf rot	1:1000	kein Tetanus.
R. Vf. rot	1:100	kein Tetanus.
L. Vf. rot	1:10	0 —? = +
Rücken rot	0.5	—? = +
Steiß rot	1.0	— +

Toxinbestimmung nach 48 Stunden Belichtung.

Kopf rot	1:1000	kein Tetanus.
R. Vf. rot	1:100	kein Tetanus.
L. Vf. rot	1:10	nach 5 Tagen beginnender Tetanus, nach weiteren 6 Tagen +.
Rücken rot	0.5	nach 6 Tagen an Tetanus +
Rücken rot	0.5	" 6 " " +
Steiß rot	1.0	" 4 " " +

Nach 70 Stunden Belichtung. $\frac{1}{4}$ Ampère.

Rücken rot	0.1	11 Tage beobachtet, kein Tetanus.
R. Hinterfuß	0.5	nach 6 Tagen Tetanus, nach 3 Tagen Tod.
L. Hinterfuß	1.0	" 4 " " " 3 "
R. Vf. rot	1.0	nach 5 Tagen Tod an Tetanus.

Nach 96 Stunden Belichtung.

Kopf rot	0.25	nach 5 Tagen Tetanus, nach 3 Tagen Tod.
R. Vf. rot	0.5	" 5 " " " 2 " "
L. Vf. rot	0.5	" 5 " " " 2 " "

Nach 144 Stunden Belichtung.

Kopf rot	0.25	kein Tetanus.
R. Vf. rot	0.5	nach 6 Tagen Tetanus, nach 3 Tagen Tod.
L. Vf. rot	1.0	" 4 " " " 2 " "

Nach 240 Stunden Belichtung.

Kopf rot	0.5	kein Tetanus.
R. Vf. rot	1.0	kein Tetanus.
L. Vf. rot	2.0	Tod an Tetanus in 9 Tagen.

Nach 14 Tagen Belichtung

bleiben auch die Mäuse, welche 2.0^{cem} erhalten haben, gesund.

Hier verläuft der Entgiftungsprozeß also außerordentlich rasch. Zuerst setzt er ein mit einer Verlängerung der Inkubationszeit, jedoch ist dieselbe nicht allein auf Rechnung der Lichtwirkung zu setzen, sondern hier spielt zweifellos die Formalinkonzentration eine wesentliche Rolle mit, je stärker die Formalinkonzentration, desto mehr wird die Resorption erschwert. Nach $5\frac{1}{2}$ Stunden ist der Giftgehalt auf $\frac{1}{5}$ gesunken, nach 24 Stunden ist der Giftabbau so weit vorgeschritten, daß nicht mehr $\frac{1}{50}$ des früheren Giftgehaltes vorhanden ist; denn nach 24 Stunden hat 0.01 überhaupt keine Krankheitserscheinungen mehr ausgelöst, während 0.1 noch nach 5 Tagen getötet hat. Leider fehlt hier eine Zwischenbestimmung, aber trotzdem wird man schätzungsweise mit der Behauptung nicht zu weit

gehen, daß der Giftgehalt der Formalinbouillon durch eine 24stündige Belichtung auf $\frac{1}{100}$ seiner früheren Titer zurückgegangen ist. Die Entgiftungskurve würde also folgenden Verlauf haben.

Also auch hier vollzieht sich die letzte Phase des Entgiftungsprozesses bedeutend langsamer. Möglicherweise spielt die Salzkonzentration eine gewisse Rolle, dafür spricht auch, daß Ammonsulfatgifte gegen diesen Entgiftungsmodus viel resistenter sind.

Andererseits finden wir auch Analogien in der Biologie dafür, daß höhere Salzkonzentrationen die Stabilität des Eiweißmoleküls erhöhen. Die erste diesbezügliche Beobachtung stammt wohl von Buchner 1890, der die Resistenz des Serum-eiweißes gegen Erwärmung durch höhere Salzkonzentration erhöht fand. Ja sogar Algen vertragen Temperaturen von 60 bis 70°, wenn die Salzkonzentration wie im Geyser auf Island oder im Karlsbader Sprudel eine höhere ist.¹

Nachträgliche Verdünnungen der belichteten Bouillon, die ja diese Fragen sofort beantworten müßten, habe ich leider nicht vorgenommen, so muß es offen gelassen werden, ob diese Erklärung unter den anderen naheliegenden die richtige ist. Auch für Konservierungszwecke sind ja höhere Salzkonzentrationen üblich und gerade für das Tetanustoxin hat Knorr die Aufbewahrung in 10 prozentiger Kochsalzlösung als besonders geeignet zur Titerfixierung empfohlen.

Die schwächere Wirkung des diffusen Tageslichtes muß wohl in Differenzen zwischen diesem und dem künstlichen Lichte seine Ursache haben. Sehr naheliegend ist anzunehmen, daß die Quantität des Lichtes eine verschiedene ist. Dadurch, daß das Nernstlicht durch längere Zeit aus einer Nähe von 40 cm ununterbrochen einwirken kann, können sich seine Wirkungen eher summieren und eher einen sichtbaren Endeffekt herbeiführen. Wahrscheinlicher insbesondere durch die folgenden Versuche ist aber, daß die Differenz der Wirkung auf der Differenz der Qualitäten der beiden Lichtarten beruht. Nach den Untersuchungen der letzten Jahrzehnte unterscheidet sich natürliches Licht vom künstlichen auch darin, daß bei letzterem die kurzwelligen Strahlen schwächer vertreten sind. Auch im chemischen Verhalten lassen sich leicht Unterschiede nachweisen. Es sei hier nur eine Beobachtung aus meiner photographischen Praxis

¹ Vgl. Loewenstein, *Strasburger Botanik*.

mitgeteilt. Kaliumbichromatpapierblätter sind für Tageslicht relativ recht empfindlich, während sie dem Nernstlicht gegenüber eine auffallend geringe Empfindlichkeit besitzen.

Beschickt man das Vogelsche Skalenphotometer mit einem durch Kaliumbichromat sensibilisierten Papierstreifen und exponiert es dann dem Tageslicht auch unter schlechten meteorologischen Verhältnissen, so hat man in der Regel nach 10 bis 15 Minuten 12 Grade erreicht. Um denselben Effekt beim Nernstlicht zu erzielen, sind sogar bei einer $\frac{1}{2}$ Ampèrelampe bei 35^{cm} Entfernung 3 bis 4 Stunden notwendig. Auf Bromsilber wirkt Nernstlicht so rasch wie Tageslicht.

Wenn also die alte Auffassung nach Ritter und Davy noch uneingeschränkt Geltung hätte, so müßte man annehmen, daß im natürlichen Lichte die reduzierenden Wirkungen vorherrschen müssen wegen seines Gehaltes an stärker brechbaren Strahlen. Die künstlichen Lichtquellen müssen wegen des geringeren Gehaltes an stark brechbaren Strahlen die oxydativen Wirkungen mehr hervortreten lassen.

Die Autoren, welche sich mit dem Studium der Wirkung des einfarbigen Lichtes auf Fermente befaßt haben, sind sämtlich zu dem Schluß gekommen, daß die ultravioletten Strahlen die Träger der charakteristischen Lichtwirkung seien. Diese Beobachtung Greens für die Diastase wurde von Schmidt-Neelsen auch für das Chymosin bestätigt; hier ließ sich sogar die Schutzwirkung des ungefärbten Glases gegenüber dem konzentrierten Bogenlicht demonstrieren.

Man hätte nun beim Tetanustoxin das gleiche Verhalten vorausgesetzt, nämlich daß der violette Teil des Spektrums die wirksamen Strahlen enthalte. Aber der folgende Versuch bewies, daß diese Voraussetzung nicht zutreffend ist.

In kleinen Bechergläsern wurden gleiche Quantitäten Toxin unter Farbfiltren aus Glas exponiert; je eine Kontrolle unter ungefärbtem Glase. Zwar soll das ungefärbte Glas alle ultravioletten Strahlen zurückhalten, doch konnte dieses Moment in Wegfall kommen, da alle Versuche zur Vermeidung einer zu starken Einengung unter ungefärbtem Glase vorgenommen worden waren.

Versuch vom 5.IV. 07. $\frac{1}{4}$ Ampère 24 Stunden.

Rotfilter.

Kopf rot	0.001	kein Tetanus, 15 Tage beobachtet.
R. Vf. rot	0.01	" " " 15 " "
L. Vf. rot	0.1	nach 7 Tage Beginn, am 20. deutlicher Tetanus genest.
Rücken rot	1.0	8. IV. Tetanus. 10. IV. +.
R. Htf. rot	0.5	9. IV. Tetanus. 10. IV. abends +

Blaufilter.

Kopf rot	0·001	9. IV. Tod nicht an (Tetanus?).
R. Vf. rot	0·01	18. IV. Tetanus, 20. IV. +
L. Vf. rot	0·1	9. IV. Tetanus, 10. IV. +
Rücken rot	0·5	9. IV. +
Steiß rot	1·0	9. IV. +

Gelbfilter.

Kopf rot	0·001	kein Tetanus.
R. Vf. rot	0·01	19. IV. Tetanus, 22. IV. +
L. Vf. rot	0·1	13. IV. Tetanus, 17. IV. +
Rücken rot	0·5	9. IV. ≡, 10. IV. + abends.
Steiß rot	1·0	9. IV. ≡, 10. IV. +

Auch nach 48, 70 und 96 Stunden blieb die Überlegenheit der roten und gelben Strahlen konstant, wenn auch die großen Unterschiede, die sich nach 24 Stunden nachweisen ließen, sich abschwächten. Nach diesem Versuchsausfall erschien es sogar möglich, daß das rote Licht allein dieselbe Wirkung wie Weißlicht enthalten werde. Deshalb wurde dieser „Dreifarbenversuch“ durch einen „Kontrastversuch“ ergänzt.

Versuch vom 16. IV.

40^{cem} Bouillon, die bereits 48 Stunden exponiert worden waren, werden geteilt, 20^{cem} nur unter rotem, 20^{cem} nur unter weißem Licht, bestrahlt. Die Toxinbestimmung ergibt:

Rotfilter.

Kopf rot	0·01	kein Tetanus.
R. Vf. rot	0·1	kein Tetanus.
L. Vf. rot	0·5	kein Tetanus.
Rücken rot	1·0	27. IV. Tetanus, 28. IV. +.

Weißlicht (Kontrollen).

Kopf rot	0·01	kein Tetanus.
R. Vf. rot	0·1	„ „ (Injektion ungenau).
L. Vf. rot	0·5	„ „
Steiß rot	1·0	26. IV. Tetanus, 27. IV. +.
L. Htf. rot	0·1	kein Tetanus.

Also kommt tatsächlich beim Entgiftungsprozeß den roten Strahlen des Spektrums die Hauptrolle zu. Zwar wirkt dieses verschiedene Verhalten von Toxin und Ferment, die miteinander doch so viele Züge gemeinsam haben, überraschend. Andererseits ist aber doch schon die Bedeutung des langwelligen Anteiles des Spektrums beim Assimilationsprozeß der Pflanzen festgestellt. Auch hier sind die stark brechbaren Strahlen nur in geringem Maßstabe beteiligt.

Aber auch eine andere Beobachtung spricht für dieses Ergebnis.

Beim Studium der Frage, welche Bedeutung für den Entgiftungsprozeß die verwendete Lichtmenge besitzt, war ich natürlich von der Voraussetzung geleitet worden, den Entgiftungsprozeß durch größere Lichtmengen vielleicht sogar in proportionalem Verhältnis beschleunigen zu können.

Deshalb wurde dieselbe Bouillon wieder geteilt und dieselbe Quantität je unter einer $\frac{1}{4}$ und je einer 4 Ampère Nernstlampe exponiert.

Intensitätsversuch nach 6 Stunden (2 promill. Formalinlösung).

4 Ampère.	$\frac{1}{4}$ Ampère.
0.001 nach 5 Tagen Tetanusbeginn, am 9. Tage +	kein Tetanus
0.01 nach 2 Tagen starker Tetanus, am 4. Tage +	nach 4 Tagen starker Tetanus, am 6. Tage +
0.1 am 2. Tage +, außerdem =	am 3. Tage +
0.5 am 2. Tage +	am 2. Tage +

Nach 24 Stunden Exposition.

4 Ampère.	$\frac{1}{4}$ Ampère.
0.001 kein Tetanus	kein Tetanus
0.01 am 8. Tage Tetanus, am 13. Tage +	kein Tetanus
0.1 am 3. Tage Tetanus, am 5. T. +	am 8. Tage Tetanus, am 10. Tage +
0.5 am 3. Tage +	am 4. Tage +
1.0 am 3. Tage +	am 4. Tage +
1.0 am 3. Tage +	am 4. Tage +

Nach 70 Stunden Belichtung.

4 Ampère.	$\frac{1}{4}$ Ampère.
0.1 nach 11 Tagen Tetanus, am 16. Tage +	kein Tetanus
0.5 nach 4 Tagen Beginn, am 6. Tage +	am 9. Tage Beginn, am 10. Tage +
1.0 am 3. Tage + an Tetanus.	am 3. Tage Beginn, am 7. Tage +

Dehnt man die Exposition noch länger aus, so verwischen sich auch hier die Unterschiede, aber jedenfalls geht aus dem Versuche hervor, daß der Entgiftungsprozeß verzögert wird; wenn die Lichtmenge eine zu große ist. Je intensiver die Lichtquelle ist, desto größer ist auch ihr Reichtum an stark brechbaren Strahlen. Es stimmt also das Resultat des Dreifarbenversuches mit dem des Intensitätsversuches völlig überein.

Der Entwicklungsversuch.

Um einen Aufschluß über das Wesen des Entgiftungsvorganges zu erhalten, mußte vor allem die Möglichkeit ausgeschlossen werden, daß das Formalin selbst oder die fast stets in den käuflichen Präparaten vorhandene Ameisensäure die Entgiftung bewirke. Im Eisschranke halten sich Formalingiftlösungen sehr lang, wie aus dem obigen Versuchsprotokoll hervorgeht, nur die Inkubationszeit wird durch die negativ chemotaktische Wirkung des Formalins ausgedehnt. Immerhin mußte erst der Einwand behoben werden, daß die aus dem Formaldehyd durch Lichtwirkung entstehende Ameisensäure das entgiftende Agens sei. Deshalb wurden Ameisensäureverdünnungen von 0.1 bis 0.000001 mit je 2^{cem} Giftbouillon versetzt und nach 70 Stunden geprüft, es ließ sich keine wesentliche Abschwächung nachweisen.

Der nächste Gedanke war der, daß das Licht allein eine molekulare Veränderung bewirke, die durch den Formalingehalt erst weitergeführt wird, genau so, wie beim photographischen Entwicklungsprozeß der durch die Lichtwirkung eingeleitete chemische Vorgang durch den „Entwickler“ zu Ende geführt wird.

Ein reines Toxin — ohne einen konservierenden Zusatz —, das trotz einer 14 tägigen Belichtungszeit seinen Titer festgehalten hatte, wurde mit einer Formalinlösung so gemischt, daß ein Formalingehalt von 1:500 resultierte. Nach vier und 22 Stunden wurden dann Giftbestimmungen vorgenommen, die völlig einheitlich ein Ausbleiben der Entgiftung ergaben. So muß auch dieser Erklärungsversuch als mißlungen angesehen werden.

Zur Entgiftung ist eben die gleichzeitige Anwesenheit beider Faktoren notwendig.

Trotzdem dürfte es noch sehr schwierig sein, über die chemische Natur des Entgiftungsprozesses ins klare zu kommen. Gewiß sind die chemischen Prozesse, welche durch das Licht ausgelöst werden, außerordentlich mannigfaltig und abhängig von der Natur des lichtempfindlichen Körpers.

Der Giftwert des Tetanustoxin nimmt auch im Dunkeln, wenn auch sehr langsam, ab. Es kann daher der rasche Ablauf des Entgiftungsprozesses auf die katalytische Wirkung des Lichtes zurückgeführt werden, denn durch die Wirkung des Lichtes verläuft ein Vorgang, der sonst Jahre beansprucht, innerhalb kurzer Zeit (Pigmentprozeß, Ferriehlorid und Oxalsäure).

Bei der völligen Unkenntnis über den Chemismus der Toxinwirkung läßt es sich nicht entscheiden, ob es sich vielleicht sogar um einfache chemische Vorgänge, Oxydation oder Reduktion handelt, da beide Prozesse nebeneinander in der Bouillon verlaufen.

Die Oxydation des einen Bestandteils geht der Reduktion des anderen parallel.

Außerdem ist das Licht befähigt, molekulare Umwandlungen einzuleiten, als deren einfachste Beispiele Schwefel, Phosphor, Chinin, Arsen in Erinnerung sind.

„Hierher gehört auch die Beobachtung, daß Sauerstoff O_2 beim Bestrahlen mit ultraviolettem Licht in Ozon O_3 übergeführt wird. In anderen Fällen begünstigt das Licht einen Transport der Atome des Sauerstoffs oder anderer Körper innerhalb eines Moleküls, also gewissermaßen eine intermolekulare Oxydation, wobei Zerfall der Verbindung oder bei organischen Verbindungen die Entstehung einer isomeren Verbindung eintritt.“

Wir kennen photochemische Synthesen und Zersetzungen, wir kennen auch eine Reihe solcher photochemischer Vorgänge, welche wir durch Wärme oder chemische Eingriffe zu denselben Endprodukt führen können. Aber es gibt doch auch Prozesse, bei denen wir die Lichtwirkung durch keine andere Energieform ersetzen können, z. B. die Schwärzung des weißen Chlorsilbers im Licht. „Es ist bemerkenswert, daß diese Zersetzung des Chlorsilbers keinesfalls durch Hitze bewirkt wird, sondern daß das Chlorsilber sogar in der Glühhitze kein Chlor abgibt, während aber durch Lichtwirkung so gar bei niedriger Temperatur die photographische Schwärzung des Chlorsilbers unter Ausscheidung von Chlor herbeigeführt wird“ (zit. nach Eder „Photochemie“).

Ähnlich liegen die Verhältnisse auch beim Tetanustoxin, es gibt zwar viele Methoden, durch die man eine Zerstörung des Toxins erreicht, aber nur wenige, bei denen die Entgiftung sich auf eine so schonende Art vollzieht, daß nur die Giftwirkung des Toxins völlig zerstört wird und die beiden anderen uns bekannten Funktionen, die Immunitäts erzeugung und Antitoxinung völlig erhalten bleiben.

Gerade beim Tetanustoxin existieren nur wenige diesbezügliche Angaben. Außer der oben zitierten Arbeit Ehrlichs stehen die umfassenden Arbeiten Behrings über den indirekten Giftwert des Tetanustoxin vereinzelt da. Während Ehrlich eine völlige Entgiftung geglückt war, hat Behring trotz einer nahezu erschöpfend systematischen Untersuchung nie eine völlige Entgiftung erzielt; deshalb hat er in seinen Arbeiten auch nirgends die Frage einer aktiven Tetanusschutzimpfung berührt.

Versuche über aktive Immunisierung bei Mäusen.

Die ersten Versuche wurden mit dem durch diffuses Tageslicht entgifteten Toxin angestellt:

Am 15. VI. 06 erhalten je 3 Mäuse je 1 bzw. 2 ^{cem} der Tetanusbouillon subkutan, am 22. VI. wurde die Injektion wiederholt und am 10. VII. die Immunitätsprüfung angeschlossen: 2 Mäuse erhalten die zweifache, 2 Mäuse die fünffache und 2 Mäuse die zehnfache tödliche Dosis. Während die Kontroll-

tiere sämtlich prompt an Tetanus zugrunde gingen, bot keine einzige Versuchsmaus ein Krankheitssymptom.

Dieser Versuch kam in den verschiedenen Variationen noch sehr häufig in den folgenden Jahren zur Ausführung und ergab stets ein positives Resultat, wenn die Schutzimpfung nach frühestens 14 Tagen auf ihren Effekt geprüft wurde. Bei Mäusen war es nicht möglich, mehr wie 2.5 ccm auf einmal zu injizieren, deshalb waren die Versuchsergebnisse nicht so konstant, wenn die Mäuse nach einer einmaligen Injektion von 2.5 ccm mit höheren Toxindosen geprüft wurden.

In erster Linie ist das Resultat der Schutzimpfung und die Höhe der erreichten Immunität von dem Giftgehalt der Ausgangsbouillon abhängig.

Wenn die Filtrate der Bouillonkultur nur einen derartigen Giftwert besitzen, daß etwa 0.001 ccm erst eine Maus von 15 gm tötet, erhält man auch nur eine mittelmäßige Vaccine. Verwendet man dagegen eine Ausgangsbouillon, deren Gittiter 1:40.000 Tod oder Krankheitserscheinungen auslöst, so erhält man durch die Belichtung der formalinierten Bouillon eine Vaccine, welche auch durch eine einzige Injektion Mäuse nahezu unbegrenzt zu schützen vermag.

In mehreren Versuchen waren nur schwache Toxinbildner zur Giftproduktion verwendet worden, da die Möglichkeit doch nicht auszuschließen war, daß diese Tetanusstämme zwar nur wenig Gift, aber doch die immunisierende Komponente des Toxins aus der Bouillon aufbauen könnten; in allen diesen Versuchen war die Vaccine direkt unbrauchbar; es ließen sich dann weder Antitoxin noch Immunität erzeugende Substanzen auffinden.

Überhaupt erwies sich die Antitoxinbindungsfähigkeit einer Vaccine als der beste Maßstab dafür, ob die Vaccine ein brauchbares Präparat sei, gewiß ein weiterer, schlagender Beweis für die Richtigkeit der Ehrlichschen Anschauungen. Es gelang stets mit einer guten Vaccine das Antitoxin zu erschöpfen. Als Beispiel sei der Versuch vom 24. III. 07 herausgegriffen:

Die vorausgehende Antitoxinbindungsbestimmung meines Toxins hatte ergeben, daß 1 ccm Toxin 0.0015 ccm eines 6 $\frac{1}{2}$ fachen Behringwerkserums zur Neutralisierung bedurfte.

Protokoll vom 24. III. 07.

0.002 Antitoxin + 0.05 Toxin nach 2 Std. davon 0.5 Kopf rot, kein Tetanus
 0.001 " + 0.05 " " " " "
 [(0.001 Antitoxin + 1.0 Vaccine) nach 2 Stunden + 0.05 Toxin], nach
 weiteren 2 Std. davon 0.5 r. Vf. rot, 26. III. Tetanus, 27. III. =, 28. III. +.

(0.001 Antitoxin + 3.0 Vaccine) nach 2 Stunden + 0.05 Toxin
 nach 2 Stunden davon 0.5 l. Vf. rot, 26. III. Tetanus, 27. III. +

(0.001 Antitoxin + 3.0 gekochtes Toxin) + 0.05 Toxin
 nach 2 Stunden 0.5, unbezeichnet, kein Tetanus.

Aus diesem Versuch geht zur Genüge hervor, daß die Tetanusvaccine, die immunisierend wirkt, auch Antitoxin bindet.

Aktive Immunität bei Meerschweinchen.

Viel leichter gestaltet sich die aktive Immunisierung bei Meerschweinchen. Hier genügt eine einzige Injektion von 5.0 ^{cem}, um eine — man kann wohl sagen — praktisch unbegrenzte Immunität zu erzielen.

Um sich über das zeitliche Auftreten der Immunität zu orientieren, wurde am 20. II. 07 14 Meerschweinchen mit 5.0 ^{cem} der Vaccine IV injiziert und in kurzen Abständen eine Immunitätsprüfung vorgenommen.

Am 22. II. 07, also 4 Stunden nach der Impfung, erhalten 2 Meerschweinchen die 3 1/2 fache Dosis; am 25. II. starker Tetanus, 26. II. +.

Am 25. II., also 5 Tage nach der Impfung: 1 Meerschweinchen die 7 fache tödliche Dosis; am 28. II. + an Tetanus.

Am 27. II., also 7 Tage nach der Impfung: 1 Meerschweinchen die 7 fache tödliche Dosis; 2. III. in schwerem Tetanus +.

Am 2. III., also 10 Tage nach der Impfung: 2 Tiere die 7 fache tödliche Dosis.

a) 6. III. Beginn, 7. III. Tetanus, 9. III. beginnt sich langsam zu erholen.

b) 6. III. " " " 10. III. erholt sich.

Am 4. III., 12 Tage nach der Injektion, 7 fache tödliche Dosis; plötzlich kurze Zeit nach der Injektion ohne Tetanus +.

Am 6. III., nach 14 Tagen, 7 fache tödliche Dosis; kein Tetanus.

Am 8. III. nach 16 Tagen 7 fache tödliche Dosis; kein Tetanus.

Am 10. III. " 18 " 14 " " " " "

Am 13. III. " 21 " 28 " " " " "

Also bereits am 10. Tage ist eine Immunität nachweisbar; dieselbe steigt bis zum 24. Tage an, wie ein kürzlich angestellter Versuch bewies.

Um die Wirksamkeit einer Vaccine für die ungünstigen Bedingungen sicherzustellen, wurden Mäuse mit einer in flüssigem Rinderserum gewachsenen verunreinigten Tetanuskultur 0.1 ^{cem} geimpft (als Anmerkung sei hier nur eingefügt, daß das Serum dadurch zur Gerinnung gebracht wurde). Sämtliche Kontrollmäuse gingen in 24 Stunden an Tetanus zugrunde, keine einzige der Versuchsmäuse erkrankte.

Sehr wichtig für die Verhältnisse in der Praxis war die Frage, ob sich die so erzielte Immunität auch gegen die Infektion mit Bazillen bewährt. Sprach schon der obige Versuch einwandfrei dafür, so war es doch notwendig, auch eine Grenze der Immunität nach obenhin aufzusuchen. Am 8. IX. 08 geimpfte Meerschweinchen, welche 5 ^{cem} der Vaccine 56 erhalten hatten, erhielten am 20. XI. 08 1 ^{cem} der unfiltrierten und unverdünnten Tetanusbouillon eingespritzt. Während die Kontrolltiere nach 22 Stunden an schwerem Tetanus eingegangen waren, zeigten die Ver-

suchstiere überhaupt keine Erscheinungen. Am 27. XI. 08 wurden drei Meerschweinchen mit einer anderen Vaccine geimpft, eines mit 7.0 ccm, die beiden anderen mit 5.0 ccm. Am 14. XII. erhielt das erste Tier 2.0 ccm der unfiltrierten und unverdünnten Tetanusbouillon, die anderen 1.0 bzw. 0.2 ccm.

Die Kontrolltiere	0.01	zeigten am	15. XII.	Tetanus,	16. XII,	†	abends.
	0.2	"	"	15. XII.	"	16. XII.	† morgens.
	1.0	"	"	15. XII.	schwersten Tetanus, im Sterben.		
	2.0	"	"	15. XII.	im Sterben.		

Die Versuchstiere zeigte bis heute den 11. II. 09 keinerlei Krankheitserscheinungen.

In der injizierten Kulturbouillon fanden sich im Ausstrich zahllose Tetanusbazillen.

Dieser Versuchsausfall berechtigt wohl sicher zu der Behauptung, daß der erzielte Impfschutz praktisch als **absolut** bezeichnet werden kann.

Über die Dauer der Immunität besitze ich leider nur eine Versuchreihe aus dem Jahre 1906.

Im Juli 1906 geimpfte Meerschweinchen besaßen im Januar 1907 ihre volle Immunität nicht nur gegen Toxin, sondern direkt gegen Kulturbouilloninjektion. Es ist aber mit Sicherheit aus den Erfahrungen bei anderen Schutzimpfungen anzunehmen, daß der so erzielte Impfschutz sich viel länger erhält als sechs Monate.

Die nächsten Untersuchungen beschäftigten sich damit, zu prüfen, ob man mit dieser völlig ungiftigen Toxinbouillon auch Antitoxin erzeugen kann. Qualitativ ließ sich diese Frage bald in positivem Sinne beantworten, aber die Wertigkeit der Sera hielt sich bei der Immunisation innerhalb niedriger Grenzen (die Untersuchungen werden noch fortgesetzt zur Entscheidung anderer hereinspielender Fragen); ein einziges Kaninchen hatte ein relativ hochwertiges Serum geliefert.

Die ausführlichen Protokolle werden in einer später erscheinenden Arbeit, die auf die Knorr'schen Tetanusversuche aufbaut, veröffentlicht werden.

Schlußfolgerungen:

1. Die Entgiftung der lichtempfindlich gemachten Tetanusbouillon geht unter dem Einfluß einer $\frac{1}{4}$ Ampère Nernstlampe sehr rasch vor sich.
2. Das auf diese Art entgiftete Tetanustoxin besitzt noch die Fähigkeit
 - a) Antitoxin zu erzeugen,
 - b) Immunität gegen Toxin und Kulturbouillon zu verleihen,
 - c) Antitoxin zu binden.