[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

Ueber Immunität und Giftfestigung.

Von

Prof. Dr. L. Brieger,
Vorsteher der Kranken-Abtheilung
des Institutes f. Infektionskrankheiten,

Dr. S. Kitasato und Dr. A. Wassermann,
Assistenten am Institut
für Infektionskrankheiten.

Das Studium der künstlichen Immunität gegen gewisse spezifische Krankheitserreger steht gegenwärtig und zwar mit Recht im Vordergrund der biologischen Forschung. Derartige Untersuchungen eröffnen nicht bloss das Verständniss von dem bisher noch gänzlich mysteriösen Wesen der natürlichen und erworbenen Immunität bei Mensch und Thier, sondern beanspruchen auch eine hervorragend praktische Bedeutung. Sind wir erst über die Schutzmittel unterrichtet, welche dem Organismus zu Gebote stehen, um die Krankheitskeime erfolgreich abzuwehren und zu vernichten, dann werden auch die Methoden der künstlichen Immunität der ärztlichen Praxis zu Gute kommen, sei es, dass sie selbst in manchen Fällen als therapeutisches Agens dienen, sei es, dass sie in letzter Instanz die Wege weisen, welche zur Gewinnung spezifischer Heilmittel führen.

Obwohl die Litteratur über die künstliche Immunität sehr beträchtlich angeschwollen ist, obwohl eine Menge neuer, origineller Versuche und unerwarteter Resultate auf diesem Gebiete der Forschung zu verzeichnen sind, herrscht doch noch eine gewisse Verwirrung in den Ansichten der Autoren, die unserer Meinung nach in der zu wenig scharf präcisirten Auffassung des Begriffes der Immunität begründet ist.

Legen wir unseren Ausführungen den von Koch¹ zuerst betonten Unterschied von Infection und Intoxication zu Grunde, so ist ein Thier nur dann immun gegen einen pathogenen Organismus, wenn dieser in dem thierischen Körper sich nicht mehr vermehren kann. Bei denjenigen parasitären Mikroorganismen also, welche allein durch ihre überaus üppige Wucherung in dem Körper ihres Wirthes, durch das Verlegen aller Capillaren, mit der Fortdauer des Lebens unvereinbare, mechanische Hindernisse schaffen, ist dem betreffenden Thiere zugleich mit der Immunität auch absoluter Schutz gegen die Noxe verliehen.

Ganz anders hingegen gestalten sich die Verhältnisse bei Mikroorganismen, die sich von dem Orte ihrer Einwanderung aus nicht durch den ganzen Körper verbreiten, sondern die erst indirect durch leicht diffundirbare, in die Körpersäfte rasch übergehende, spezifische Gifte den Gesamtorganismus schädigen. Gegen diese, nennen wir sie toxische Mikroorganismen, können wir den thierischen Körper in doppelter Weise schützen. Entweder wir versetzen denselben durch geeignete Vorbehandlung unter solche Bedingungen, unter denen ein Fortleben der eingebrachten Krankheitskeime überhaupt nicht möglich ist, und dann ist das Thier richtig immunisirt, oder wir gewähren dem Thier nur Schutz gegen die Bacteriengifte, während die Bacterien selbst noch weiterleben, ja sich noch vermehren können. Dieser zweite Vorgang ist grundverschieden von dem ersten. Der Ausdruck „immun“ ist auf denselben nicht anwendbar. Wir haben es hier vielmehr mit der Widerstandsfähigkeit gegen Gifte zu thun, und schlagen wir für diesen eigenartigen Zustand die Bezeichnung „giftfest“ vor, ähnlich wie Ehrlich² für Thiere, welche gegen die pflanzlichen Gifte Ricin und Abrin unempfindlich gemacht worden waren, die Ausdrücke ricinest, abrinest gewählt hat.

Bei einem Thiere also, das sich giftfest gegen einen bestimmten toxischen Mikroorganismus erweist, sinkt dieser Parasit zu der Stufe eines unschädlichen Wasser-Mikroorganismus herab, der wohl in dem Körper noch weiter schmarotzen, vielleicht auch local noch Reizungserscheinungen zu äussern vermag, der aber niemals mehr seine specifischen, bedrohlichen Allgemeineinwirkungen entfalten kann. Ein solches Thier wird also gegenüber einem anderen bei der Impfung mit diesem Parasiten am Leben bleiben. Umgekehrt kann ein Thier gegen toxisch wirkende Bacterien immun sein, aber es entbehrt der Giftfestigung. Ein solches Thier wird der Impfung mit geringen Mengen widerstehen, denn

¹ *Zur Untersuchung pathogener Mikroorganismen.*

² *Deutsche medicinische Wochenschrift.* 1891.

der betreffende Mikroorganismus ist für dasselbe wohl nicht infectiös, dazu gehört die Fähigkeit der unbegrenzten Weiterentwicklung. Bringt man jedoch eine grössere Menge in den thierischen Körper, so dass die eingeführte Giftmenge genügt, dann stirbt das Thier sehr rasch, der betreffende Organismus ist also für dasselbe trotz der Immunität noch pathogen. Unter letzterem Begriff ist nach Koch¹ nichts anderes zu verstehen, „als dass Mikroorganismen im Stande sind, Krankheit zu bewirken.“ Wir werden bald sehen, dass derartige Fälle sehr wohl bestehen, und streng auseinander gehalten werden müssen.

Unsere eigenen Untersuchungen bewegten sich zuerst ausschliesslich auf dem Gebiete der Giffestigung, einestheils weil gerade die für den Menschen verheerendsten parasitären Krankheiten, wie Cholera, Typhus, Diphtherie, Tetanus ausgesprochene toxische Affectionen sind, andererseits weil schon früher diese Gebiete wenigstens in ätiologischer Hinsicht Gegenstand unserer Arbeiten waren.

Nachdem der eine von uns (Brieger) aus Culturen, weiterhin aus Leichen zuerst krystallinische (Toxine), dann im Verein mit C. Fränkel amorphe, typisch wirkende chemische Gifte (Toxalbumine)² dargestellt hatte, drängte sich zunächst die Frage auf, wodurch ist es möglich, den menschlichen und thierischen Körper gegen diese specifisch wirkenden Gifte specifisch zu schützen.

Das Studium des chemischen Verhaltens dieser Substanzen gab darauf keine Antwort. Wir konnten allerdings eine ungemein leichte Zersetzlichkeit und Zerstörbarkeit dieser Substanzen durch alle möglichen chemischen und physikalischen Eingriffe ausserhalb des Organismus nachweisen, aber alle diese Mittel versagten bei ihrer Anwendung im Thierkörper.

Allein vielleicht war es möglich, mittels dieser Bacteriengifte „der Stoffwechselproducte“ gerade ihre Erzeuger, die Bacterien zu vernichten oder wenn dies nicht angängig, wenigstens ihre Entwicklung zu hemmen; also nach unserer obigen Definition richtig zu immunisiren. Ein Blick in die Litteratur zeigt, wie vergeblich diese Bemühungen sowohl von uns als auch von anderen Autoren waren.

Das weitere Studium dieser Giftsubstanzen lehrte, dass sie grösstentheils zu den Eiweissstoffen gehören und eine gewisse Aehnlichkeit mit jenen Verbindungen besitzen, die wir gemeinhin als Fermente oder Enzyme bezeichnen. Wir versuchten daher durch Einwirkung von anderen

¹ Zur Untersuchung pathogener Mikroorganismen. S. 1.

² Vergl. auch die unter Brieger's Leitung angefertigte Arbeit von Robert Immerwahr: „Ueber das Vorkommen von Toxalbuminen im menschlichen und thierischen Organismus. Deutsche medicinische Wochenschrift. 1891. Nr. 30.

thierischen Eiweissstoffen, von verschiedenen Fermenten auf die bakteriellen Giftsubstanzen selbst, durch längere Vorbehandlung der Thiere mittels dieser Verbindungen, durch Auf- und Abbau derselben irgend einen Einfluss, eine Gegenwirkung zu erzielen. Alles vergeblich. Wir verzichteten darauf, diese negativen Versuche hier einzeln wiederzugeben.

Es genüge zu bemerken, dass wir z. B. aus dem Gebiete der Fermente ausgedehnte Versuchsreihen mit Fibrinferment und Ptyalin angestellt haben. In einer weiteren Versuchsreihe gingen wir von den reinen Eiweisskörpern, insbesondere von dem Pepton aus. Wir liessen stärker oder schwächer reducirende und oxydirende Chemikalien auf dieselben einwirken, wir setzten Säuren und Alkalien hinzu, wir liessen die Substanzen faulen, um dadurch wieder neue, wirksamere Spaltungsproducte zu erhalten. Auf all' diesen Wegen ist es uns nicht gelungen, mit Sicherheit ein Thier gegen ein specifisches Bacteriengift zu festigen. Und doch muss Mensch und Thier in den vegetativen Organen über Waffen gebieten, die sie befähigen, gewisse complexe, giftige Verbindungen des normalen Stoffwechsels in unschädliche Formen überzuführen. *Natura sanat.*

Im menschlichen und thierischen Körper entstehen durch den normalen Stoffwechsel Zwischenproducte und Fermente, denen recht erhebliche giftige Eigenschaften innewohnen, so die Peptone, gewisse Fermente, wie Trypsin, Pancreatin u. A. m. Namentlich französische Autoren, Gautier, Bouchard haben auf die Bildung derartiger Gifte aufmerksam gemacht. Alle diese Stoffe kreisen eine Zeit lang im Blute oder in den Lymphbahnen, bis sie zu ihren Endproducten verbrennen. Wie wird dies ohne Schädigung, ohne irgend welche nachweisbare Giftwirkung vom Organismus ertragen? Es muss eben der Körper über Einrichtungen verfügen, welche die Giftwirkung der intermediären giftigen Producte des normalen Eiweisszerfalls noch innerhalb des Kreislaufs neutralisiren. Solche giftzerstörende Substanzen waren am ehesten zu vermuthen in jenen äusserst complex zusammengesetzten Verbindungen, welche in den Organzellen selbst entstehen und wohl den Hauptbestandtheil des protoplasmatischen Leibes bilden, Körper, deren Studium von Seiten der physiologischen Chemiker kaum erst begonnen werden konnte. Denn dass die Substanzen, welche auf die oben erwähnten physiologischen Stoffwechselgifte eine Einwirkung auszuüben vermochten, auch für die pathologischen Bacteriengifte nicht gleichgültig sein würden, schien uns a priori sehr wahrscheinlich. Zeigen doch diese beiden Gruppen von Substanzen in ihrer beträchtlichen chemischen Activität, hauptsächlich aber in ihrer ungemein grossen Labilität so viel Berührungspunkte, dass auch in der Möglichkeit, sie zu vernichten, eine gewisse Analogie vorausgesetzt werden konnte. Die Wahl der Organe zu unseren Versuchen, welche die von uns supponirten, giftzerstörenden

Substanzen bergen mussten, konnte nicht zweifelhaft sein. Für unsere Zwecke konnten nur jene Organe in Betracht kommen, welche vermöge ihres Zell- und Blutreichthums einen äusserst regen Stoffwechsel besitzen, also Organe von drüsigem Bau.

Die Lebhaftigkeit des Stoffwechsels in derartigen, allerdings pathologischen Organen kann sich bis zur Bildung kräftiger Gifte steigern. So ist es uns geglückt, aus einem in der ersten Entwicklung begriffenen Mamma-Carcinom einen giftigen Stoff darzustellen, der hinsichtlich seiner grossen Zersetzlichkeit und seiner Wirkung auf den Organismus sich den oben erwähnten complexen Substanzen als nahe verwandt erwies. Aus zwei zu gleicher Zeit nach derselben Methode verarbeiteten, grossen zellarmen Fibromen dagegen war es nicht möglich, einen ähnlichen Körper zu gewinnen. Zellreichthum und hauptsächlich regste vitale Energie schienen uns also für die Möglichkeit des Entstehens solcher Substanzen unerlässlich zu sein. Diese Erfordernisse treffen weitaus am besten zu bei den früher sogenannten Drüsen ohne Ausführungsgänge, Organen, deren physiologische Functionen bis heute zumeist in Dunkel gehüllt sind. Die Schilddrüse, die Thymus, die Lymphdrüsen sind Zellanhäufungen, welche ungemein gut mit Blut versorgt sind und gemäss ihrer ganzen Einschaltung in das Gefässsystem sich beim Vorhandensein von giftzerstörenden Substanzen als wahre Reinigungsapparate für das sie durchströmende Blut erscheinen lassen. Für eine derartige Annahme sprachen auch mancherlei Erscheinungen am Krankenbette. Wie häufig kann man die Beobachtung machen, dass eine locale Infection bis zu den nächstgelegenen Lymphdrüsen unaufhaltsam fortschreitet, hier jedoch wie vor einem Walle stehen bleibt und nun ausheilt. Auch für die Schilddrüse liegen Beobachtungen am Krankenbett vor, die auf eine hervorragende, giftzerstörende Fähigkeit derselben hindeuten.

Bekanntlich tritt nach totaler Entfernung der Schilddrüse ein Symptomencomplex, die Cachexia strumipriva, auf, welcher durch seine Allgemeinerscheinungen, durch seine den ganzen Organismus in Mitleidenschaft ziehenden pathologischen Veränderungen am meisten an das Bild einer chronischen Intoxication erinnert. (Horsley u. A.) Für diese Ansicht sind wiederum neuerdings, während wir noch mit unseren Versuchen beschäftigt waren, von Lindemann¹ experimentelle Belege erbracht worden. Genannter Autor ging bei seinen Versuchen von der Meinung aus, dass die Schilddrüse dazu bestimmt ist, ein Nervengift, welches sich beim Stickstoffumsatz im Organismus bildet, zu entfernen.

¹ *Centralblatt f. allgemeine Pathologie u. pathol. Anatomie.* Bd. II. 1891. S. 55.

Zur Stütze seiner Theorie wählte er das Coffein wegen seiner engen Verwandtschaft mit dem Xanthin, einem ständigen, normalen Stoffwechselproducte des Körpers und erprobte seine Wirksamkeit bei normalen Hunden und bei solchen, denen vorher die Schilddrüsen völlig exstirpiert waren. Die normalen Hunde vertrugen sowohl bei der Einführung in die Blutbahn als auch in den Magen erheblich höhere Dosen als die operierten.

Ein anderer Autor, Vassale,¹ hat die nach Herauscheidung der Schilddrüse bei Hunden auftretenden Symptome durch intravenöse Injection von Schilddrüsenensaft erfolgreich bekämpft. Schliesslich hat man durch Transplantation von Schilddrüsenewebe auf Thiere und selbst beim Menschen „ein deutliches Besserbefinden der Patienten und Besserung aller Symptome in den Fällen, in denen die überpflanzte Drüse fortkam,“ beobachtet.² Alle diese Experimente sprechen dafür, dass in gewissen Zellen antitoxische Substanzen gebildet und von da in den Kreislauf hineingeworfen werden.

Nach dem eben Gesagten hatten wir eine dreifache Aufgabe zu erfüllen:

1. Mussten Methoden gefunden werden, welche in schonendster Weise solche antitoxischen Substanzen aus den Zellen gewinnen liessen.

2. Galt es den Einfluss derselben auf Bacteriengifte ausserhalb des Organismus zu erproben.

3. Waren endlich die Beziehungen derselben zur Giftfestigung am Thiere zu studiren.

Wir beginnen mit der an zweiter Stelle aufgeworfenen Frage. Die Lösung derselben wurde auf folgende Weise versucht. 1. Gewöhnliche Peptonbouillon wurde bis zu 1 Proc. mit der Substanz, deren Wirkung zu erproben war, versetzt und alsdann auf diesem Nährboden gezüchtet. Die Giftigkeit der überimpften Culturen wurde vorher auf das Genaueste festgestellt, d. h. die minimale tödtliche Dosis bestimmt.

Nach dreitägigem Wachsthum im Brutschranke wurde dann diese präparierte Bouillon in verschiedensten Dosen Thieren injicirt. In den Fällen, wo der Nährbouillon antitoxische Substanzen beigemischt waren, zeigte sich, dass trotz reichlichsten Wachsthums der Bacterien eine solche Cultur ganz beträchtlich an Giftigkeit eingebüsst hatte. Bei Umzüchtung in gewöhnlicher Bouillon wurde jedoch sofort wieder die ursprüngliche

¹ *Rivista experiment. di Fren. e medicina legale*. 1890. Vol. XVI. Fasc. IV.

² Vergl. Victor Horsley, *Internationale Beiträge zur wissenschaftl. Medicin*. Bd. I. S. 388. Litteratur daselbst einzusehen.

Giftigkeit hergestellt. So konnten wir Tetanusbacillen züchten, ohne dass aber das Nährmedium Tetanusgift in irgendwie nennenswerthem Maasse enthielt.

2. Der Umstand, dass durch einfache Vermengung einer sterilen Lösung eines antitoxischen Körpers mit einer üppig gewachsenen Bouillon-cultur von bekannter Virulenz die Giftigkeit der letzteren wesentlich herabgesetzt wurde, bewies die giftzerstörende Kraft jener Substanz und die Unabhängigkeit dieser Wirkung von der Wachstumsenergie der Bakterien. Auf Grund dieser von uns ermittelten Thatsache wurden Versuche in der Weise angestellt, dass Bouillonculturen der Tetanus-, Cholera-, Typhus- und Diphtherie-Erreger, deren Giftigkeitsgrad genau bestimmt worden war, mit Lösungen von antitoxischen Zellsubstanzen vermischt wurden. Diese Mischungen nebst Controlculturen verblieben alsdann im Eisschranke und nach kürzeren oder längeren Zwischenräumen wurde der Giftigkeitsgrad von beiden Culturarten einer erneuten Prüfung unterzogen.

Ueber die Einzelheiten dieser Versuche wird noch weiter unten zu berichten sein.

Die dritte und wichtigste unserer Aufgaben betraf das Verhalten von Thieren gegenüber vollvirulenten Culturen nach Vorbehandlung mit Mischungen von antitoxischen Substanzen und Culturen.

Bei diesen experimentellen Prüfungen der Thiere auf ihre Giftfestigkeit wurden folgende Bedingungen, deren Nothwendigkeit im Laufe der Untersuchungen sich aufgedrängt hatte, streng beachtet.

1. Es wurde nur die für die betreffende Krankheit empfänglichste Thierspecies ausgewählt.

2. Es wurde nur mit vollvirulenten Culturen gearbeitet.

3. Es wurde stets die schwerste Intoxicationsform angewendet, welche bei den Controlthieren stets absolut tödtlich verlief.

4. Es durften die vorbehandelten Thiere zu keiner Zeit, auch nicht nach Wochen, an der betreffenden Krankheit resp. deren secundären Folgezuständen eingehen.

Ein Blick in die Litteratur lehrt, dass diesen eigentlich selbstverständlichen Forderungen fast gar keine Beachtung geschenkt wurde.

Handelt es sich nun darum, Thiere, die auf alle äusseren Eingriffe sehr leicht reagiren, z. B. Meerschweinchen längere Zeit, Monate lang, in Beobachtung zu halten, so sind gewisse Bedingungen bei der Auswahl und der Behandlung der Thiere zu erfüllen, um gute Resultate zu erhalten.

Vor Allem empfiehlt es sich, falls man mit Meerschweinchen experimentirt, nur noch nicht völlig ausgewachsene Thiere zu benutzen. Am besten eignen sich solche von 300 bis 400 ^gmm. Die Thiere haben alsdann noch einen gewissen Spannraum von Körper- und Gewichtszunahme vor

sich, der Hand in Hand mit der fortschreitenden Vorbehandlung ausgefüllt wird. Umgekehrt nimmt ein auf der Höhe seiner Entwicklung angelangtes Thier bei der Vorbehandlung ständig ab, es wird schwächer und erliegt alsdann intercurrenten Thierseuchen, insbesondere Pneumonien, ungemein leicht. Ganze Versuchsserien können alsdann vereitelt werden. Die Gewichtscontrole ist also eine der bedeutendsten allgemeinen Beobachtungsregeln bei einer erfolgreichen Vorbehandlung. Thiere, welche an zwei oder drei aufeinander folgenden Tagen einen Gewichtsverlust erlitten, haben wir niemals einem Eingriff unterworfen. Wir warteten alsdann stets so lange, bis dieselben sich wieder in einer Periode der Gewichtszunahme befanden. Bei grösseren Thieren, z. B. Hammeln, muss noch ein anderes Moment berücksichtigt werden, nämlich die Körpertemperatur. Diese Thiere reagiren auf die Injectionen weniger mit Gewichts- als mit Temperaturveränderungen. Auch hier muss wieder ein völliger Ausgleich der Reaction sich vollzogen haben, ehe irgend ein neuer Eingriff unternommen wird.

Die Art der Vorbehandlung bestand meistens in intraperitonealer Injection der betreffenden Flüssigkeit, da hierbei sehr rasch ein Uebergang der einzuverleibenden Substanz in den allgemeinen Kreislauf zu erzielen ist.

Die Prüfung auf eingetretene Festigung wurde zumeist auf doppelte Art vorgenommen. Einmal durch Einverleibung absolut sicher tödtlicher Dosen der betreffenden Bacterienart bei den vorbehandelten Thieren und gleichzeitig bei mehreren Controlthieren. Weiterhin durch Prüfung des Blutserums der vorbehandelten Thiere auf seine Uebertragungsfähigkeit der Giftfestigung für normale Thiere. (Behring, Behring u. Kitasato.)

Man ist so in der Lage, genau quantitativ den Grad der Festigung in der von Ehrlich zuerst befolgten Weise zu präcisiren.

In der Meinung, dass bei der Vernichtung von Bacteriengiften im Körper, die vitalsten Elemente desselben, die Leukocyten oder Lymphocyten betheiligt seien und zwar in der Weise, dass beim Zerfall derselben Stoffe frei werden, welche eine antitoxische Kraft besitzen, begannen wir unsere Versuche mit den bekanntesten und relativ am besten studirten Zerfallsproducten der weissen Blutkörperchen, den Nucleinen und den Nucleinsäuren, die wir uns direct aus Eiter dargestellt hatten. Später hatte Herr Prof. Kossel die Güte, uns dergleichen Präparate aus Eiter und Hefe zur Verfügung zu stellen, wofür wir ihm nochmals an dieser Stelle bestens danken. Als Versuchsobjecte dienten hauptsächlich Cholera-culturen. Es war aber weder eine Abnahme der Giftigkeit derselben durch Mischung mit den Nucleinkörpern, noch eine Festigung von Thieren durch Vorbehandlung von mit Nucleinen versetzten Cholera-culturen zu erzielen.

Von vornherein war auch ein solch' negatives Resultat sehr wahrscheinlich, da die Darstellung der Nucleine und Nucleinsäuren so eingreifende chemische Manipulationen erfordert, dass eben nur noch solche chemische Individuen resultiren können, welche jeder activen Energie entbehren müssen. Für unsere Zwecke konnten nur solche Substanzen in Betracht kommen, welche ihren lebendigen Zustand möglichst gewahrt hatten. Wussten wir doch aus unseren früheren Arbeiten mit den Bacteriengiften, wie empfindlich dergleichen Verbindungen selbst gegen anscheinend indifferente Chemikalien, wie Alkohol, Aether u. s. w. sind. Wir entschlossen uns daher zunächst weitere Versuche mit einfachen wässerigen, schwach alkalischen Auszügen aus zellenreichen Organen zu machen. Aus den schon oben erörterten Gründen berücksichtigten wir nur die Thymusdrüse und die Lymphdrüsen, einige Male auch das Fischsperma. Ausserdem bestimmten uns noch hierzu die Ergebnisse der Analyse; denn da es uns hauptsächlich auf die bekanntlich sehr phosphorreichen Zellkernsubstanzen ankam, so fiel bei der Beurtheilung der mehr oder minder grossen Brauchbarkeit eines Organs zu unseren Untersuchungen der Gehalt an Phosphor sehr ins Gewicht. Der hohe Phosphorgehalt des Fischsperma's ist bereits aus den Arbeiten von Miescher bekannt. Thymus- und Lymphdrüsen haben wir nach dieser Richtung selbst analytisch geprüft. Wir lassen hier das Ergebniss unserer Analysen folgen:

Analyse 1: Die bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrocknete, frisch dem Thier entnommene Thymusdrüse enthielt 71.19 Procent Wasser. Der gesammte Phosphorgehalt der trockenen Substanz wurde nach der Carius'schen Methode bestimmt:

$$\begin{aligned} 0.2461 \text{ grm } s &\text{ gaben } 0.0329 \text{ grm } \text{Mg}_2 \text{P}_2 \text{O}_7 \\ &= 8.63 \text{ Procent } \text{P}_2 \text{O}_5 = 3.77 \text{ Procent P.} \end{aligned}$$

Da nun in diesem Phosphorgehalt auch der Phosphor des Lecithins enthalten ist, wurde auch die Menge des in der Thymus vorhandenen Lecithinphosphors ermittelt. Derselbe ist äusserst gering, er beträgt nur 0.042 Procent = 1.09 Procent Lecithin.

Analyse 2: Der in der Form von Lecithin vorhandene Phosphor wurde nach einem Verfahren ermittelt, welches zuerst von Hoppe-Seyler beschrieben,¹ dann mit Erfolg neuerdings auch von Carl Alexander² angewendet wurde.

¹ Hoppe-Seyler, *Handbuch der chemischen Analyse*. Berlin 1883. 5. Aufl. S. 168 ff. u. 425.

² *Beiträge zur pathol. Anatomie und allgemeine Pathologie*. Red. von Ziegler. Januar 1891. Bd. XI. Hft. 1. S. 180 ff.

Zeitschr. f. Hygiene. XII.

$$110.33^{\text{grm}} \text{ Thymus gaben } 0.1652^{\text{grm}} \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 \\ = 0.096 \text{ Procent P}_2\text{O}_5 = 0.042 \text{ Procent P.}$$

Analyse 3: Es wurde ferner der Phosphorgehalt des mit heissem Alkohol und Aether wiederholt ausgewaschenen wirksamen Prinzipes der Thymus, dessen Darstellung weiter unten beschrieben ist, bestimmt. Dasselbe enthielt 1.07 Procent Asche.

$$0.3664^{\text{grm}} s \text{ gaben } 0.0375^{\text{grm}} \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 \\ = 6.6 \text{ Procent P}_2\text{O}_5 = 2.9 \text{ Procent P.}$$

Das nach der gleichen Methode gewonnene wirksame Princip der Lymphdrüsen zeigte den gleichen Phosphorgehalt.

Analyse 4:

$$0.4022^{\text{grm}} s \text{ gaben } 0.0429^{\text{grm}} \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 \\ = 6.89 \text{ Procent P}_2\text{O}_5 = 2.94 \text{ Procent P.}$$

Demme¹ hat für das von Alex. Schmidt aus Lymphdrüsenzellen dargestellte Cytoglobin und dessen eiweissartige Spaltungsproducte viel höheren Phosphorgehalt constatirt. Uebrigens ist das Cytoglobin für unsere Zwecke nicht brauchbar.

Schutzimpfungsversuche mit Thymusauszügen hat bereits vor uns Wooldridge¹ und zwar bei Milzbrand gemacht.

Wooldridge ging hierbei von dem Gedanken aus, dass bei dem Eintritt der Immunität sich Vorgänge im Blute abspielen, die mit den Erscheinungen bei der Blutgerinnung eine unleugbare Verwandtschaft besitzen. Wooldridge vermuthete, dass hauptsächlich die fibrinogene Substanz eine grosse Rolle dabei spiele und wählte daher das genannte Organ zu seinen Versuchen, weil es sehr reich an einem Körper sein sollte, den er Gewebsfibrinogen nannte. Eberth und Schimmelbusch³ konnten indessen Wooldridge's Versuchsergebnisse nicht bestätigen. Auf die angeblichen Schutzimpfungsergebnisse bei Milzbrand werden wir bei Gelegenheit unserer eigenen Versuche über Milzbrand noch zurückkommen.

Um die unseren Zwecken entsprechende Substanz aus den Zellen der Thymusdrüse von Kälbern zu gewinnen, verfahren wir folgendermassen.

Zwei bis drei Thymusdrüsen wurden sofort nach der Entnahme aus dem Thiere in das Laboratorium gebracht und mittels der Fleischhackmaschine fein zerkleinert. Die fein zerhackte Masse wurde zu gleichen Theilen mit destillirtem Wasser versetzt, einige Zeit umgerührt, um dann

¹ Demme, Ueber einen neuen eiweissliefernden Bestandtheil des Protoplasma. *Inaugural-Dissertation*. Dorpat 1890. Schnakenburg's Buchdruckerei.

² Du Bois-Reymond's *Archiv für Physiologie*. 1888. S. 526 ff.

³ *Die Thrombose nach Versuchen und Leichenbefunden*. Stuttgart 1888.

ca. 12 Stunden lang im Eisschrank stehen zu bleiben. Alsdann wurde durch Gaze colirt, wobei der Organbrei durch die Fleischpressmaschine fest ausgedrückt wurde.

Die so gewonnene trübe, stark schleimige Flüssigkeit bildete die Stammflüssigkeit für alle weiteren Versuche. Um dieselbe nun zu unseren Experimenten weiter verwenden zu können, war es natürlich nöthig, dieselbe zu sterilisiren. Versucht man ohne Weiteres die Sterilisation der colirten Flüssigkeit, so fallen massige Coagula aus, die in einer klaren Flüssigkeit schwimmen, die nun selbst ganz unwirksam geworden ist. Man muss also dahin trachten, die in der rohen Stammflüssigkeit gelösten Bestandtheile der Thymus auch während des Erhitzens bei 100° C. im Dampfkochtopf nicht ausfallen zu lassen. Dies gelingt am besten durch Zusatz von kohlensaurem Natron und gleichzeitiges Verdünnen mit Wasser. Ganz genaue quantitative Regeln lassen sich für diese Zusätze nicht geben, da die einzelnen Thymusdrüsen, wie dies schon Wooldridge, der in ähnlicher Weise wie wir operirte, sehr richtig bemerkt, in dieser Hinsicht von Natur aus etwas differiren. Daher ist es unbedingt nothwendig, bei jeder Präparation die nöthige Menge von Soda und Wasser, die behufs Verhütung der Coagulation zugefügt werden muss, erst im Reagensglas sorgfältig auszuprobiren. Bei einiger Uebung gelingt dies leicht und sicher. Meistentheils genügt die Verdünnung der Stammflüssigkeit mit der gleichen Menge Wassers und ein Zusatz von Sodalösung bis zur schwachen Bläuung des Lackmuspapiers, gerade das Optimum der Alkalescenz für Züchtungsversuche, um diesen Zweck zu erreichen. Nachdem also die Stammflüssigkeit so hergerichtet ist, erhitze man dieselbe in einem geräumigen Kolben 15 Minuten lang bei 100° im Dampfkochtopfe. Dieselbe nimmt dann eine graubraune Farbe an und es bleibt meistentheils Alles in Lösung, richtiger gesagt in Quellung. Etwaige gröbere Flocken, die trotzdem noch ausgefallen sind, wurden beim nochmaligen Coliren durch feineres Leinen nach dem Erkalten entfernt. Die nunmehr erhaltene Flüssigkeit ist milchig opalescirend und mischt sich in allen Verhältnissen mit Wasser. Zum weiteren Gebrauch wird dieselbe in Reagensgläser übergefüllt und nochmals sterilisirt. Das wirksame Princip lässt sich durch Zusatz eines Tropfen Essigsäure in Gestalt eines dicken flockigen Niederschlages ausfällen und diente in dieser Form als Ausgangspunkt der obigen Analysen (3 und 4).

Die im Reagensglas aufbewahrten Thymusauszüge wurden bald als Nährboden, ähnlich der Nährbouillon, zu Züchtungszwecken benutzt, bald dienten sie in der oben dargelegten Weise zur Mischung mit gewissen Reinculturen. Bei den Züchtungsversuchen erwies sich dieser Thymusauszug für gewisse Bacterien, z. B. für die der Cholera, als zu concentrirt.

Derselbe, welcher eine Concentration von 1:2 Wasser zeigte, musste alsdann, um ein üppiges Wachsthum zu erzielen, bis zu 1:6 Wasser verdünnt werden. Das Optimum der Verdünnungen ist bei den einzelnen Versuchen in Zahlenwerthen beigefügt. Der Kürze halber bezeichnen wir den Thymusauszug, auf dem Bacterien gezüchtet worden waren, einfach als Thymusbouillon, z. B. Thymustetanusbouillon, diejenigen Thymusauszüge aber, welche mit bereits vollentwickelten gewöhnlichen Culturflüssigkeiten vermischt wurden, nennen wir Thymusmischung und sprechen dann z. B. von einer Thymus-Tetanus-Mischung.

In analoger Weise haben wir uns dann noch weiterhin wässerige Auszüge aus Fischsperma und den Mesenterialdrüsen vom Rinde bereitet und zu unseren Versuchen verwendet. Indessen überzeugten wir uns bald, dass, wenn auch mit derartigen Präparaten ganz befriedigende Resultate zu erzielen waren, dieselben hinsichtlich der Sicherheit des Gelingens aber von den Thymusauszügen weit überragt werden.

Zudem sind letztere lange Zeit unverändert haltbar, die ersteren beiden Auszüge hingegen so ungemein zersetzlich, dass sich schon in wenigen Tagen flockige Niederschläge bilden. In Folge dessen haben wir immer wieder auf die Thymusauszüge zurückgegriffen, zumal deren eventueller Anwendung in der Praxis und im Grossen noch die Billigkeit und leichte Beschaffung in beliebigen Mengen das Wort reden.

Unsere Versuche, die nunmehr einzeln erörtert werden mögen, erstreckten sich auf Tetanus, Cholera, Diphtherie, Typhus, Erysipel, Milzbrand und Schweinerothlauf.

I. Untersuchungen über Tetanus.

Seitdem es dem Einen von uns, Kitasato,¹ zuerst geglückt war, nach dem Vorgange von Behring durch Einspritzung von Bouillonculturen und darauffolgende Injection von Jodtrichloridlösung Kaninchen gegen Tetanus zu immunisiren, sind weitere Publicationen über die Immunisirung hochempfindlicher Thiere nicht mehr erfolgt. Das genannte Verfahren gestattet aber nur die Immunisirung von 40 Procent der Versuchsthiere. Dieser grosse Thiervverlust erheischt schon aus praktischen Gründen das Suchen nach anderen, vortheilhafteren Immunisirungsmethoden. Aus diesem Grunde und in Anbetracht des so überaus typi-

¹ *Diese Zeitschrift*. 1891. Bd. X. S. 298. — Vergl. auch Behring u. Kitasato, Ueber d. Zustandekommen d. Diphtherie-Immunität u. Tetanus-Immunität. *Deutsche medicinische Wochenschrift*. 1890. Nr. 49.

schen Verlaufes des Tetanus haben wir uns entschlossen, unsere ersten Versuche, die gleichsam als Prüfstein für die ganze Methode gelten sollten, gerade am Tetanus anzustellen.

Unsere Bemühungen auf dem sterilisirten, wässerigen Thymusauszug Tetanusbacillen zum Wachsthum zu bringen, waren einige Male von Erfolg begleitet. Hierbei war die merkwürdige Thatsache zu beobachten, dass die Tetanusbacillen auf dem Thymusauszug völlig sporenlos wuchsen. Selbst bei vierzehntägigem Stehen im Brutschrank bildeten die Tetanusbacillen niemals Sporen. Wurden diese sporenlosen Tetanusbacillen in tiefe Traubenzucker-Agarschichten übergeimpft, so entwickelten sich wiederum die gewöhnlichen sporenhaltigen Bacillen. Es haben also die Tetanusbacillen keineswegs die Fähigkeit der Sporulation eingebüsst, sondern nur auf diesem eigenartigen Nährboden geht ihnen jene Fähigkeit verloren.

Mit dieser Thymus-Tetanus-Bouillon stellten wir nun folgenden Versuch an Mäusen an:

Versuch.

5./X. 91. Maus Nr. 1	erhält	0.001 ^{cem}	Tetanus-Thymus-Bouillon	subcutan
" " 2	"	0.01	"	"
" " 3	"	0.1	"	"
" " 4	"	0.2	"	"
" " 5	"	0.5	"	"

6./X. Alle Mäuse sind völlig munter, nur bei Maus Nr. 5 zeigt sich beim Emporheben eine geringe Asymmetrie in der Haltung der beiden Hinterfüsse als erstes Symptom des beginnenden Tetanus.

Am 10./X. ist Maus 5 am Tetanus zu Grunde gegangen.

Alle übrigen vier Mäuse des Versuchs bleiben gesund.

Diesen Versuch haben wir mehrere Male wiederholt und es stellte sich hierbei die tödtliche Dosis der Thymus-Tetanus-Bouillon als zwischen 0.35 bis 0.5^{cem} liegend heraus.

Wenn man nun bedenkt, dass nach unseren Versuchen die tödtliche Dosis einer gleichaltrigen Tetanus-Bouillencultur für eine Maus 0.0001 bis 0.001^{cem} beträgt, so ergibt sich aus dem obigen Versuch, dass die in den Thymuszellen enthaltenen Stoffe die Giftentwicklung auf $\frac{1}{5000}$ bis $\frac{1}{3000}$ der gewöhnlichen Giftigkeit herabsetzen.

Dieselben Experimente wurden auch bei Kaninchen vorgenommen.

Versuch.

Kaninchen Nr. 1	erhält	2.0 ^{cem}	Thymus-Tetanus-Bouillon	subcutan
" " 2	"	3.0	"	"
" " 3	"	5.0	"	"

Alle Thiere blieben dauernd völlig normal, obwohl die tödtliche Dosis einer gleichaltrigen Pepton-Bouilloncultur bereits bei 0.5^{cem} beginnt. Der Giftigkeitsgrad zeigte sich also auch bei diesen Versuchen als ganz beträchtlich vermindert.

Der Umstand, dass auf den Thymusauszügen die Tetanusbacillen trotz des gleichmässigen Züchtungsmodus bald heranwuchsen, bald aber nicht zum Wachsthum gebracht werden konnten, bestimmte uns, eine andere Versuchsanordnung zu wählen. Es war damit auch zugleich die Frage zu entscheiden, ob die in der Thymus enthaltenen Stoffe eine Entwicklung des Tetanusgiftes überhaupt nicht zulassen, oder ob dieselben im Stande sind, das bereits gebildete Virus zu zerstören. Zu Tetanusbouillon-Culturen wurde Thymusauszug hinzugefügt und diese Mischung einige Tage im Eisschranke gehalten. Hierbei konnte jedoch die Sporulation der Tetanusbacillen äusserst hinderlich sein. Mischte man nämlich den Thymusauszug zu sporenhaltigen Tetanusbouillon-Culturen, so konnten die Sporen immer noch Tetanus bei den Versuchsthieren erregen, selbst wenn die antitoxischen Körper der Thymusdrüse das Tetanusgift zum grössten Theil zerstört hatten und die Tetanusbacillen in Folge des Luftzutritts abgestorben waren. Wir durften demnach nur sporenfreie Tetanusbouillon-Cultur zu diesen Versuchen verwenden. Zu diesem Behufe schlugen wir folgende Procedur ein. Die Tetanusbacillen werden in streng neutraler Peptonbouillon unter Wasserstoff gezüchtet. Unter diesen Verhältnissen bilden sie in den ersten 30 Stunden, trotz sehr reichlichen Wachsthums, keine Sporen. Man muss daher ca. 24 Stunden nach der Beschickung die Kölbchen öffnen und zu den weiteren Versuchen benutzen. Die Giftbildung ist um diese Zeit schon so stark, dass 0.01^{cem} eine Maus tödten.

Diese Bouillon versetzten wir mit Tetanusauszug im Verhältniss von 1:2. Mit dieser Mischung wurden nun alle folgenden Versuche angestellt.

Versuch.

20^{cem} sporenfreie Tetanusbouilloncultur werden mit 40^{cem} Thymusauszug (1:2) in einem sterilen Erlenmeyer'schen Kölbchen vermischt und gut umgeschüttelt.

Sofort nach geschehener Mischung erhält von dieser Mischung

Maus Nr. 1	.	.	0.03 ^{cem}	(entspricht 0.01 ^{cem} Bouillon)
"	"	2	.	0.06 "
"	"	3	.	0.1 "

Alle drei Mäuse erkrankten nach 24 Stunden am Tetanus und gingen zu Grunde.

Eine Abschwächung der Giftigkeit war also nicht erfolgt. Dieselbe Mischung blieb nunmehr 24 Stunden im Eisschrank stehen und alsdann wurden mit derselben von Neuem drei Mäuse injicirt.

Versuch.

Von der 24 Stunden auf Eis gestandenen Mischung erhält

Maus Nr. 1	.	.	.	.	.	0.03 ^{cem}
"	"	2	.	.	.	0.06 "
"	"	3	.	.	.	0.1 "

Nach 24 Stunden ist Maus Nr. 3 tetanisch und nach 48 Stunden verendet.

Maus Nr. 2 zeigt Symptome von beginnendem Tetanus, dem sie auch nach einigen Tagen erlag.

Maus Nr. 1 blieb dauernd gesund.

Nach diesem Schema wurden nun die Versuche weiter fortgesetzt, bis schliesslich, beim Verweilen der Mischung auf Eis während einer Woche hindurch, 0.2 bis 0.3^{cem} davon einer Maus injicirt werden konnten, ohne dass darnach irgend welche krankhaften Symtome eingetreten wären.

Man ersieht hieraus, dass die giftzerstörende Kraft des Thymusauszuges für Tetanus bei längerer Einwirkung eine sehr beträchtliche ist.

Den Verdacht, dass dieser Giftverlust der Tetanusbouillon auf Rechnung des längeren Verweilens im Eisschrank zu setzen sei, ist auf Grund der Untersuchungen des einen von uns, Kitasato,¹ über die Widerstandsfähigkeit des Tetanusgiftes, zurückzuweisen.

Nunmehr konnte man erwarten, dass die giftzerstörende Kraft dieser Substanz zum Nutzen der Thiery verwerthbar wäre. Der Gedanke lag nahe, durch Einverleibung dieser Mischungen gegen Wundstarrkrampf hoch empfindliche Thiery gegen eine spätere Impfung mit vollvirulentem Tetanus zu schützen. Nach dieser Richtung hin haben wir an 35 Kaninchen, einer grossen Zahl Mäusen und an einem jungen Hammel die Schutzkraft der besagten Mischung erprobt.

Versuch.

6./X. Kaninchen Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6 erhalten je 0.5^{cem} einer zwei Tage alten Mischung (1:2).

7./X. Alle Thiery sind völlig munter. Temperatur und Gewicht sind unverändert.

8./X. Alle erhalten je 1.0^{cem} dieser Mischung.

9./X. Alle Thiery munter.

10./X. Injection von je 2.5^{cem}.

11./X. Alle Thiery munter.

12./X. Injection von je 4.0^{cem}.

13./X. Thiery fressen gut und befinden sich wohl auf.

14./X. " " " " " " "

15./X. Injection von 6.0^{cem}.

19./X. Injection von 10.0^{cem}.

¹ A. a. O.

22./X. Sämmtliche durchaus munteren Kaninchen erhalten 1·0^{ccm} vollvirulenter Tetanusbouillon, ebenso zwei Controlthiere.

Die Controlthiere gingen nach drei Tagen an typischem Tetanus zu Grunde.

Die sechs behandelten Kaninchen bleiben völlig intact.

Zur weiteren Controle der Festigung der vorbehandelten Thiere wurde dreien dieser Kaninchen Blut entzogen und nach dem Vorgange von Behring und Kitasato die Schutzkraft des Blutserums erprobt.

Versuch.

Bei Kaninchen 2, 4, 5 wurde die Carotis freigelegt und je 10·0^{ccm} Blut steril aufgefangen. Die Carotis wurde unterbunden, die Wunde desinficirt und vernäht. Die Thiere blieben nach der Operation völlig munter. Das Blut wurde behufs Abscheidung des Serums 24 Stunden auf Eis stehen gelassen.

Versuch.

Am folgenden Tage wurden von diesem Serum intraperitoneal einge-
verleibt

Maus Nr. 1	.	.	.	.	.	0·5	ccm
" "	2	.	.	.	.	0·3	"
" "	3	.	.	.	.	0·1	"
" "	4	.	.	.	.	0·05	"

Nach 24 Stunden wurde diesen vier Mäusen, nebst zwei Controlmäusen, je eine Platinöse vollvirulenter Tetanusagarcultur subcutan in die Schwanzwurzel eingebracht.

Die Controlmäuse zeigten nach 20 Stunden schweren Tetanus, dem sie nach 24 Stunden erlagen.

Alle mit dem Kaninchenblutserum vorbehandelten Mäuse blieben vom Tetanus völlig verschont und boten selbst nach wochenlanger Beobachtung keine Spur des tetanischen Symptomencomplexes dar.

Diesen Versuch haben wir noch des Oefteren wiederholt, ausnahmslos mit demselben Erfolge.

Hierdurch wird auch der von Kitasato und Behring erbrachte Beweis der Schutzkraft des Serums künstlich immunisirter Thiere von neuem bestätigt.

Bei dieser Gelegenheit gestattet sich der Eine von uns, Kitasato, zur Vervollständigung früherer Versuche einige Experimente mitzutheilen.

Schon früher hatte ich zuerst¹ nachgewiesen, dass das Huhn von Natur aus refractär gegen Tetanus ist, und dass ich mit dem Blute desselben andere Thiere nie gegen diese Krankheit schützen konnte. Bei

¹ A. a. O.

Wiederholung dieser Versuche konnte ich meine früheren Angaben voll-
auf bestätigen.

Versuch.

19./X. 91. Huhn Nr. 1, 2, 3, 4, 5 erhalten je 3.0^{cem} vollvirulenter
Tetanuscultur, von der 0.5^{cem} ein Kaninchen innerhalb drei Tagen an
Tetanus zu Grunde gehen lässt.

Die Hühner sind in den nächsten Tagen völlig munter.

23./X. erhielten alle fünf Hühner je 5.0^{cem} hochvirulenter Tetanus-
bouillon.

28./X. Erneute Injection von je 5.0^{cem}.

4./XI. Injection von je 5.0^{cem}.

6./XI. Injection von je 10.0^{cem}.

11./XI. Injection von je 10.0^{cem}.

Im Ganzen erhielt also jedes Huhn 38^{cem} hochvirulenter Tetanusbouillon,
ohne dass je ein Symptom von Tetanus sich bemerklich gemacht hätte.
Nach 14tägigem Warten entnahm ich aus der Flügelvene sämtlicher
vorbehandelter Hühner Blut und injicirte davon zwölf Mäusen je 1.0^{cem} in
die Bauchhöhle. Am folgenden Tage wurde diesen Mäusen eine Oese Te-
tanasagarcultur in die Schwanzwurzel eingebracht. Die sämtlichen
Mäuse starben, ebenso wie die Controlmäuse, ausnahmslos innerhalb
der nächsten 24—30 Stunden an typischem Tetanus.

Ich habe dieselben Versuche auch nach Pausen von drei und vier
Wochen wiederholt, aber immer mit demselben negativen Erfolge. Ich
bin demnach in der Lage, an dieser Stelle nochmals zu betonen, dass man
mit dem Blute des von Hause aus gegen Tetanus immunen Huhnes, auch
nach vorheriger Behandlung mit Tetanus, niemals ein gegen Tetanus
empfindliches Thier gegen diese Krankheit schützen kann.

Unsere gemeinsam ausgeführten, zuletzt erwähnten Versuche am Ka-
ninchen bewiesen, dass wir mittels Combination von Thymusauszug und
Tetanusculturen die Kaninchen innerhalb 14 Tagen gegen Tetanus zu
schützen vermochten.

Wir haben denselben Versuch mit dem gleichen erfolgreichen Aus-
gange bei 35 Kaninchen, die obigen hierbei mit einbegriffen, ausgeführt,
so dass wir also nach dieser Methode im Stande sind, 100 Proc.
aller Versuchsthiere mit Sicherheit zu schützen.

Dass der hierbei verliehene Schutz ein sehr bedeutender ist, geht
schlagend aus den Uebertragungsversuchen mit Blutserum hervor. Wenn
man bedenkt, dass bei der Einverleibung von 0.05^{cem} Kaninchenblutserum
eine Maus gegen eine Dosis von 0.1^{cem} Tetanusbouillon gefestigt wird,
einer Bouillon von der 0.0001^{cem} genügen, um die Controlmaus zu tödten,
so berechnet sich der Grad der verliehenen Festigung auf min-
destens 1000.

Hierbei berücksichtigen wir nicht einmal die Thatsache, dass mittels Serum nie der volle Grad des Schutzes, sondern nur ein Bruchtheil davon auf andere Thiere übertragbar ist, wie Ehrlich mathematisch sicher nachgewiesen hat. Bei den Kaninchen war demnach der verliehene Impfschutz noch ein viel höherer.

Weiterhin vermochten wir durch systematische Blutentnahmen bei den Kaninchen den Nachweis zu liefern, dass der Grad der Immunität in den ersten Wochen nach erlangter Festigung ohne irgend welchen weiteren Eingriff noch zunimmt. Ueber die Dauer derselben vermögen wir noch kein abschliessendes Urtheil abzugeben, nur soviel ist sicher, dass alle vor vier Monaten vorbehandelten Kaninchen noch heute vollkommen immun sind.

Nachdem also unsere Schutzimpfungsexperimente an Kaninchen so erfolgreich verlaufen waren, beschlossen wir auch den Versuch zu wagen, die gegen Wundstarrkrampf am höchsten empfindlichen Thiere, nämlich Mäuse, direct, d. h. ohne Zuhülfenahme von Serum, zu schützen, ein Versuch, der bislang noch nie gelungen war.

Versuch.

Sechs Mäusen wurden innerhalb vier Wochen Thymus-Tetanusmischung in zehn von 0.03^{cem} bis 1.0^{cem} allmählich steigenden Dosen intraperitoneal injicirt.

Alsdann wurden die Thiere, welche sich stets munter verhielten, mit einer Oese Tetanusagarcultur subcutan an der Schwanzwurzel inficirt. Die Controlthiere starben innerhalb der nächsten 24 Stunden an Tetanus, die sechs vorbehandelten Mäuse befinden sich heute noch wohl auf.

Oeftere Wiederholung dieser Versuche ergab stets denselben günstigen Ausgang.

Derartige Erfolge der Schutzimpfung gegen Tetanus bei so hochempfindlichen Thieren, wie es die Mäuse sind, waren bisher durch keine der üblichen Impfschutzmethoden zu erreichen. Insbesondere lässt sich ein solcher Effect niemals durch steigende Dosen von gewöhnlicher Tetanusbouillonculturerzielen. Selbst wenn man mehrere Male gerade an die eben tödtliche Dose von injicirter Tetanusbouillonculturer heranreicht und sich die Thiere von den ausgesprochenen tetanischen Symptomen immer wieder erholen, so werden doch dieselben Thiere bei der Application der sicher tödtlichen Menge ebenso prompt wie die Controlthiere getödtet. Man bedarf eben durchaus der genannten Zellstoffe, um die todspendenden Culturen in Schutzkraft verleihende Substanzen umzuwandeln.

Unser Schutzimpfungsverfahren entfaltet auch bei grösseren Thieren seine unfehlbare Wirksamkeit. Als Prüfstein für dasselbe diente ein sieben Monate alter Hammel. Diese Thiere sind wenigstens im ersten Lebens-

jahre sehr empfindlich gegen Tetanus, ältere Thiere hingegen sind etwas widerstandsfähiger. Für einen jungen Hammel reichen 0.5 ccm einer solchen Cultur hin, um ihn an Tetanus eingehen zu lassen. Bei Ziegen genügen schon 0.25 ccm dieser Cultur, um innerhalb vier Tagen typischen Tetanus mit tödtlichem Ausgange herbeizuführen, wie Brieger und Ehrlich bei ihren im Gange befindlichen Versuchen über Immunität durch Säugung an grösseren Thieren constatiren konnten.

Versuch.

Hammel. Gewicht 25.75 kg. Die Injectionen wurden sämmtlich subcutan in der Nähe der Schulter gemacht.

Datum	Temperatur	Vorbehandlung	Gewicht
6. Novbr.	40.7		
7. "	40.9		
8. "	40.2		
9. "	40.1		
10. "	39.5		
11. "	39.7		
12. "	39.7	0.3 ccm Tetanusbouilloncultur	25.75 Kilo.
13. "	39.7		
14. "	39.7		
15. "	39.7	0.5 ccm "	
16. "	39.6		
17. "	39.6		
18. "	39.5		
19. "	39.7	1.0 ccm "	
20. "	40.0		
21. "	40.0		
22. "	39.6	2.0 ccm "	25.75 Kilo.
23. "	39.6		
24. "	39.6		
25. "	39.9	5.0 ccm "	
26. "	39.6		
27. "	39.5		
28. "	39.9	10.0 ccm "	
29. "	39.7		
30. "	39.6		
1. Decbr.	39.6	0.5 ccm virulente Tetanusbouilloncultur	
2. "	39.5		
3. "	39.8		
4. "	39.6		
5. "	39.6	1.0 ccm "	
6. "	39.7		
7. "	39.6		
8. "	39.9	2.0 ccm "	
9. "	40.0		

(Fortsetzung.)

Datum	Temperatur	Vorbehandlung	Gewicht
10. Decbr.	39·7	4·0 ccm virulente Tetanusbouilloncultur	28·21 Kilo.
11. „	39·6		
12. „	39·7		
13. „	39·5		
14. „	39·7		
15. „	39·7	6·0 ccm „	
16. „	39·8		
17. „	39·6		
18. „	39·7		
19. „	39·6		
20. „	39·7		
21. „	39·6		

Wir haben also innerhalb von nicht ganz drei Wochen das Thier hochimmun gegen Tetanus erhalten. Denn die Gabe von 5·0 ^{ccm} Mischung tödtete andere Hammel bereits ausnahmslos. Dabei ist das Verfahren so sicher und wenig eingreifend, dass das Thier fast nie mit Fieber auf die Injectionen reagierte und am Ende der Behandlung noch eine ansehnliche Gewichtszunahme erfuhr.

Die Serumentnahme am Ende der Behandlung und das reactionslose Ertragen eines mit Tetanussporen imprägnirten Holzsplitters bezeugten nochmals den hohen Immunitätsgrad.

Bei den eben besprochenen Untersuchungen wurden als Infektionsquellen nur grössere Mengen hochvirulenter Bouillon- oder Agarculturen verwendet. Indessen entspricht dieser Infektionsmodus nicht ganz den natürlichen Verhältnissen. Wenn man einem Thiere 0·1 ^{ccm} vollvirulenter sporenhaltiger Bouilloncultur oder eine Oese Agarcultur einverleibt, so wird dasselbe innerhalb 24 Stunden vom Tetanus hinweggerafft. Der Tod der Thiere ist hier durch das miteingeflösste Tetanusgift verschuldet. Es handelt sich also hier um eine reine Intoxication.

Die Erkrankungen an Tetanus beim Menschen werden aber durch ganz andere Wege vermittelt. Hier ist man stets im Stande, sobald man nur einigermaßen sorgfältig untersucht, an irgend einem Körpertheile, gewöhnlich an den Extremitäten, den Träger der Tetanuskeime in Gestalt eines Fremdkörpers (Holzsplitter, Erdpartikel u. s. w.) rekognosciren zu können. Diese Thatsache findet auch ihre natürliche Erklärung in dem Umstande, dass sowohl das Tetanusgift, sowie die Tetanusbacillen ausserhalb des thierischen Organismus unter dem Einflusse der atmosphärischen Luft und des Lichtes in kurzer Zeit ihre deletäre Macht verlieren, dass eben nur die Sporen der Tetanusbacillen äusserst lange ihre Resistenz und damit ihre furchtbare Kraftäusserung zu bewahren vermögen. Sobald also

irgendwie beim Menschen ein wenn auch nur mit wenig Sporen imprägnirter Fremdkörper eingedrungen ist, keimen diese Sporen aus, die Bacillen vermehren sich und werfen vom Orte ihrer Ansiedelung aus erst ihr specifisches Gift in den Kreislauf herein. Wir haben es also hier mit einer wirklichen Infection zu thun; der Mensch inficirt sich mit Tetanus.

Nun war es durchaus nicht sicher, ob unsere Thiere, die gegen eine Intoxication mit Tetanus geschützt waren, auch gegenüber einer Infection sich refractär verhalten würden. Auf Veranlassung von Herrn Geheimrath Koch haben wir auch nach dieser Richtung hin, und zwar mit dem gewöhnlichen Infectionsträger des Tetanus, mit Holzsplittern, welche mit Tetanussporen imprägnirt waren, Versuche angestellt.

Versuch.

Eine grössere Anzahl von Holzsplittern wurde einen Tag lang mit äusserst virulenten, sporenhaltigen Tetanus-Bouillonculturen, die vorher eine Stunde lang auf 80° C. erhitzt worden waren, durchtränkt. Bei dieser Temperatur werden bekanntlich die Tetanusbacillen und ihr Gift zerstört, während allein die Sporen ihre Lebenskraft beibehalten. Nachdem die überschüssige Bouillon abgossen, wurden die sporentragenden Splitter getrocknet.

Sechs mit Thymus-Tetanusbouillon vorbehandelten Mäusen wurde je ein derartig präparirter Holzsplitter in eine Hauttasche an der Schwanzwurzel eingespiess, ebenso zwei Controlmäusen. Die sechs vorbehandelten Thiere blieben völlig frei von Tetanussymptomen, während die Controlmäuse nach 56 Stunden unter den typischen Erscheinungen des Tetanus eingingen.

Dasselbe günstige Resultat erhielten wir auch bei dem Hammel, welcher bereits zu den oben erwähnten Versuchen benutzt worden war.

Es ist uns demnach gelungen, Thiere auch gegen die Infection mit Tetanus zu schützen, mit anderen Worten, dieselben richtig zu immunisiren.

II. Untersuchungen über Cholera.

Unter allen Geschöpfen der Erde wird einzig der Mensch ausserordentlich leicht von der Cholera befallen. Nach Koch¹ erlangt dann „schon der einzelne Mensch durch das einmalige Ueberstehen der Cholera eine gewisse Immunität. Diese Immunität scheint nicht von langer Dauer zu sein, denn man hat genug Beispiele, dass ein Mensch, der während einer Epidemie befallen war, in einer anderen zum zweiten Male an der

¹ Die Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. *Deutsche medicin. Wochenschrift*. 1884. S. 522.

Cholera erkrankte; aber man hört selten, dass Jemand in derselben Cholera-epidemie zwei Male befallen wird.“

Im Gegensatz hierzu erkrankten Thiere in Cholerazeiten spontan nie an Cholera.¹ Indessen haben Nicati und Rietsch und insbesondere Koch² auf experimentellem Wege den Beweis erbracht, dass diese Immunität der Thiere nur eine scheinbare ist, dass nach Wegräumung der der Invasion der Choleraträger hinderlichen Schutzwälle (saurer Magensaft und Darmperistaltik) die Thiere ebenso rasch und unter denselben Symptomen wie der Mensch von einem wirklichen Cholerae processen ergriffen werden und demselben auch erliegen. Damit war auch die Basis für das Studium der künstlichen Immunität bei Cholera gegeben. Man hat aber derselben bisher noch nirgends Aufmerksamkeit zugewendet, vielleicht aus dem Grunde, weil die auf künstlichem Nährboden gezüchteten Cholera-träger alsbald ihre Wirksamkeit einbüßen und daher sich zu solchen Versuchen nicht mehr eignen.

Ein glücklicher Zufall fügte es, dass gerade beim Beginn unserer Studien über Immunität das Institut durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Pasquale aus Massaua in den Besitz von Choleraeulturen gelangt war, welche für Meerschweinchen sich als ungemein pathogen erwiesen, so dass bei genügender und richtiger Einverleibung derselben kein Thier dem Tode entgeht.

Alle unsere Versuche wurden nun mit Bouillonculturen dieser Cholera-vibrien angestellt, die drei Tage im Brütöfen verweilt hatten. War eine besonders starke Intoxication beabsichtigt, so wurden solchen Bouillon-culturen noch mittels Spatel abgekratzte Agarculturen zugefügt. Als Infectionsmodus wählten wir bei einem Theile unserer Versuche die intraperitoneale Infection, bei einem anderen Theile den von Koch³ vorgezeichneten Weg der directen Einverleibung in den Magen mittels Schlundsonde nach vorheriger Alkalisierung des Magensaftes und Ruhigstellung des Darmes durch Opium.

Als Versuchsthiere dienten uns ausschliesslich Meerschweinchen wegen der hohen Empfänglichkeit derselben für Cholera. Im Ganzen haben wir über 100 Meerschweinchen zu unseren Experimenten verwendet. 0.5^{ccm} Bouilloncultur führten bei Meerschweinchen von einem Gewicht von 300 bis 400^g mit absoluter Sicherheit bei intraperitonealer Application den Tod herbei. Per os genügten hierzu 5.0^{ccm} derselben Bouilloncultur.

Bei Meerschweinchen entwickelt sich nach der Cholerae infection ein ganz charakteristisches Krankheitsbild, das jedoch je nach der Incorporirung in etwas verschiedener Weise sich äussert.

¹ Koch, *Deutsche medicinische Wochenschrift*. 1884. S. 505.

² A. a. O.

³ A. a. O.

Injicirt man 0.5^{cem} einer Cholera-Bouilloncultur in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens, so verläuft die Krankheit innerhalb 12 bis 14 Stunden tödtlich. Unmittelbar nach dem Eingriffe verlieren die Thiere ihre natürliche Lebhaftigkeit, verkriechen sich in die Ecken ihres Stalles und kauern da in sich eingesunken still vor sich hin. Kurze Zeit darauf bemächtigt sich der Thiere eine gewisse Unruhe, sie versuchen ihren Ruheplatz zu verlassen, ihre Bewegungen sind aber schwerfällig und bald sinken sie kraftlos zu Boden. Allmählich bildet sich ein lähmungsartiger Zustand des Hintertheiles aus. Der Leib ist stark aufgetrieben und fühlt sich ungemein hart an. Bisweilen durchschütteln dabei krampfhaftes Zuckungen die Gesamt-Musculatur. In der Regel hält dieser Zustand 10 bis 12 Stunden an. Die Meerschweinchen sinken alsdann auf die Seite, athmen langsam und oberflächlich, verhalten sich ganz reactionslos. Kopf und Extremitäten fühlen sich kalt an und unter Collapsercheinungen verendet das Thier.

Bei der Infection vom Magen aus ist das Bild insofern ein etwas verschiedenartiges, als die Erscheinungen nicht mit blitzartiger Schnelle ablaufen und der Tod erst nach 1 bis 3 Tagen eintritt.¹

Bei der Obduction solcher an typischer Cholera zu Grunde gegangener Thiere präsentirt sich „der Dünndarm stark geröthet und schwappend, mit einer wässrig-flockigen, farblosen Flüssigkeit gefüllt.“² Häufig zeigt das Bauchfell deutliche Entzündungserscheinungen. Koch³ selbst hat bereits hervorgehoben, dass die Choleravibrionen durch ihre giftigen Producte ihre deletäre Macht entfalten. Besonders offenbart sich diese Thatsache bei den subcutanen oder intraperitonealen Injectionen von Culturen dieser Kommabacillen, da alsdann nach Koch in wenigen Minuten sich derselbe Symptomcomplex abspielt, „wie er bei cholerakranken Thieren erst 1 bis 2 Tage nach der Injection eintritt, nämlich die lähmungsartige Schwäche der hinteren Extremitäten, Kälte des Kopfes und der Beine, verlangsamte Respiration, welcher Zustand meistens nach einigen Stunden zum Tode führt.“⁴

Pfeiffer⁵ hat vor Kurzem in weiterer Ausführung der Koch'schen Beobachtung die toxischen Eigenschaften der Cholerabacillen, als am Leibe der Bacterien selbst haftend, angesprochen und die interessante Wahrnehmung gemacht, dass die intraperitoneal injicirten lebenden Bacillen bald im Thierkörper vernichtet werden.

¹ Vergl. Koch, a. a. O. S. 6.

² Vergl. Koch, a. a. O. S. 7.

³ A. a. O. S. 8. ⁴ A. a. O. S. 8.

⁵ *Diese Zeitschrift*. Bd. XI. S. 393.

Aus diesen Erörterungen darf man folgern, dass, wenn auch die Thiere gegen Cholera immun sind, sie der Giftfestigkeit ermangeln. Die Cholera-vibrionen sind somit nicht infectiös, sondern pathogen für die Versuchsthiere.

Da die Cholera-vibrionen auf Thymusauszügen sehr rasch und üppig wachsen, so haben wir bei unseren Versuchen mit Vorliebe mit Thymus-Cholera-bouillon operirt, weniger hingegen mit Mischung. Hinsichtlich unserer Versuchsanordnung wichen wir auch von der bei Tetanus geschilderten Methode etwas ab, weil wir die Wahrnehmung machten, dass die Thymus-Cholera-bouillon noch einen so hohen Grad von Toxicität besass, dass die Einführung der zur Schutzimpfung nöthigen Mengen dieser Flüssigkeit mit grossem Thierverlust verbunden war. Ueberhaupt erwies sich das Cholera-gift viel widerstandsfähiger als das Tetanus-gift. Wir haben daher unsere Thymus-Cholera-bouillon 15 Minuten lang auf 65° C. erhitzt und damit unsere Thiere vorbehandelt. Die Toxicität war alsdann fast völlig geschwunden, während die immunisirende Kraft noch wohl erhalten blieb.

Versuch.

8./XI. Meerschweinchen Nr. 1	. . .	Gewicht 315 ^{grm}
"	" 2	. . . " 340 "
"	" 3	. . . " 365 "
"	" 4	. . . " 355 "
"	" 5	. . . " 370 "
"	" 6	. . . " 375 "

erhalten je 1.0^{cem} drei Tage alter Thymus-Cholera-bouillon, die 15 Minuten lang auf 65° C. erhitzt worden war, intraperitoneal eingespritzt.

9./XI. Also am nächsten Tage bereits wurde diesen Thieren nebst drei Controlmeerschweinchen je 1.0^{cem} virulenter Bouilloncultur, die drei Tage lang im Brutschrank gestanden hatte, intraperitoneal einverleibt. Nach fünf bis sechs Stunden erscheinen die vorbehandelten Thiere leicht krank, sie reagirten nämlich träge und sassen ruhig in geduckter Haltung im Käfig. Die Controlthiere sind aber um diese Zeit schon von den oben geschilderten schweren Krankheitserscheinungen heimgesucht. Das eine stirbt nach acht Stunden, die anderen beiden innerhalb zehn bis zwölf Stunden nach der Injection.

Alle vorbehandelten Thiere tummeln sich am nächsten Morgen wieder munter im Käfig herum.

17./XI. Acht Tage nach dieser Intoxication wird den gleichen Thieren wiederum je 1.0^{cem} hochvirulenter Cholera-Bouilloncultur in die Bauchhöhle applicirt, ebenso zwei Controlthieren. Genau dieselbe Scene, wie sie eben geschildert, spielte sich wieder vor unseren Augen ab.

Die vorbehandelten und bereits einmal mit Cholera vergifteten Thiere wurden wieder für einige Stunden leicht krank, erholten sich aber wieder am nächsten Tage, die Controlthiere verschieden innerhalb zehn bis zwölf Stunden an typischer Cholera-vergiftung.

Wir haben diese Versuche an weiteren 60 Meerschweinchen wiederholt. Es stellte sich indessen in der Folge heraus, dass bei mehreren dieser vorbehandelten Thiere nach der Injection von 1.0^{ccm} Cholera-Bouilloncultur der oben beschriebene leichte Symptomcomplex genügte, um einzelne Thiere hinwegzuraffen. Im Ganzen haben wir bei über 90 Einzelversuchen festgestellt, dass 80 Proc. der vorbehandelten Thiere trotz wiederholter stärkster Intoxication am Leben blieben. Die Controlthiere gingen stets prompt zu Grunde.

Das wichtigste Ergebniss dieser Versuche ist der ungemein rasche Eintritt des Giftschutzes. Denn schon nach 24 Stunden zeigen sich die Thiere gegen die doppelt tödtliche Dosis von Choleragift gefestigt. Diese Thatsache dürfte bei etwaiger Uebertragung unserer Schutzimpfungsmethode gegen Cholera in die Praxis von nicht zu unterschätzender Bedeutung sein. Denn bei einer gerade herrschenden Epidemie würde ein Schutz, der erst nach Wochen sich geltend macht, höchst problematisch sein. Weiterhin kommt dieser Impfschutz einem Heilmittel sehr nahe. Denn sobald man ein krankes Thier oder einen erkrankten Menschen gegen den specifischen Krankheitserreger während der Krankheit selbst schützen, d. h. unempfindlich machen kann, hat diese Krankheit für ihn den gefährlichen Charakter verloren, er ist eben geheilt. In diesem Falle bei einem bereits kranken Individuum bedeutet Giftschutz Heilung. Wir konnten derartige Heilversuche bei Thieren nicht anstellen, da hier die Cholera, wie oben ersichtlich, nicht einmal 24 Stunden dauert. Ist aber die Dauer der Krankheit eine derartige, wie es in praxi öfters vorkommt, dass der Schutzkraft gegen das Choleragift noch Zeit verbleiben würde, voll in Thätigkeit zu treten, dann dürften die Chancen günstiger liegen.

Der von uns erzielte Schutz gegen Choleragift währt nicht länger als zwei Monate. Es nimmt dies nicht Wunder, da ja bei der künstlichen Schutzimpfung als Regel gilt, dass je rascher die Festigung erreicht wird, desto kürzere Zeit sie auch anhält.

Dass nun die Zellsubstanzen der Thymusdrüse bei dem Zustandekommen dieses Giftschutzes von höchster Bedeutung sind, und dass ein gleicher Erfolg ohne dieselben nicht zu erreichen ist, erhellt aus Versuchen mit einfachen Bouillon- oder Agar-Culturen.

Injicirt man nämlich 1.0^{ccm} einer 15 Minuten lang auf 65° C. erhitzten Bouilloncultur behufs Vorbehandlung, so gehen schon daran die meisten Thiere zu Grunde oder werden wenigstens schwer krank. Man ist also gezwungen, geringere Mengen davon anzuwenden, die aber nicht im Mindesten genügen, irgend welchen Giftschutz zu gewähren. Beim

Erhitzen derartiger Culturen auf mehr als 65° C., wodurch allerdings das Cholera Gift mehr oder weniger zerstört wird, bleibt erst recht jeder Erfolg aus. Uebrigens werden Thiere, welche eine schwere Cholera-vergiftung bereits überstanden und sich davon gänzlich erholt haben, bei einer erneuten Injection mit einer der früheren Gabe gleichen Quantität von Cholera Gift ohne Weiteres hinweggerafft.

Die Hauptrolle, welche den Zellsubstanzen bei unseren Versuchen zufällt, beruht also in ihrer giftzerstörenden Eigenschaft. Dieselbe schwächt bei Cholera das Gift so weit ab, dass bei nachfolgender Erhitzung auf nur 65° C. dieses vollkommen zerstört wird und so völlig genügende Mengen der immunisirenden Substanz eingespritzt werden können.

Aus unseren bei der Cholera und beim Tetanus gesammelten Erfahrungen glauben wir berechtigt zu sein, den Satz aufzustellen, dass toxisches und immunisirendes Princip zwei gänzlich verschiedene Dinge sind. Denn obgleich wir die Giftigkeit unserer Culturen herabsetzten, gewannen und erhöhten wir sogar ihre schützende Kraft. Zu gleichen Resultaten kam auch Carl Fränkel.¹ Einen weiteren Beweis für diese unsere Behauptung bieten die nachfolgenden Thatsachen.

Ausser der oben erwähnten, frischen, hochvirulenten Cultur aus Massaua verfügten wir noch über eine alte, aus der Epidemie in Toulon stammende Cultur, welche Jahre hindurch im Koch'schen Institute fortgezüchtet worden war. Dieselbe hatte hierbei im Laufe der Zeit ganz erheblich an Giftigkeit verloren. Trotzdem waren wir im Stande, mit derselben die Thiere gegen die andere, sehr hochgiftige Cholera-cultur zu schützen.

Versuch.

Meerschweinchen Nr. 1		Gewicht 380 ^{grm}
" " 2		" 370 "
" " 3		" 390 "
" " 4		" 350 "
" " 5		" 355 "
" " 6		" 360 "

erhielten je 1.0^{cem} drei Tage alter Thymus-Cholera(Toulon)-Bouillon, welche 15 Minuten lang auf 65° C. erhitzt worden war, intraperitoneal. Am folgenden Tage wurde allen Thieren nebst dreien Controlthieren je 1.0^{cem} hochvirulenter (Massaua)-Bouilloncultur in die Bauchhöhle gespritzt.

Nach vier Stunden waren die drei Controlmeerschweinchen, sowie Nr. 4 der vorbehandelten Meerschweinchen schwer krank. Die übrigen fünf schutzgeimpften Thiere zeigten die schon erwähnten leichteren Vergiftungserschei-

¹ I. Untersuchungen über Bacteriengifte von L. Brieger und C. Fränkel. — II. Immunisirungsversuche bei Diphtherie von Carl Fränkel. *Berliner klinische Wochenschrift*. 1890. S. 11, 35.

nungen. Am nächsten Morgen wurden die drei Controlthiere, sowie das schwer erkrankte Meerschweinchen Nr. 4 todt im Stalle aufgefunden, während sich die übrigen Thiere wieder völlig erholt hatten.

Bei Wiederholung dieses Versuchs ergab sich fast ausnahmslos das Vorhandensein der Schutzkraft der wenig giftigen Cultur gegenüber der virulenten.

Wir haben dann bei der Prüfung der Gifffestigung unserer Thiere die Intoxication noch stärker gewählt.

Zu diesem Behufe kratzten wir die Culturmasse aus üppig gewachsenen Agarculturen ab und schwemmten diese noch in hochgiftigen Cholera-Bouillonculturen, welche drei Tage lang bei Brüttemperatur gestanden hatten, auf. Von dieser Aufschwemmung erhielten die vorbehandelten Meerschweinchen je 1.0^{cem} intraperitoneal. Trotzdem überlebten 80 Procent unserer Versuchsthiere diese furchtbare, in der Natur wohl nie vorkommende Intoxication.

Noch blieb uns übrig, den von Koch¹ zuerst angegebenen Infectionsmodus zu versuchen, da dieser, wie Koch selbst betont, dem wirklichen Choleraprocess beim Menschen entspricht.

Versuch.

5./XI. Meerschweinchen Nr. 1		Gewicht 510 ^{gram}
"	" 2	 " 560 "
"	" 3	 " 560 "
"	" 4	 " 480 "
"	" 5	 " 520 "

erhalten je 1.0 Thymus-Cholerabouillon (15 Minuten auf 60° erhitzt) intraperitoneal.

7./XI. Wiederholung der schützenden Einspritzung.

9./XI. Allen fünf Thieren, sowie zwei Controlthieren wurde mittelst Schlundsonde 5^{cem} einer 5procentigen Sodalösung in den Magen eingeflösst. Nach einer halben Stunde erhielten die sieben Thiere 5^{cem} hochvirulenter Cholera-Bouilloncultur auf dieselbe Weise in den Magen einverleibt, und gleichzeitig je 1.0 Opiumtinctur in die Bauchhöhle. Nach ca. fünf Minuten lagen alle Thiere in tiefer Narcose. Dieser Zustand dauerte ca. eine halbe Stunde, dann erholten sich sämtliche Thiere.

11./XI. Die Controlthiere sind gestorben. Die vorbehandelten Meerschweinchen hingegen ganz munter. Die Obduction der gestorbenen Thiere ergab den bereits von Koch geschilderten Befund der intensivsten Röthung der Dünndarmschlingen, die mit Flüssigkeit prall gefüllt waren, in der massenhaft Choleravibrionen nachgewiesen werden konnten.

Ganz genau denselben Versuch haben wir bei 20 weiteren Meerschweinchen wiederholt. Von diesen haben 16 den Eingriff überlebt,

¹ A. a. O.

während sämtliche Controlthiere in kürzester Frist verendeten. Hieraus berechnet sich die Zahl der durch die Schutzimpfung gegen Cholera gefestigten Thiere wiederum auf 80 Procent.

Man vermag also durch Vorbehandlung vom Peritoneum aus auch gegen nachfolgende Cholera-Infection vom Darme her in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle zu schützen.

III. Untersuchungen über Diphtherie.

Der erste Autor, welcher bei Diphtherie erfolgreiche Schutzimpfungsversuche veröffentlichte, ist Carl Fränkel.¹ Fast gleichzeitig erschien die bekannte Behring'sche Arbeit² über das Zustandekommen der Immunität bei Diphtherie, in welcher Behring sein Verfahren zur Immunisirung der Thiere gegen Diphtherie mittheilte und in der dann weiterhin die grundlegende Thatsache von der Schutz- und Heilwirkung des Blutserums solcher künstlich immunisirter Thiere bekannt gegeben wurde.

Carl Fränkel hat günstige Resultate mit Diphtherie-Culturen erhalten, welche eine Stunde lang auf 65 bis 70° C. erhitzt worden waren. Fränkel benötigte davon für Meerschweinchen 10 bis 20 ccm. Der Schutz trat nach 14 Tagen ein. Behring bediente sich hauptsächlich der Combination von Jodtrichlorid und Culturen.

Bei einer Krankheit also, bei der schon positive Resultate vorlagen, konnte es für uns nur wichtig sein, überhaupt die Thatsache festzustellen, ob mit unserem Verfahren ebenfalls Schutz zu erreichen ist und ob die Zellsubstanzen auch auf das Diphtheriegift zerstörend einwirken, sowie die etwaigen Vorzüge dieser Methode vor den anderen zu constatiren. Alle diese Punkte können wir in positivem Sinne beantworten.

Liessen wir Bacillen aus einer Diphtherie-Bouilloncultur, von der 0.05 ccm ein mittelgrosses Meerschweinchen innerhalb 48 Stunden tödtete, analog wie bei Tetanus auf Thymus-Bouillon wachsen, so konnten wir von dieser Cultur bei reichlichster Entwicklung der Bacillen 0.5 bis 1.0 ccm Meerschweinchen injiciren, ohne dass dieselben an Diphtherie eingingen. Erst bei grösseren Mengen 1.5 oder 2.0 ccm starben die Thiere. Das Toxalbumin der Diphtherie-Bacillen hatte also auch hier beträchtlich an seiner deletären Wirksamkeit verloren.

Die Herabsetzung des toxischen Effectes war indessen doch nicht so bedeutend, dass wir dem Thiere, die zum Schutze nöthigen Mengen, 2 bis 3 ccm ohne Weiteres verabreichen konnten. Wir waren deshalb genöthigt

¹ *Berliner klinische Wochenschrift*. 1890. S. 1133.

² *Deutsche medicinische Wochenschrift*. 1890. S. 1145.

die Thymus-Diphtherie-Bouillon oder Mischung erst noch 15 Minuten auf 65 bis 70° C. zu erhitzen.

Durch diese Prozeduren wird das toxische Princip alsdann gänzlich eliminirt, während die schützende Kraft unverändert bestehen bleibt, sodass alsdann die erfolgreiche Vorbehandlung ohne Weiteres gelingt.

Versuch.

5./X.	Meerschweinchen	Nr. 1	. . .	wiegt	330 ^{gm}
	"	"	2	. . .	" 335 "
	"	"	3	. . .	" 345 "
	"	"	4	. . .	" 337 "

erhielten 2·0^{cem} Thymus-Diphtheriebouillon, die 15 Minuten lang auf 65° C. erhitzt war, intraperitoneal.

7./X. Desgleichen.

11./X. Desgleichen.

20./X. wurde diesen Thieren nebst zwei Controlthieren 0·1^{cem} virulenter Diphtherie-Bouilloncultur, von der 0·04^{cem} die unbedingt tödtliche Dosis war, einverleibt.

21./X. Bei allen Thieren ist die Impfstelle ödematös.

22./X. Die Controlthiere sind todt. Typischer Obductionsbefund der Diphtherie.

Die vorbehandelten Thiere haben bis heute überlebt und noch mehrere Infectionen überstanden. Dagegen stiess sich bei allen diesen Thieren die Umgebung der Impfstelle nekrotisch ab. Unter diesem nekrotisirenden Schorfe konnten wir noch nach einigen Wochen lebende Diphtheriebacillen nachweisen. Die Thiere waren also nicht immun, sie waren giftfest. Die Diphtherie verlief bei ihnen rein local. Gegen das gefährliche todtbringende Gift waren die Thiere geschützt.

Wir haben an 70 weiteren Meerschweinchen die analogen Versuche angestellt. Von denselben wurde der weitaus grössere Theil nach 14 Tage langer Vorbehandlung gegenüber der unbedingt tödtlichen Infection am Leben erhalten, ein geringer Bruchtheil derselben jedoch erlag.

Es giebt eben bis jetzt kein Verfahren, welches Meerschweinchen mit Sicherheit ausnahmslos gegen absolut tödtliche Diphtherie schützt.

Immerhin führt die soeben beschriebene Methode unter allen bisher bekannten Schutzimpfungsverfahren gegen Diphtherie am raschesten zum Ziele und ist mit dem geringsten Verluste verknüpft. Wir haben uns weiter bemüht, für diese so wichtige Krankheit einen rascheren Eintritt des Schutzes zu erzwingen. Auf diesen Punkt werden wir noch im Schlusswort zu sprechen kommen.

IV. Untersuchungen über Typhus.

Hinsichtlich des Typhuserregers herrscht noch vielfach die Meinung, dass er für Thiere nicht pathogen ist. Selbstverständlich mussten wir vor Allem über diesen strittigen Punkt uns Klarheit verschaffen. Nach den Ergebnissen unserer diesbezüglichen Experimente aber steht es unzweifelhaft fest, dass der Koch-Eberth-Gaffky'sche Typhusbacillus für bestimmte Thierspecies als pathogen betrachtet werden muss. Weisse Mäuse und Meerschweinchen gehen ausnahmslos nach der intraperitonealen Injection von Typhusbacillen zu Grunde. Freilich ist damit nur bewiesen, dass eben dieser Mikroorganismus für die betreffenden Thiere pathogen, d. h., dass er sie krank zu machen im Stande ist. Ob diese Krankheit dann als eine Infection, d. h. hervorgerufen durch die Vermehrung der Parasiten im Thierkörper, oder als eine Intoxication, also eine Wirkung des mit den Bacillen einverleibten Giftes, aufzufassen ist, diese Frage bleibt damit noch offen. Ueber diesen Punkt hat bereits schon im Jahre 1887 zwischen Beumer und Peiper¹ einerseits und E. Fränkel und Simmonds² auf der anderen Seite ein lebhafter Meinungswechsel stattgefunden. Diese Frage ist bis auf den heutigen Tag noch nicht ganz entschieden, und wir mussten daher derselben ebenfalls näher treten, allerdings nur insoweit, als es sich um die Auffassung der Wirksamkeit unserer Zellsubstanzen handelte.

Wir pflichten Sirotinin,³ sowie Beumer und Peiper⁴ vollkommen bei, dass der Tod der Thiere nach Einverleibung von Typhusbacillen als die Folge von Intoxication zu betrachten ist.

Bei Thierversuchen mit Typhusbacillen ist es nöthig, stets üppig gewachsene, mindestens drei Tage alte Culturen anzuwenden und den Einverleibungsmodus so zu wählen, dass ein möglichst rascher Uebergang des Giftes in den Gesammtorganismus erzielt wird. Besonders beachtenswerth ist noch die von Hause aus sehr schwankende Virulenz der verschiedenen Typhusculturen. Wir hatten Gelegenheit, auf der Krankenabtheilung des Instituts uns von verschiedenartigen Fällen von Typhus abdominalis, in allen Stadien der Krankheit, Typhusbacillen rein zu züchten und konnten uns hierbei von diesem Unterschied in dem toxischen Effect der einzelnen Culturen überzeugen. Während von der einen Bouilloncultur 0.4 ^{ccm} eine Maus noch nicht tödteten, genügten von einer anderen bereits 0.1 ^{ccm} um das Thier innerhalb 18 bis 24 Stunden eingehen zu lassen.

¹ *Diese Zeitschrift.* Bd. II. S. 110 ff. u. S. 382.

² *Ebenda.* Bd. II. S. 138.

³ *Ebenda.* Bd. I. S. 465.

⁴ *Ebenda.* Bd. II. S. 138.

Zu unseren Schutzimpfungsversuchen benutzten wir eine hochvirulente Cultur, die aus den Mesenterialdrüsen eines an Typhus auf der Höhe der Krankheit verstorbenen Mannes stammte. Eine mit diesen Bacillen beschickte, drei Tage alte Bouilloncultur tödtete in der Gabe von 0.1 ^{ccm} jede Maus innerhalb der ersten 24 Stunden, für ein Meerschweinchen von 300 bis 400 ^{gmm} Gewicht genügten davon 0.5 ^{ccm}, um den Tod innerhalb der gleichen Frist herbeizuführen. Die genannten Thiergattungen erwiesen sich überhaupt als am empfindlichsten gegen Typhus. Andere Thiere, wie Kaninchen, sind viel widerstandsfähiger gegenüber der Typhus-intoxication und daher für solche Versuche ganz ungeeignet.

Injicirt man einer Maus 0.1 ^{ccm} genannter hochvirulenter Typhus-Bouilloncultur in die Bauchhöhle, so treten schon nach 1 bis 2 Stunden die ersten Vergiftungserscheinungen auf. Die Thierchen sitzen ruhig mit gekrümmtem Rücken, reagiren träge auf äussere Eindrücke. Die Fresslust ist gänzlich aufgehoben. Nach 10 bis 12 Stunden machen die Mäuse bereits einen schwer kranken Eindruck. Es sind die Augen verklebt, das Fell ist struppig und beim Seitwärtsneigen des Mäusebehälters fallen die Thiere kraftlos zur Seite. Dieser Zustand der Betäubung leitet dann unmerklich den Tod der Thiere ein. Ganz analog entwickelt sich auch bei Meerschweinchen das Krankheitsbild. Die gleichen schweren Vergiftungssymptome beenden auch hier innerhalb 24 Stunden das Leben.

Bei einer Krankheit, welche wie der Typhus abdominalis noch Jahr ein, Jahr aus zahlreiche Opfer unter den Menschen fordert, empfindet der Praktiker am ehesten das Bedürfniss nach einem specifischen Schutzimpfungs- und Heilverfahren. Das Verdienst, seine Kräfte nach dieser Richtung hin zuerst bethätigt zu haben, gebührt Beumer und Peiper.¹ E. Fränkel und Simmonds hatten allerdings bereits früher bei für diese Zwecke völlig unbrauchbaren, weil von Hause aus wenig für Typhusgift empfänglichen Thieren, bei Kaninchen, eine gewisse Immunität beobachtet. Beumer und Peiper injicirten erst kleinste Mengen einer Aufschwemmung von Typhusbacillen, welche Kartoffelculturen entnommen worden waren, dann nach mehreren Tagen einen Tropfen davon u. s. f. bis zur Erreichung der für nicht vorbehandelte Thiere tödtlichen Dosis.

Wir haben dieses Verfahren nachgeprüft und können bestätigen, dass in einem Theile der Fälle bei Mäusen Giftfestigung zu erreichen ist, bei der grösseren Mehrzahl der Mäuse hingegen, sowie insbesondere bei Meerschweinchen, führt dieses Verfahren niemals zum Ziele. Bei der enormen Empfänglichkeit des Menschen für auch noch so geringfügige Mengen des Typhuserregers verbieten sich derartige Schutzmassregeln in praxi von selbst.

¹ A. a. O.

Unser Schutzimpfungs-Verfahren bei Typhus abdominalis beruht auf denselben Principien, wie das gegen Cholera soeben erörterte. Auch hier liessen wir die Bacillen drei Tage lang auf Thymusbouillon wachsen. Die in den Zellen der Thymus enthaltenen antitoxischen Stoffe bewirkten dann bereits eine derartige Abschwächung des specifischen Typhusgiftes, dass bei der nachherigen Erhitzung auf 60° C. die zur Schutzimpfung erforderliche Menge ohne jede Gefahr einverleibt werden konnte. Mit gewöhnlicher virulenter Bouillon kann man einen solchen Effect nicht erreichen. Das Typhusgift ist so widerstandsfähig, dass es ohne den gleichzeitigen Einfluss des Thymuszellenextractes bei 60° C. nicht so weit zerstört wird, um die Thiere bei der nachherigen Vorbehandlung intact zu lassen.

Unsere Versuche an weissen Mäusen und Meerschweinchen ergaben, dass die einmalige Vorbehandlung mit auf 60° C. während 15 Minuten erhitzter Thymus-Typhusbouillon diese gegen die Typhusintoxication höchst empfindlichen Thiere ausnahmslos nach Verlauf von 10 Tagen gegen virulentesten Typhus schützt.

Versuch.

26./X. Maus Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6 erhielten je 0.5^{cem}, 15 Minuten lang auf 60° C. erhitzter Thymus-Typhusbouillon. Sofort nach der Injection büssten die Thiere Etwas von ihrer gewohnten Lebendigkeit ein. Am nächsten Morgen sind sie so munter wie gewöhnlich.

7./XI. erhalten alle vorbehandelten Thiere ebenso wie drei Controlthiere 0.3^{cem} virulentester Bouillon in die Bauchhöhle. Nach 14 Stunden sind die drei Controlthiere gestorben, alle vorbehandelten Mäuse blieben völlig gesund.

Gleiche Versuche an einer grossen Menge Mäuse waren stets von demselben positiven Erfolge gekrönt.

Andererseits haben wir es auch nicht unterlassen, wie oben bereits erwähnt, Controlversuche mit Typhus-Peptonbouillon, welche ebenfalls 15 Minuten lang auf 60° C. erhitzt worden war. Nur ein minimaler Bruchtheil der damit behandelten Mäuse, niemals aber, wie wir hier gleich bemerken wollen, Meerschweinchen können auf diese Weise gegen das Typhusgift gefestigt werden.

Die mit Thymus-Typhusbouillon an Meerschweinchen angestellten Experimente sind ebenso günstig verlaufen, wie die soeben an Mäusen geschilderten, obgleich ein Schutz dieser Thiere ungleich schwieriger zu erreichen ist.

Versuch.

17./XI. Meerschweinchen Nr. 1, 2, 3, 4, 5 erhielten intraperitoneal 3.0^{cem} Thymus-Typhusbouillon, die vorher 15 Minuten lang auf 60° C. erhitzt worden war.

22./XI. Desgl.

29./XI. Desgl.

Am 6./XII. wurde diesen fünf Thieren, sowie drei zur Controle dienenden Meerschweinchen je 1.0^{cem} hochvirulenter Typhus-Bouilloncultur in die Bauchhöhle gespritzt.

Am nächsten Tage waren die Controlthiere todt, die vorbehandelten blieben völlig munter.

Dieses an vielen anderen Meerschweinchen wiederholte Experiment bestätigte vollauf die günstigen Ergebnisse, so dass wir also durch eine derartige Vorbehandlung im Stande sind, ausnahmslos alle Thiere gegen die sonst absolut tödtliche Typhusintoxication zu schützen.

In gleich günstiger Weise beeinflussen auch Fischsperma- und Lymphdrüsen-Typhusbouillon die Giftfestigkeit bei Typhus.

Wir haben dann fernerhin die Gelegenheit benutzt, das von Behring gefundene, für die Medicin so überaus wichtige Fundamentalgesetz der specifischen Schutz- und Heilkraft des specifischen Blutserums auch für den Typhus zu prüfen. Die von uns auch hierbei erzielten positiven Erfolge sind nur eine weitere Bestätigung des von Behring proclamirten Grundgesetzes der Medicin.

Versuch.

20./XII. Einem vorbehandelten Meerschweinchen, welches auf 1.5^{cem} hochvirulenter Typhus-Bouilloncultur am 8./XII. nicht mehr reagirt hatte, wurde die Carotis der linken Seite eröffnet und 8^{cem} Blut entnommen. Die Carotis wurde unterbunden und die Wunde vernäht. Das Thier blieb am Leben.

Das steril aufgefangene Blut wurde behufs Abscheidung des Serums 24 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Am nächsten Tage wurden dann Maus Nr. 1, 2, 3, 4 1.0 resp. 0.5, 0.3, 0.1^{cem} Serum in die Bauchhöhle injicirt.

Nach 24 Stunden wurde diesen Mäusen nebst drei Controlthieren je 0.2 virulenter Bouillon in die Bauchhöhle gebracht. Die Controlthiere starben nach 18 Stunden, die mit Serum vorbehandelten waren nie krank.

Von demselben Serum erhielten Maus Nr. 1, 2, 3 intraperitoneal und gleichzeitig damit nebst zweien zur Controle dienenden Mäusen je 2.0^{cem} Typhusbouillon. Die Controlthiere wurden am nächsten Morgen todt aufgefunden, die gleichzeitig mit Serum behandelten blieben ganz munter. Der Schutz, mit anderen Worten die Heilung, tritt also hier sofort ein.

Das Blutserum künstlich immunisirter Thiere übt also, gleichwie es Behring und Kitasato für Tetanus und Behring für die Diphtherie dargethan haben, auch bei Typhus Schutz und Heilwirkung aus.

Ob die Blutserumtherapie auch für den Typhus abdominalis beim Menschen praktische Consequenzen zeitigen wird, kann erst die Zukunft lehren.

Hinsichtlich der Dauer der Gifffestigung gegen Typhus können wir vorläufig noch kein endgültiges Urtheil fällen. Unsere vor ca. 4 Monaten behandelten Thiere sind gegenwärtig noch vollkommen giftfest.

Es ist uns also gelungen, durch unsere Vorbehandlung allen Versuchsthiere nach 10 Tagen die Fähigkeit zu übertragen, das sie bedrohende Typhusgift jeder Zeit siegreich zu überwinden.

Wären wir nun im Stande, einem an Typhus bereits erkrankten Menschen diese Eigenschaft zu verleihen, dann müsste er auch, sobald die Wirkung der übertragenen Schutzkraft sich geltend macht, genesen. Je schneller man ein von einer specifischen Krankheit ergriffenes Individuum gegen diese schützen kann, desto schneller und sicherer wird dasselbe dann geheilt werden, denn Schutz und Heilung sind, wie schon oben erörtert, in diesem Falle identisch.

Für die praktischen Zwecke wäre aber ein Schutz, der erst nach 10 Tagen sich entfalten kann, illusorisch. Wir haben daher auch nach anderen Methoden, welche eventuell der Praxis zu Gute kommen können, gefahndet, und sind in der That in weiterer Consequenz unserer Versuche auf Wege geleitet worden, die uns gestatten, Thiere oft schon innerhalb 24 Stunden, sicher aber nach 48 Stunden gegen das Typhusgift zu schützen.

Auf die näheren Einzelheiten werden wir im Schlussworte unserer Abhandlung noch zurückkommen.

V. Untersuchungen über Erysipel.

Auch bei dieser Affection versuchten wir die Wirkung der genannten Zellsubstanzen zu erproben. Indessen ist es misslich, gerade bei Erysipel ausgedehnte Thierversuche anzustellen, da man, um sichere, gleichmässige Resultate zu erzielen, stets über frische Culturen verfügen muss, die natürlich nicht jeder Zeit zu Gebote stehen.

Wir haben uns daher darauf beschränkt, einige Male als bei der Anwesenheit von Erysipelkranken auf der Krankenstation uns Gelegenheit geboten wurde, über ganz frische Erysipelculturen zu verfügen, den Einfluss der Thymuszellsubstanzen auf diese Art der Streptokokken zu studiren. Wir konnten dann in mehreren Versuchen feststellen, dass die Impfung mit den auf Thymus gezüchteten Erysipelkokken völlig resultatlos blieb, während die mit demselben auf Bouillon gezüchteten

Ausgangsmaterial behandelten Controlthiere ausnahmslos erkrankten. Also auch hier bewährte sich, soweit die wenigen Versuche eine Schlussfolgerung gestatten, die giftzerstörende Kraft der Thymuszellsubstanzen.

Ueber Septicämieen.

Bereits in der Einleitung haben wir eine scharfe Grenze gezogen zwischen den toxisch und den septicämisch verlaufenden, parasitären Krankheiten. Bei den toxischen Erkrankungen erzeugt die blosse Anwesenheit der Bakterien als solcher keineswegs den charakteristischen Krankheits-typus, denn dieser vollzieht sich erst auf Grund der gewaltigen Kraft-äusserung der von diesen Bakterien abgesonderten Giftstoffe. Daher ist es ohne Weiteres verständlich, dass z. B. beim Tetanus die nur an dem Orte der Einimpfung sich ansiedelnden, relativ wenig zahlreichen Bakterien nicht gefährlich werden können, wofern sie nur ihrer specifischen Giftbildung beraubt sind. Demgemäss musste sich bei den in Rede stehenden Affectionen, wie Tetanus, Cholera u. s. w. unser Augenmerk darauf richten, den Organismus zur Ueberwindung des specifischen Giftes mit einem specifischen Gegengifte auszurüsten.

Ganz anders aber gestalten sich die Verhältnisse bei den septicämischen Processen. Greifen wir als Prototyp dieser Krankheiten den Milzbrand heraus. Bekanntlich wachsen, wenn ein Thier vom Milzbrand befallen wird, die Milzbrandbacillen im Innern desselben in kürzester Frist zu ungeheuren Mengen heran, sodass schon allein diese enorme Anhäufung und Vermehrung der Bacillen an und für sich ein mechanisches Hinderniss bereitet, welches das Getriebe der zum Leben unumgänglich notwendigen vegetativen Functionen unterbindet und schliesslich ganz lahmlegt. Um nun Thiere vor Milzbrand zu behüten, müssten Mittel und Wege zu Gebote stehen, welche die in den Körper eindringenden und daselbst ausserordentlich rasch wuchernden Bakterien direct zum Absterben bringen. Das Gleiche gilt von den übrigen septicämischen Erkrankungen. Denn auch hier beherrscht in erster Linie die Massenhaftigkeit der im Organismus sich aufstapelnden Bakterien die Krankheitssymptome, während die specifische Giftbildung diesem Factor gegenüber nur eine untergeordnete Bedeutung beanspruchen kann. Damit ist das wesentlichste Unterscheidungsmerkmal zwischen den beiden erwähnten Krankheitsgruppen gegeben. Man wird also Seuchen septicämischen Ursprunges nur dann erfolgreich zu bekämpfen vermögen, wenn man es verstehen wird, die Bakterien selbst im Organismus abzutöden.

Die Septicämieen, für welche die obige Definition der Infection am ehesten zutrifft, lassen sich am besten an Thieren studiren, da sie fast

alle ausgesprochene Zoonosen sind. Sie verhalten sich somit gerade umgekehrt, wie die bisher erörterten für die Menschen ungemein wichtigen Krankheiten.

Im Hinblick auf diese Erwägungen konnten wir auch von unserem Verfahren, welches uns bei den für den Menschen wichtigsten Infectionskrankheiten die ausgezeichnetsten Resultate gegeben hatte, für diese Thierkrankheiten keine allzugrossen Erwartungen hegen. Hatten wir doch eine Substanz in Händen, welche mit ausgesprochen giftzerstörenden Eigenschaften begabt war, die aber andererseits einen üppigen Nährboden für die Bakterien selbst darbot. Die Zellsubstanzen des Thymus, der Lymphdrüsen u. s. w. sind wohl antitoxisch, aber nicht bactericid.

Vermischten wir daher z. B. Schweinerothlauf, gleich wie es oben für Tetanus beschrieben ist, mit Thymusauszug, und liessen wir diese Mischung eine Woche lang im Eisschrank stehen, um alsdann Mäuse damit zu impfen, so gingen diese Thiere sämmtlich prompt zu Grunde. Die Zellsubstanzen haben eben auf die Bacillen selbst gar keinen Einfluss ausgeübt.

Trotz dieser wenig aussichtsvollen Erwartungen haben wir doch die Hauptvertreter der Septicämieen, den Schweinerothlauf und den Milzbrand, zum Gegenstand unserer Experimente gemacht. Hauptsächlich bewog uns dazu der Umstand, dass Wooldridge bei Anthrax mit Thymus-extrakten angeblich Immunität erzielt haben will.

VI. Untersuchungen über Schweinerothlauf.

Bei dieser ausgesprochenen Zoonose haben bereits Pasteur und Thuillier mittels abgeschwächter Culturen, den sogenannten Vaccins, Immunität zu Wege gebracht.

Eine andere Methode, welche dasselben Ziel erreichte, beruht auf dem von Behring entdeckten Fundamentalgesetz der Schutzübertragung mittels Serums künstlich immunisirter Thiere. In dieser Weise verfahren Emmerich und Mastbaum¹. Dieselben immunisirten Kaninchen mittels subcutaner Injectionen kleiner nicht tödtlicher Dosen von Schweinerothlaufbouillon, ein Verfahren, das bei diesen für Schweinerothlauf wenig empfänglichen Thieren äusserst leicht zum Ziele führt. Bei Mäusen hingegen lässt es stets im Stich.

Die genannten Autoren entnahmen dann diesen immunisirten Kaninchen Blut und Gewebssaft, um damit Mäuse gegen Schweinerothlauf

¹ *Archiv für Hygiene*. München 1891.

refractär zu machen. Diese Immunität durch Antikörper ist jedoch nur von kurzer Dauer, solange nur hält sie an, bis die einverleibten bacterioiden Substanzen wieder aus dem Organismus ausgeschieden sind, was in der Regel nach einigen Wochen geschieht.

Unsere eigenen Versuche wurden nur an weissen Mäusen vorgenommen, weil dieselben als die gegen Rothlauf höchstempfindlichen Thiere betrachtet werden müssen.

Analog den anderen Versuchen liessen wir die Bacillen des Schweinerothlaufes in Thymusauszügen wachsen, erhitzen, um die Bacillen zu tödten, 15 Minuten lang auf 60° C. und behandelten alsdann mit dieser Flüssigkeit die Thiere.

Versuch.

10./X. Vier Mäusen werden je 0.5^{cem} Thymus-Rothlaufbouillon intraperitoneal injicirt.

15./X. Desgleichen.

20./X. wurden diesen Mäusen, sowie zweien zur Controle dienenden je eine Platinöse hochvirulenter Gelatine-Cultur unter die Haut gebracht.

22./X. Die Controlmäuse sind schwerkrank. Augen verklebt, Haare gesträubt, rasche oberflächliche Athmung. Die vorbehandelten Thiere sind nicht so munter wie vorher.

23./X. Die Controlmäuse sind todt. Befund typischer Schweinerothlauf in Reincultur. Die vorbehandelten Thiere sind schwer krank.

24./X. Die vorbehandelten Mäuse sind ebenfalls an Schweinerothlauf eingegangen.

Derselbe Versuch wurde öfter wiederholt und zwar in der Weise, dass wir zwischen Vorbehandlung und Infection verschieden lange Zeit, von 4 bis 14 Tagen, verstreichen liessen.

Das Resultat war immer dasselbe, wie das bei dem eben beschriebenen Experimente. Zehn Tage nach der Vorbehandlung konnten wir eine etwas grössere Widerstandsfähigkeit constatiren, sodass die Thiere ein oder zwei Tage später starben als die Controlthiere, jedoch von Immunität war noch nichts zu bemerken.

Vielleicht liess indessen sich diese erhöhte Widerstandsfähigkeit benutzen, um auf ihr weiter zu bauen und so schliesslich doch die Thiere völlig refractär zu erhalten.

Derartige Versuche nun waren ausnahmslos von positivem Erfolge begleitet.

Wir gingen in der Weise vor, dass wir zwischen die Vorbehandlung und die stärkste Infection noch eine schwächere einschoben. Zu diesem Behufe gebrauchten wir eine Schweinerothlaufcultur, die einige Monate alt war und Mäuse erst nach 8 bis 10 Tagen tödtete. Die vorbehandelten Thiere ertrugen dieselbe ohne jede Beschwerde.

Versuch.

27./X. Acht weisse Mäuse erhalten je 0.5 Thymus-Schweinerothlauf-Bouillon intraperitoneal.

31./X. Desgleichen.

5./XI. Diesen Thieren wird je eine Platinöse schwach virulenter Schweinerothlauf-Gelatinecultur in eine Hauttasche an der Schwanzwurzel eingebracht.

8./XI. erhielten diese Mäuse nebst drei Controlthieren je 0.2 höchst-virulenter Schweinerothlauf-Bouillon.

11./XI. Die Controlthiere sind an typischem Schweinerothlauf zu Grunde gegangen. Gewebssaft derselben, zu Plattenculturen verarbeitet, zeigte Rothlauf in Reincultur. Die vorbehandelten Thiere sind völlig munter.

13./XI. erhalten die nämlichen Mäuse ein Stück frischer Milz eines soeben wegen Rothlauf geschlachteten Schweines in eine Hauttasche, ebenso geschieht es mit vier Controlmäusen.

15./XI. Abends sind zwei Controlthiere todt. Die beiden anderen sind schwer krank. Die vorbehandelten Mäuse sind völlig munter.

16./XI. Die beiden anderen Controlthiere werden todt aufgefunden. Befund: typischer Schweinerothlauf.

Die vorbehandelten Mäuse sind und bleiben völlig munter.

Aus diesem Versuche können wir also die Ueberzeugung gewinnen, dass die combinirte Vorbehandlung mit Thymusbouillon und abgeschwächter Cultur ausserordentlich sichere Resultate erzielt. Die Wiederholung dieses Versuches an über 100 anderen Mäusen liess uns nie im Stiche und bestätigte somit die Vortrefflichkeit und Sicherheit dieses Immunisirungsmodus.

Dabei ist die Immunität eine so hohe, dass die vorbehandelten Thiere, selbst wenn sie noch unter dem Einflusse einer ersten Infection stehen, bereits die zweite, stärkste Infection mittels Milz von kranken Schweinen anstandslos vertragen.

Diese Immunität hält zudem sehr lange an. Unsere Versuchsthier sind in dem Augenblicke, wo wir dies schreiben, also seit über vier Monaten, noch völlig unempfindlich für den stärksten Schweinerothlauf.

Es könnte vielleicht den Schein erwecken, als ob wir uns in einen Widerspruch verwickelt haben, wenn wir oben die Meinung vertraten, die Zellsubstanzen der Thymus würden für die septicämischen Affectionen sich minder brauchbar erweisen, wie für die toxischen Erkrankungen, und wir nun trotzdem bei einer so exquisit septicämischen Krankheit, wie dem Rothlauf, ausnahmslos günstige Resultate aufzuweisen haben. Allein wir glauben doch bei unserer Ansicht verharren zu müssen, dass diese Zellsubstanzen hierbei nicht dieselbe Rolle wie bei den toxischen Erkrankungen spielen. Denn auch ohne dieselben gelingt es, durch alte un-

giftig gewordene oder durch sterilisirte Schweinerothlauf-Bouillonculturen in Verbindung mit abgeschwächten Culturen Immunität zu erreichen. Allerdings tritt dieselbe dann nicht so sicher und ausnahmslos ein, wie bei der oben beschriebenen Methode. Ein grösserer Theil der Thiere erliegt bei diesem Verfahren. Wir möchten also den Einfluss der Thymuszellsubstanzen bei Schweinerothlauf dahin beschränken, dass ihre Anwendung die alten Methoden sicher und verlustlos gestaltet und so eventuell deren Anwendung im Grossen zu Gunsten der Landwirthschaft gestatten wird. Natürlich müssen in dieser Richtung hin noch Versuche an Schweinen endgültigen Entscheid bringen.

Dieselben Erfolge sind übrigens auch mit den Zellsubstanzen aus Lymphdrüsen und Fischsperma zu erzielen.

Noch sei es uns gestattet, ein principiell wichtiges Experiment mitzutheilen:

Am 15./XI. infectirten wir sechs Mäuse mit einer alten Rothlaufcultur die innerhalb 8—10 Tagen tödtete. Von diesen sechs Mäusen haben wir 24 Stunden nach der Infection zwei mit Thymus-Rothlaufbouillon, die 15 Minuten lang auf 60° C. erhitzt war, zu behandeln begonnen. Die Thiere erhielten von dieser Mischung je 0.5^{ccm} intraperitoneal und zwar täglich. Der Verlauf gestaltete sich nun derart, dass diese beiden Thiere am vierten Tage nach der Infection deutlich krank erschienen. Allein während bei den vier anderen nicht behandelten Mäusen die Krankheit unbehindert ihren Fortgang nahm, kam sie bei diesen nach zwei Tagen zum Stillstand.

Alle Krankheitssymptome bildeten sich zurück und nach zehn Tagen waren die beiden behandelten Mäuse wieder völlig munter, während die anderen vier neun Tage nach der Infection an typischem Schweinerothlauf zu Grunde gegangen waren. Diese Thiere blieben dann dauernd gesund und erwiesen sich nach Monaten bei einer erneuten Infection noch als immun.

Nur diese einzige Gelegenheit bot sich uns, unsere oben ausgesprochene Meinung von der Brauchbarkeit solcher sterilisirter Culturen behufs Immunisirung während der Krankheit, also zur Heilung, auf experimentellem Wege zu begründen. Alle anderen Krankheiten verliefen bei Thieren, wie gesagt, zu rasch, als dass sie sich zu dergleichen Versuchen eigneten.

Wir glauben aber doch durch diesen Versuch die principiell wichtige Thatsache festgestellt zu haben, dass es in günstig liegenden, subacut verlaufenden Fällen gelingen kann, durch rapid erzwungenen Eintritt der Immunität mittelst geeignet präparirter Culturen den bereits ausgebrochenen Krankheitsprocess zu coupiren.

Von weiteren Folgerungen möchten wir vorerst Abstand nehmen.

VII. Untersuchungen über Milzbrand.

Es erscheint vielleicht sonderbar, dass wir den classischen Vertreter der Infectionskrankheiten, diese am eifrigsten von allen Seiten studirte, parasitäre Affection, an den Schluss unserer Versuche setzen. Indessen haben wir uns durch ein ungemein reiches Versuchsmaterial, durch über hundert Versuche davon überzeugt, dass trotz des von allen Autoren in überaus reichlichem Maasse aufgewendeten Scharfsinnes und Fleisses gerade bei dieser Krankheit die Resultate bezüglich der Immunität äusserst unbefriedigend sind.

Als Postulat für die Immunität haben wir den Satz aufgestellt, dass die höchst empfindlichen Thiere der am sichersten wirkenden Infection widerstehen müssen. Auf den Milzbrand übertragen würde man diesen Satz so deuten, dass eine weisse Maus derart zu schützen ist, dass sie die nachherige subcutane Einverleibung eines Milzstückes von einer anderen, eben an höchstvirulentem Anthrax eingegangenen Maus übersteht. Halten wir diese Forderung in ihrer ganzen Strenge aufrecht, dann lässt sich in der ganzen Litteratur kein Fall ermitteln, welcher derselben entspricht. Auf alle diese Fragen ist ja bereits lange vor uns von Koch¹ auch hingewiesen worden.

Wir müssen also im Interesse der Sache hervorheben, dass der Umstand, dass einige Kaninchen und Mäuse, welche einer mittelvirulenten oder gar abgeschwächten Cultur widerstanden haben, oder, wie dies meist der Fall ist, derselben etwas später erlagen, durchaus nicht dazu berechtigt, nunmehr von Milzbrand-Immunität zu sprechen.

Aus diesen Gründen müssen wir auch die bereits erwähnten Wooldridge'schen Versuche bei Milzbrand anders beurtheilen. Wooldridge benutzte zur Vorbehandlung mittels auf Thymusextract gezüchteten Milzbrandbacillen nur Kaninchen, welche durchaus nicht ausnahmslos einer Impfung mit Anthrax erliegen, als Controlthiere dagegen Meerschweinchen, also Thiere, die als ungemein empfindlich gegen Milzbrand, demselben stets erliegen.

Wir haben nun selbst Versuche mit Thymus-, Fischsperma- und Lymphdrüsen-Zellenextracten, auf welchen Milzbrandbacillen gezüchtet worden waren, angestellt und zwar an 150 weissen Mäusen und 35 Meerschweinchen. Die Vorbehandlung wurde von einem Tage bis zu acht Wochen fortgesetzt. Die behufs Präventivimpfung vorbereiteten Culturen wurden zunächst 10 Minuten lang bei 100° C. erhitzt, um die Sporen

¹ *Ueber die Milzbrandimpfung.* Kassel u. Berlin. 1882. Verlag von Theodor Fischer.

zu tödten und davon verschiedene Mengen von 0.2 bis 1.0^{ccm} an einem Tage, an mehreren Tagen, ja selbst Wochen hindurch den Thieren intraperitoneal eingespritzt. Als diese Methoden erfolglos blieben, verwendeten wir sporenloses Material. Wir verrieben die frisch entnommene Milz eines an Anthrax gestorbenen Meerschweinchens mit ca. 30^{ccm} Thymus-extract, erhitzten 15 Minuten lang auf 70° und behandelten hiermit die Thiere in der oben erwähnten Weise. Mit diesen Methoden gelangten wir nach 14 Tage lang fortgesetzter Behandlung zu einer gewissen Widerstandsfähigkeit der vorbehandelten Mäuse und Meerschweinchen, welche sich darin äusserte, dass die Thiere bei Impfung mit einem Stückchen frischer Anthraxmilz etwas später eingingen als die Controlthiere. Immerhin ist es uns geglückt, eine Reihe von Mäusen und Meerschweinchen gegen eine Anthraxcultur, die innerhalb 60 Stunden zum Tode führte, zu schützen. Und zwar verdanken wir diesen Erfolg dem Umstande, dass wir nach 14-tägiger intraperitonealer Vorbehandlung mit der oben erwähnten sporenlosen Thymus-Anthraxmischung die Thiere noch mit ganz geringen Mengen virulenter Bacillen impften, ehe wir zu der vollen Infection schritten. Das dazwischen geschobene, fein vertheilte aber noch virulente Infectionsmaterial gewannen wir in der Weise, dass wir eine Milz einer soeben eingegangenen Maus mit Thymusextract verrieben. Alsdann verdünnten wir diese Mischung mit Thymusauszug solange, bis ein davon angefertigtes mikroskopisches Präparat im Gesichtsfelde eben nur einen oder zwei Bacillen erkennen liess. Alsdann wurde von diesem verdünnten Gemisch ohne vorheriges Erhitzen den praeventiv geimpften Mäusen eine Platinöse in die Schwanzwurzel eingebracht. Die Controlmäuse starben nach dieser Infection erst nach 6 bis 8 Tagen, eine grössere Anzahl der vorbehandelten Mäuse ertrug indessen diese Procedur. Diesen Thieren wurde alsdann eine Platinöse virulenter Anthrax-Agarcultur, welche die Controlthiere nach 60 Stunden vernichtete, subcutan einverleibt. Von 30 in dieser Weise vorbehandelten Mäusen überstanden noch 12 diesen letzteren Infectionsmodus. Als aber diesen Thieren 14 Tage später ein frisches Stückchen Milz von einer an Milzbrand verstorbenen Maus incorporirt wurde, so gingen sie eben so rasch, ja einige noch schneller zu Grunde, als die Controlthiere. Die an Meerschweinchen in gleicher Art ausgeführten Versuche nahmen denselben Ausgang.

Wir waren somit in der Lage, eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegen Milzbrand verleihen zu können, nie aber gelang es uns, wahre Immunität gegen Milzbrand zu erreichen. Wenn nun andere Autoren aus thierischen Organen und Culturen, sei es von Anthrax, sei es von anderen Bacterienspecies, immunisirende oder sogar heilende Stoffe gegen Milzbrand dargestellt haben wollen, so dürfte dieser Befund noch so lange

gerechten Zweifeln begegnen, bevor sie nicht den unumstösslichen Beweis geliefert haben, dass ihre Thiere auch gegen die subcutane Einverleibung frischer Milzstückchen, welche von an Milzbrand eingegangenen Thieren herrühren, also gegen vollsaftige, lebenskräftige Milzbrandbacillen ge-
feit sind.

Schlussbemerkungen.

Fassen wir die Ergebnisse der vorstehenden Versuche nochmals zusammen, so haben wir folgende Thatsachen ermittelt.

1. Aus gewissen zellreichen Organen gesunder Thiere haben wir Stoffe gewonnen, welche ausgesprochen antitoxisch wirken.

2. Bacterienculturen, welche der Einwirkung solcher Stoffe ausgesetzt werden, schützen die Thiere gegen die betreffenden parasitären Krankheiten.

Ob diese Organe, insbesondere die in ihren Functionen so räthselhafte Thymusdrüse, auch im gesunden Organismus solche schützende und giftzerstörende Verrichtungen ausüben, ähnlich wie es in jüngster Zeit von der Schilddrüse nachgewiesen worden ist, muss der physiologischen Forschung vorbehalten bleiben.

Die nächstliegende Frage, ob der gegen die verschiedenen Affectionen verliehene Schutz allein in der Einverleibung der Zellsubstanzen sich begründet, können wir verneinen. Abgesehen davon, dass diese Zellsubstanzen für sich allein, selbst in grösseren Quantitäten Thieren beigebracht, niemals gegen die in Rede stehenden Erkrankungen Schutz gewährten, war auch die durch Combination solcher Substanzen und Culturen erzeugte specifische Schutzkraft ohnmächtig, eine anders geartete specifische Invasion abzuwehren. So erliegt beispielsweise ein Thier, welches durch Combination von Thymusauszug und Cultur von Schweinerotthlauf gegen letztere Seuche gefestigt ist, ohne Weiteres dem Typhus und auch umgekehrt. Der Schutz ist also ein ganz specifischer. Und zwar muss derselbe an die Culturen selbst gebunden sein, da die beigelegten Zellsubstanzen der thierischen Substrate sich nur darauf beschränkten, die toxischen Nebenwirkungen der Culturen möglichst auszuschalten.

Da nach unseren bisherigen Ausführungen solche Schutzsubstanzen nur in den Zellen selbst enthalten sind, lag nunmehr auch die Vermuthung nahe, in dem Bacterienkörper, der nichts weiter als eine Zelle ist, die Bildungsstätte solcher Schutzstoffe zu suchen. Als Kriterium für diese Classe von Körpern betrachten wir, wie oben dargethan, ihren relativ

hohen Phosphorgehalt. An uns trat somit die weitere Aufgabe heran, derartige Bacterienzellsubstanzen möglichst zu isoliren.

Zu diesem Zwecke engten wir alte Culturen, vorerst Typhusbacillenculturen bei 37° C. im Vacuum auf ein geringes Volumen ein und fällten dann mit absolutem Alkohol. Der Niederschlag verblieb einige Zeit unter Alkohol stehen und wurde dann im Exsiccator längere Zeit getrocknet. Durch nochmaliges Lösen im Wasser, und Fällern mit Alkohol resultirte dann beim Trocknen ein weissliches, feines Pulver, das mikroskopisch massenhafte ausgelaugte Bacterienzellen erkennen liess und sich äusserst leicht und klar im Wasser löste. Die Analyse dieses Pulvers ergab auf P_2O_5 berechnet 4.45 Procent, also einen Phosphorgehalt, der unseren Erwartungen völlig entsprach.

Die Thierversuche mit dieser Substanz offenbarten uns aber bald, dass derselben noch ein hoher Grad der Giftigkeit anhaftete. 0.02 ^{grm} davon tödteten Mäuse innerhalb 18 Stunden. Verabfolgten wir nur solche Gaben, dass die Thiere zwar krank wurden, sich aber alsdann wieder völlig erholten, dann konnten wir die merkwürdige Thatsache constatiren, dass diese Mäuse sofort gegen eine nachfolgende, sehr starke Typhusintoxication geschützt waren. Bei einer Reihe von Thieren war dieser Schutz schon nach 24 Stunden eingetreten, nach 48 Stunden war er bei Mäusen ausnahmslos vorhanden.

Indessen ist dies Verfahren noch zu eingreifend, wie uns besonders Versuche an Meerschweinchen lehrten, welche bei dieser Art der Vorbehandlung ungemein leicht eingingen. Die Festigung erfordert aber keineswegs, wie oben erläutert, eine vorhergehende stärkere Vergiftung. War es uns doch gelungen bei Cholera und bei Tetanus mit fast ganz ungiftigen Modificationen den stärksten Schutz zu erreichen. Diese Thatsache spricht aber zu Gunsten der Annahme, dass das toxische und immunisirende Princip etwas gänzlich Verschiedenes sind.

Unser Augenmerk musste sich also darauf richten, den in den Culturen enthaltenen toxischen Effect möglichst auszuschalten, die in den Culturen gelegene immunisirende Kraft aber zu bewahren. Gelang uns diese Forderung, dann konnten wir von diesen ungiftigen oder wenigstens nach Möglichkeit entgifteten Substanzen, denen aber die specifische Schutzkraft noch innewohnte, die zur Festigung gegen die specifische Krankheit nothwendigen Mengen in **concentrirtem** Zustande einverleiben und die beabsichtigte Schutzwirkung musste alsdann äusserst rasch erzielt werden. Gerade die Schnelligkeit des Immunisirens ist es, auf die in Hinblick auf die etwaige praktische Anwendung beim bereits Erkrankten, aus den oben öfters angegebenen Gründen (cf. Cholera, Typhus, Schweinerothlauf) der grösste Werth gelegt werden muss. Denn schnelles

Immunisiren eines bereits kranken Thieres ist Nichts weiter als der Naturheilprocess.

Wo hatten wir nun dieses immunisirende und somit heilende Princip zu suchen? Unsere Untersuchungen gaben darauf die Antwort: in der **Bacterienzelle**. Denn wenn wir Typhusculturen durch Chamberland-Filter jagten, erreichten wir keine oder nur sehr geringe Schutzwirkungen. Dieser geringe, aber auch dann noch erreichbare Schutz erklärt sich aus dem stets in Bouillonculturen aufgelösten Inhalt des Bacterienzelleibes selbst, der natürlich in dieser Form das Filter passiren kann.

Also nicht die Stoffwechselproducte, nicht die Toxalbumine, verleihen die Schutzwirkung, sondern einzig die in den Bacterienleibern aufgestapelten Substanzen.

Die Richtigkeit dieser Anschauung wird noch weiter bewiesen durch folgende Thatsache. Flössten wir einfache Thymus-Typhus-Bouillon, also eine verdünnte Aufschwemmung des immunisirenden Principes ein, so bedurften wir 10 Tage bis zur Erreichung des Schutzes, dampften wir aber Culturen auf ein kleines Volumen ein, so sind dazu nur 24 höchstens 48 Stunden erforderlich.

Zwischen der zeitlichen Bildung des Gegengiftes einerseits und der Menge der Bacterien-Zellsubstanzen andererseits besteht also eine directe Proportion.

Die zur Bildung des Antikörpers im Blutserum nothwendige Zeit ist demnach durchaus keine unwandelbare Grösse. Die Schnelligkeit des Eintritts derselben hängt eben nur ab von der absoluten Menge der incorporirten Bacterienzellsubstanzen. Demnach erklären sich alle bisher auf irgend eine Weise erzielten Impfschutzmassregeln (durch abgeschwächte Culturen etc.) allein durch die Einverleibung der Bacterienzellsubstanzen.

Wie wir schon oben erwähnt, müssen vor allen Dingen die immunisirenden Bacterienzellsubstanzen in möglichst concentrirtem Zustande einverleibt werden. Dies lässt sich nur ermöglichen durch Eliminirung der in den Culturen gleichzeitig enthaltenen Toxalbumine.

In den bisherigen Versuchen hatten wir zu diesem Zwecke allein die giftzerstörende Kraft der thierischen Zellsubstanzen benutzt. Nunmehr aber wurde in Anlehnung an frühere Versuche des Einen von uns (Brieger)¹ auf chemische und thermische Einflüsse recurriert.

Wir haben zu diesem Zweck Typhus-Bouillon-Culturen bei 40°, 50° u. s. f. bis 100° C. eingedampft und dann mit Alkohol ausgefällt.

¹ Untersuchungen über Bacteriengifte von L. Brieger und C. Fränkel II. — Immunisirungsversuche bei Diphtherie von Carl Fränkel. *Berliner klinische Wochenschrift*. 1890. S. 1135. Anmerkung.

Die mit diesen Substanzen an Mäusen ausgeführten Versuche ergaben folgende Resultate. Bei 100° C. geht man des immunisirenden Principes fast gänzlich verlustig. Das Optimum liegt zwischen 80 bis 90° C. Allein auch nach dieser Methode lässt sich durch den Akt der Vorbehandlung eine Erkrankung der Versuchsthiere beim Typhus nicht völlig vermeiden und dürfte auch schwerlich ganz zu umgehen sein. Zunächst ist das Typhusgift äusserst schwer zerstörbar. Es verhält sich in dieser Beziehung ganz anders als das Toxalbumin des Tetanus und der Diphtherie. (In Folge dessen eignet sich das Typhusgift sehr gut zum Studium des chemischen Baues der Toxalbumine, eine Aufgabe, die bereits in Angriff genommen ist.) Ausserdem werden aber nach Einverleibung des Schutzmittels, welches die Bildung der Antikörper veranlasst, gewaltige Aenderungen im Stoffwechsel angeregt, die durch gewisse Reactionen sich kundgeben müssen.

Versuch.

Zehn Mäusen werden je 0.01 ^{gr} des nach Abdampfen von Typhus-Bouillon-Cultur bei 80—90° C. durch Alkohol erzielten, feinpulverigen Niederschlages in wässriger Lösung intraperitoneal einverleibt. Sofort sind die Thiere etwas krank. Am nächsten Tage haben sich die Thiere wieder erholt. Am hierauf folgenden Tage wird sämtlichen Mäusen nebst drei Controlmäusen 0.3 ^{ccm} einer hochvirulenten Typhusbouilloncultuur, von der 0.1 ^{ccm} sich als tödtlich erwiesen, intraperitoneal injicirt. Nach 18 Stunden sind die Controlmäuse todt. Die vorbehandelten Thiere, welche wiederum einige Stunden erkrankt waren, bleiben nunmehr dauernd vollkommen munter. Eine später wiederholte verstärkte Injection von Typhus-Bouillon-Cultur bezeugte noch das Andauern des in so überaus kurzer Zeit erfolgten Impfschutzes.

Ausser auf Typhus haben wir unsere diesbezüglichen Versuche auch auf Diphtherie und Cholera ausgedehnt. In Hinblick auf eventuelle spätere praktische Verwerthung unserer Erfahrungen, haben wir uns bestrebt bei möglichster Concentrirung der schützenden und heilenden Bacterienzellsubstanzen jede Gefahr bei der Anwendung derselben auszuschliessen. Durch Combination der Wirkung der giftzerstörenden thierischen Zellsubstanzen sowie der thermischen und chemischen Einflüsse auf Culturen lässt sich das gewünschte Ziel erreichen. Wegen der Abreise des Einen von uns (Kitasato) können wir auf diese Untersuchungen erst später zurückkommen.

Schliesslich führen wir als charakteristische Eigenschaften der immunisirenden Substanzen, soweit unsere Untersuchungen uns ein Urtheil gestatten, an, 1. dass sie einen relativ hohen Phosphorgehalt besitzen, 2. dass sie im Gegensatz zu den Toxalbuminen, wenn über-

haupt nur sehr schwer durch Thonfilter passiren, und 3. dass sie (die immunisirenden Substanzen bei Tetanus, Diphtherie und Typhus) bei 100° zerstört werden.

Die Buchner'schen Proteine¹, die ebenfalls an Bacterienzelleiber gebunden sind und die Siedehitze aushalten, sind zunächst von anderen Bacterienspecies gewonnen und demzufolge nicht direct mit den unserigen Substanzen vergleichbar. Indessen müssen wir hervorheben, dass unsere immunisirenden Substanzen keine Entzündung und Eiterung anregen und auch der Siedehitze nicht widerstehen.

Nachtrag während der Correctur: Um etwaigen Missverständnissen vorzubeugen, heben wir ausdrücklich hervor, dass Koch bereits die Bacterienzellen zur Heilung bei Tuberculose benutzt hat. (*Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1891, Nr. 3, S. 101.)

¹ *Münchener medicinische Wochenschrift*. 1891. Nr. 32 u. 33. — *Berliner klinische Wochenschrift*. 1890. S. 216, 675.