[Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen.]
(Direktor: Dr. Th. Madsen.)

Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Alkali auf die Typhus- und Coli- Immunagglutinine und auf die Coli-Normalagglutinine.

Von

Dr. Osv. Streng,
Helsingfors (Finland).

Einleitung.

Der Einfluß der Temperatur auf das Agglutinin ist schon früher von mehreren Forschern untersucht worden, u. a. von Bail¹, Widal und Sicard², Craw³, Thellung⁴, Kolle⁵, Romberg⁶, Pick⁷, Dreyer und Jex-Blake⁸, Eisenberg und Volck⁹, Asakawa¹⁰, Joos¹¹, Schibayama¹², Lüdke¹³, Landsteiner und Reich¹⁴, Bordet¹⁵, Wassermann.¹⁶

¹ Bail, *Prager med. Wochenschrift*. 1896.

² Widal u. Sicard, *Soc. de Biol.* 1897. — *Annales de l'Inst. Pasteur*. 1897.

³ Craw, *The Lancet*. 1904.

⁴ Thellung, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXII.

⁵ Kolle, *Handb. der pathogenen Mikroorganismen* von Kolle u. Wassermann.

⁶ Romberg, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1901.

⁷ Pick, *Hofmeisters Beiträge*. Bd. I.

⁸ Dreyer u. Jex-Blake, *Mémoires de l'académie Royale des Sciences de Danemark*. Série VII. T. I.

⁹ Eisenberg u. Volck, *Diese Zeitschrift*. Bd. XL.

¹⁰ Asakawa, *Ebenda*. Bd. XLV.

¹¹ Joos, *Ebenda*. Bd. XXXVI u. XL. — *Centralblatt f. Bakteriologie*. 1903.

¹² Schibayama, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XLII.

¹³ Lüdke, *Ebenda*. Bd. XLII.

¹⁴ Landsteiner u. Reich, *Diese Zeitschrift*. 1907.

¹⁵ Bordet, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1896. 1899. 1900.

¹⁶ Wassermann, *Diese Zeitschrift*. Bd. XLII.

Ohne eine erschöpfende Literaturübersicht geben zu wollen, mögen doch folgende Resultate der verschiedenen Untersuchungen angeführt werden.

Durch die Untersuchungen der genannten Forscher ist festgestellt worden, daß das agglutinierende Vermögen sowohl der Normalsera, wie der Immunsera durch genügendes Erhitzen vermindert und vollständig vernichtet werden kann. So behaupten z. B. Widal und Sicard¹, daß das Typhusagglutinin bei 70° C inaktiviert wird. Pick² ist der Meinung, daß durch Salzfällung gereinigtes Typhusagglutinin sein agglutinierendes Vermögen bei 80 bis 90° C unverändert beibehalten und noch ein kurzzeitiges Erhitzen auf 100° C vertragen kann, wenn nur das Koagulieren des Serumglobulins durch Zusatz z. B. von Harnstoff verhindert wird. Wenn man das in Kochsalzlösung aufgelöste Serumglobulin 30 Minuten auf 75 bis 80° C erhitzt, wird, nach Asakawa³, das agglutinierende Vermögen desselben vollständig vernichtet, indem das Globulin sich in unlösliches, koaguliertes Eiweiß verwandelt. Dreyer und Jex-Blake⁴ haben eine Abnahme des agglutinierenden Vermögens bei Erhitzen auf 70° C konstatiert, in Übereinstimmung aber mit anderen Forschern keine Veränderung bei Temperaturen unter 60° C. Joos⁵ behauptet, daß man bei Typhusimmunsera zwischen zwei Agglutininen zu unterscheiden hat, einem thermolabilen, das bei 60 bis 62° C vernichtet wird und einem thermostabileren, das ein längeres, 1½ bis 2 stündiges Erhitzen auf 65° C ohne große Abschwächung verträgt, aber bei 70° C verhältnismäßig schnell inaktiviert wird.

Pick² hat Agglutinine von verschiedenen Tierarten untersucht und gelangt zu dem Resultat, daß das Typhusagglutinin in Pferdeserum an das Pseudoglobulin, in Sera von Ziegen, Kaninchen und Meerschweinchen an das Euglobulin gebunden ist; auch Eisenberg⁶ nimmt einen Unterschied an zwischen Typhusagglutinin in Serum von Pferd und Serum von Kaninchen. Zuzufolge seiner Beobachtungen über Hemmungserscheinungen an frischen Sera schließt auch er sich der Theorie der Existenz von verschiedenen Agglutininen mit verschiedener Thermostabilität in demselben Serum an. Derselben Anschauung ist auch Wassermann⁷, Schibayama.⁸ An erhitzten Sera sind von vielen Forschern Hemmungserscheinungen beobachtet worden, die man durch verschiedene Hypothesen zu erklären versucht hat.

¹ Widal u. Sicard, a. a. O.

² Pick, a. a. O.

³ Asakawa, a. a. O.

⁴ Dreyer u. Jex-Blake, a. a. O.

⁵ Joos, a. a. O.

⁶ Eisenberg, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XL.

⁷ Wassermann a. a. O.

⁸ Schibayama, a. a. O.

Noch mag hier an die Tatsache erinnert werden, welche erst von Eisenberg und Volck¹ konstatiert wurde, daß das Agglutinin nicht nur eine agglutinierende, sondern auch eine bindende Eigenschaft hat, welche zwei Eigenschaften nicht beim Erhitzen parallel verschwinden. Das frühere Verschwinden der agglutinierenden Eigenschaft bei Einwirkung von Erhitzen und von Alkali hat Eisenberg, Wassermann u. a. veranlaßt, die Hypothese von der Existenz der Agglutinoide aufzustellen.

Die Einwirkung der Temperatur auf die in Normalsera vorkommenden Agglutinine ist nicht so häufig Gegenstand der Forschung gewesen. Rodet² behauptet, daß das Typhusagglutinin in normalem Kaninchenserum bei 55 bis 58° C inaktiviert werde, bei einer Temperatur also, die von Immunagglutininen gut vertragen wird. Eisenberg³ gibt auch an, daß das agglutinierende Vermögen des Normalserums gegen Typhus schon bei Erhitzen auf 58° C abnehme, während Immunserum gegen Typhus viel resistenter sei. Eisenberg³ identifiziert diese zwei Substanzen nicht, obgleich er auch nicht mit Bestimmtheit behaupten will, daß sie different seien. Ehrlich ist der Anschauung, daß der Unterschied zwischen Normal- und Immunagglutinin nur ein quantitativer sei. Bordet⁴ betont die Schwierigkeit, zwei verschieden starke Agglutinine zu vergleichen. Er kommt zum Schluß zu der Auffassung, daß die Normal- und Immunagglutinine beinahe dieselbe Thermostabilität zeigen. Landsteiner und Reich⁵, die mit Hämagglutininen gearbeitet haben, sind zu dem Resultate gelangt, daß die Immunagglutinine thermostabiler als die Normalagglutinine seien.

Wie aus dieser kurzen Übersicht hervorgeht, sind die Auffassungen von dem Einfluß der Temperatur auf die Agglutinine recht verschieden, oft sogar einander widersprechend. Weil es mir außerdem scheint, als seien die von diesen Forschern befolgte Versuchsanordnung und Methodik oft nicht geeignet, miteinander vergleichbare bindende Resultate zu liefern, und weil daher die Bedeutung des Erhitzens für die Agglutinine meines Erachtens keineswegs erschöpfend behandelt worden ist, habe ich auf Anregung des Hrn. Dr. Th. Madsen, der mir gefälligst Platz in seinem Institute gewährt und mir mit Rat und Tat bei meiner Arbeit geholfen hat, einige vergleichende Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur sowohl auf Normal-, wie auf Immunsera gegen *B. coli* und *B. typhi* angestellt. Diese Untersuchungen sind hauptsächlich im Jahre 1907 gemacht.

¹ Eisenberg u. Volck, a. a. O.

² Rodet, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXVII.

³ Eisenberg, a. a. O.

⁴ Bordet, a. a. O.

⁵ Landsteiner u. Reich, a. a. O.

Im Anschluß an diese Versuche haben Hr. Dr. Th. Madsen und ich die Gesetze der Inaktivierung der Immunagglutinine näher zu bestimmen versucht. Die Resultate dieser Untersuchungen sollen in einem besonderen Aufsatz von Madsen und Streng publiziert werden.

Die Absicht bei den unten zu referierenden Versuchen war in erster Reihe festzustellen, bei welcher Temperatur die Normalagglutinine und die Typhus- und Coli-Immunagglutinine in verschiedenen Tiersera inaktiviert werden, und inwiefern die Inaktivierungsgeschwindigkeit von der Variation der Temperatur und Zeit abhängig ist. Da aus meinen Versuchen hervorzugehen schien, daß die Inaktivierung für verschiedene Tiere nach verschiedenen Typen verlaufe, wollte ich zugleich feststellen, nach welchem Typus die Inaktivierung in der Regel stattfindet.

Da die von mir nach dieser Richtung gemachten Versuche einen bedeutenden Unterschied aufwiesen, nicht nur in Beziehung auf Agglutinine von verschiedenen Tierarten, sondern auch von verschiedenen Individuen derselben Spezies, entschloß ich mich, um einen Vergleich zwischen der Thermostabilität der Typhus- und Coliagglutinine zu ermöglichen, dasselbe Tier gleichzeitig sowohl mit *B. typhi* wie *B. coli* zu immunisieren und die Inaktivierungsgeschwindigkeit beider Agglutinine gleichzeitig und bei derselben Temperatur zu beobachten. Um größeres Material zu erhalten, machte ich meine Untersuchungen mit drei *B. coli*-Stämmen und zwei *B. typhi*-Stämmen.

Um Normal- und Immunagglutinine miteinander vergleichen zu können, habe ich im Serum desselben Tieres sowohl vor dem Immunisieren, wie später während der Entstehung des Immunagglutinins die Thermostabilität der im Serum enthaltenen Agglutinine geprüft.

Diese Untersuchungen veranlaßten mich, eingehender zu prüfen, ob die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins während des Verlaufs der Immunisierung eventuellen Veränderungen unterworfen ist.

Weiter habe ich durch einige Versuche die Frage von der Thermostabilität des Immunagglutinins während wiederholter aufeinander mit freien Zwischenräumen folgender Immunisierungen zu beleuchten versucht.

Mehrere Beobachtungen veranlaßten mich, weiter die eventuellen Veränderungen der Thermostabilität zu untersuchen, denen die Agglutinine oder vielleicht das Serum außerhalb des Organismus unterworfen sind.

Der große Unterschied, den ich bei Immunagglutininen auch von verschiedenen Tieren derselben Spezies gefunden habe, könnte vielleicht durch

verschiedenartige Eigenschaften des spezifischen Agglutinins selber erklärt werden. Man könnte sich aber auch denken, daß die individuellen Eigentümlichkeiten der die Agglutinine enthaltenden Sera hierbei die entscheidende Rolle spielten. Um einen Einblick in die Bedeutung der Faktoren, die in obengenannter Richtung mitwirken können, zu erhalten, habe ich den Einfluß der Alkaleszenz auf die Inaktivierung einer eingehenderen Untersuchung unterworfen.

Aus denselben Gründen habe ich die Bedeutung der Variation des Salzgehaltes des Serums untersucht.

Ebenso habe ich den Einfluß der Verdünnung des Serums auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit festzustellen versucht.

Und zuletzt habe ich den Eiweißgehalt des Serums sowohl quantitativ wie qualitativ variiert und die Bedeutung dieses Faktors untersucht.

Versuchsanordnung und Methodik.

Das Serum.

Beim Anstellen meiner Versuche habe ich folgendes Verfahren befolgt:

Das zu untersuchende Serum wurde entweder unverdünnt oder in verschiedenen Verdünnungen, wie es aus meinen Versuchsprotokollen hervorgeht, in ein Glasröhrchen gefüllt, von dem ich mich durch vorhergehendes Erhitzen überzeugt hatte, daß es lösliches Alkali nicht abgab. Dieses Röhrchen wurde in einem mit Toluolregulator versehenen, bei konstanter Temperatur gehaltenen, asbestbekleideten Wasserthermostat angestellt, in dem das Wasser mittels einer schnell rotierenden Flügelvorrichtung in steter Bewegung gehalten wurde, und so die Temperaturschwankungen, was von großer Bedeutung ist, auf weniger als 0.1°C gebracht werden konnten. Sobald das Serum, das, um schnell erwärmt zu werden, in Bewegung gehalten war, die Temperatur der umgebenden Flüssigkeit erreicht hatte, nahm ich mit einer auf dieselbe Temperatur erhitzten Pipette eine bestimmte Menge Serum heraus und brachte sie unmittelbar in ein Glasröhrchen mit einer gewissen Quantität auf 6 bis 10°C abgekühlter physiologischer Kochsalzlösung und dieses wurde in ein in Wasser, 6 bis 10°C , stehendes Stativ gestellt, um die von der Wärme hervorgerufene Inaktivierung so momentan wie möglich zu unterbrechen. Durch Vorproben wurde immer in großen Zügen festgestellt, wie schnell das Serum bei der verwendeten Temperatur vollständig inaktiviert wurde; und die erwähnte Entnahme der Sera geschah mit so großen Intervallen, daß eine größere Anzahl Untersuchungen über die Abnahme des agglutinierenden Vermögens mit demselben Serum gemacht werden konnte, ehe es vollständig inaktiviert wurde. Eine Serumprobe wurde auch vor dem Erhitzen entnommen.

Das agglutinierende Vermögen aller dieser aus einem Serum genommenen Proben wurde nachher gleichzeitig miteinander verglichen, wobei die Madsen-Jørgensensche, im Serum-institute des dänischen Staates befolgte, von Madsen und Jørgensen¹ und von Jørgensen² publizierte Methode verwendet wurde. Das agglutinierende Vermögen wurde immer bei 37° C festgestellt.

Nach diesem Verfahren — das dem in der physikalischen Chemie bei Untersuchungen über die Reaktionsgeschwindigkeit befolgten analog ist — bei jeder Temperatur mehrere Proben aus demselben Serum nach gleich großen Zeitintervallen entnehmend und ihren Wirkungswert feststellend, erhielt ich eine Menge miteinander vergleichbarer Zahlen, die die Abnahme des agglutinierenden Vermögens des untersuchten Serums direkt angaben.

Dadurch wurde es mir möglich, nicht nur die Inaktivierungsgeschwindigkeit, sondern auch eventuelle Veränderungen derselben während der Inaktivierung zu beobachten.

Die Bouillonkultur.

Damit aber die Zahlen, die die Abnahme des agglutinierenden Vermögens angeben, miteinander wirklich verglichen werden können, genügt es nicht, das Serum auf immer dieselbe Weise zu behandeln. Ebenso wichtig ist, daß die als Indikator verwendete Bouillonkultur die gleiche ist. Als Indikator wurde deswegen bei einem Versuche stets dieselbe mit 0.05 Prozent Formalin, Dreyersche Methode³, haltbar gemachte 18 bis 20stündige Bouillonkultur verwendet, von der auf einmal eine größere Menge bereitet worden war. Es ist jedoch nicht möglich gewesen, zu allen von mir untersuchten Sera dieselbe Bouillon zu verwenden, schon deswegen, weil meine Versuche sich über ein ganzes Jahr erstreckten und eventuelle Veränderungen in der Bouillon während so langer Zeit hätten entstehen können. Gewiß ist, daß eine mit Formalin behandelte Bouillon sich 4 Monate unverändert halten kann; wahrscheinlich kann sie sich sogar noch längere Zeit halten, doch habe ich nicht ältere Kultur als 4 Monate verwendet. Um die Zahlen jedoch miteinander vergleichen zu können, habe ich immer, wenn ich eine neue Bouillon in Gebrauch nehmen mußte, durch Kontrollversuche diese neue Bouillon quantitativ untersucht, und dann nur eine solche verwendet, die der ersten Standardbouillon so analog wie möglich war.

¹ Madsen u. Jørgensen, *Festkrift vid Invielse af Danske Statens Serum-institut*. Kopenhagen 1902.

² Jørgensen, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXVIII.

³ Dreyer, *Hospitalstidende*.

Aus praktischen Gründen zu empfehlen ist, die Bouillon von allen zu gleicher Zeit zubereiteten und infizierten Kolben in ein größeres Gefäß zu gießen und dort sorgfältig zu schütteln, da ich oft beobachtet habe, daß mehrere Kolben, die dieselbe Bouillon enthalten und gleichzeitig mit derselben Kultur infiziert worden sind, bei Feststellen des agglutinierenden Vermögens eines Serums doch ganz verschiedene Resultate aufweisen können, was möglicherweise u. a. auch dadurch erklärt werden kann, daß die verschiedenen Kolben in verschiedenem Grade Alkali abgeben und dadurch Einfluß auf die Wachstumsenergie der Bakterien ausüben können. Die Menge der Bakterien hat ja, wie bekannt, sehr großen Einfluß auf das Entstehen des Agglutinationsphänomens.

Die Bakterien.

Typhusbakterien habe ich von dem Serum Institute des dänischen Staates erhalten, einen typischen Stamm, Stamm I, der früher mehrere Jahre zu verschiedenen experimentellen Untersuchungen gebraucht worden war. Zu einigen Versuchen habe ich, wie aus meinen Versuchsprotokollen hervorgeht, noch einen zweiten Stamm verwendet, Stamm II, von dem Lister-Institute in London stammend, in morphologischer und kultureller Hinsicht dem erstgenannten ähnlich.

Für das Darstellen des Coliagglutinins und das Feststellen seines Vermögens habe ich hauptsächlich drei verschiedene Colistämme verwendet: Stamm I, der mehrere Jahre im Serum Institute des dänischen Staates für verschiedene Untersuchungen gebraucht worden war; Stamm II, der von einer Cystitis stammend, im Sommer 1906 reingezüchtet worden war, und Stamm III, den ich der Liebenswürdigkeit des Hrn. Professors C. O. Jensen verdanke, der ihn von einer Kälberdiarrhöe reingezüchtet hat. Der Stamm ist in seinen Versuchsprotokollen mit KKB 59 bezeichnet und von ihm näher beschrieben worden.¹ Die beiden erstgenannten Stämme zeigten die gewöhnlichen gemeinsamen Eigenschaften der Coligruppe: Sie wuchsen schnell in gewöhnlicher Bouillon und Peptonwasser, Stamm I kräftiger, ein dichtes Häutchen an der Oberfläche bildend; sie verflüssigten Gelatine nicht, wuchsen in typischen Kolonien, waren Gram-negative, bewegliche kurze Stäbchen, indolbildend und Milch koagulierend.

Verschiedenen Zuckerarten gegenüber verhielten sich die drei Colistämme etwas verschieden, wie aus folgender Tabelle hervorgeht. In dieser Tabelle bezeichnet + S eine Steigerung des Säuregehaltes bei Wachstum

¹ C. O. Jensen, *Handb. f. path. Mikroorganismen* von Kolle-Wassermann.

der Bakterien, + L, daß Gasentwicklung dabei eingetreten ist, — S und — L das Ausbleiben dieser Erscheinungen.

		Dextrose	Laktose	Saccharose
B. coli Stamm I	. .	+ S + L	+ S + L	+ S + L
B. coli Stamm II	. .	+ S + L	+ S + L	± S — L
B. coli Stamm III	. .	+ S + L	+ S + L	+ S + L

Das Darstellen des Immunserums.

Zu den unten anzuführenden Versuchen habe ich sowohl Pferde- und Ziegen-, wie Kaninchenserum verwendet.

Beim Darstellen des Immunserums wurde immer für ein Tier dieselbe auf 100° C erhitzte, ca. 24 stündige Bouillonkultur verwendet, die in steigenden Mengen mit Zwischenräumen von 3 Tagen, teils subkutan, teils intraperitoneal (vgl. die Versuchsprotokolle) injiziert wurde. Zum Darstellen des Ziegenimmunserums wurde nur B. coli Stamm I verwendet; für das Kaninchenserum alle drei obenerwähnte Coli- und Typhusstämmen; das Pferdeserum, welches untersucht wurde, stammte von einem mit B. coli Stamm III immunisierten Pferde. Ich verdanke es dem Hrn. Prof. C. O. Jensen.

Die Spezifität der Agglutinine.

Die Spezifität der durch Immunisieren entstandenen Agglutinine geht aus dem Folgenden hervor.

Serum einer Ziege, die mit B. coli Stamm I immunisiert worden war, agglutinierte Bouillonkultur nicht nur von diesem Stamme, sondern auch von B. coli Stamm II und III, doch war die Agglutination dieser letzteren bedeutend schwächer und langsamer. Ebenso verhielt sich auch das Pferdeserum. Die Kaninchensera dagegen agglutinierten mit zwei Ausnahmen nur Bouillonkultur von dem Stamme, mit dem immunisiert worden war. Sowohl Typhus Stamm I, wie Typhus Stamm II wurden durch Typhusimmunserum fast in demselben Grade agglutiniert, unbeeinflusst davon, mit welchem von den beiden Stämmen die Immunisierung stattgefunden hatte.

Den obengenannten Unterschied zwischen Pferde-, Kaninchen- und Ziegen-Coliimmunserum mag folgende Tabelle veranschaulichen, in welcher die Zahlen, die das agglutinierende Vermögen bezeichnen, die kleinste Menge des zu besprechenden Serums angeben, die nach Ablauf von 2 Stunden bei 37° C und 12 Stunden bei Zimmertemperatur eine deutliche makroskopische Agglutination zeigte.

	Serum vom Kaninchen immunisiert mit Stamm I	Serum vom Kaninchen immunisiert mit Stamm II	Serum vom Kaninchen immunisiert mit Stamm III	Serum von Ziege immunisiert mit Stamm I	Serum vom Pferde immunisiert mit Stamm III
Stamm I	0.0008	—	—	0.000 65	0.01
„ II	—	0.0012	—	0.012	0.025
„ III	—	—	0.002	0.04	0.000 55

Ähnliche Resultate gaben auch die anderen Ziegen- und Kaninchensera. Dieser Unterschied zwischen Sera von verschiedenen Tierspezies ist nicht leicht zu erklären. Vielleicht könnte diese Erscheinung ihren Grund in der Existenz von Normalagglutininen im Pferde- und Ziegenserum haben. Gewiß ist, daß das Ziegenserum normal Agglutinin enthielt, während in den von mir untersuchten Kaninchensera solches sichtbare Agglutination nicht hervorrief.

Gewöhnliche Bouillon von *B. coli*, Cibilbouillon von *B. coli*.

Die verwendeten Bouillons wurden in der Regel von Fleisch bereitet (1000 ^{grm} Wasser, 500 ^{grm} Fleisch, 20 ^{grm} Pepton und 10 ^{grm} Salz). In einigen Fällen wurde auch von Cibil-Fleischextrakt, teils mit, teils ohne 1 ^{grm} pro 1000 Traubenzucker dargestellte Bouillon verwendet (1000 ^{grm} Wasser, 20 ^{grm} Fleischextrakt, 20 ^{grm} Pepton).

Um die durch den Einfluß des Erhitzens hervorgerufene Abnahme des Coliagglutinins festzustellen, habe ich sowohl gewöhnliche, wie Cibilbouillon verwendet. Wie folgendes Beispiel zeigt, gaben diese beiden verschiedenen Bouillons analoges Resultat.

Serum von Kaninchen, das gleichzeitig mit *B. coli* Stamm I und *B. typhi* Stamm I immunisiert worden war; das Serum mit physiologischer Kochsalzlösung 1:5 verdünnt; die Abnahme des Coli-Agglutiningehaltes bei Erhitzen auf 75° C, sowohl mit gewöhnlicher, wie Cibilbouillon von Stamm I, als Indikator abgemessen; Ablesung nach 3 Stunden. Die unter A angeführten Zahlen sind nach der Madsen-Jørgensenschen Methode mit gewöhnlicher Bouillon als Indikator abgelesen; die unter B nach derselben Methode aber mit Cibilbouillon als Indikator. Unter A' und B' sind die entsprechenden Zahlen in Prozenten von dem agglutinierenden Vermögen des unerhitzten Serums angegeben (s. S. 290).

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Coli-Immunagglutinin bei 75° C stark abgeschwächt wird, und daß die Zahlen unter A' und B', welche die relative Abschwächung ausdrücken, fast dieselben sind, unbeeinflusst davon, ob gewöhnliche oder Cibilbouillon als Indikator verwendet wurde.

	Das agglutinierende Vermögen			
	mit gewöhnlicher Bouillon festgestellt		mit Cibilbouillon festgestellt	
	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum	0.005	100	0.005	100
Serum erhitzt bis auf 75° C . . .	0.008	62.5	0.008	62.5
„ „ auf 75° während 4 Min.	0.014	35.7	0.012	41.7
„ „ „ 8 „	0.016	31.3	0.018	27.8
„ „ „ 12 „	0.030	16.7	0.025	20.0
„ „ „ 16 „	0.033	15.2	0.033	15.2
„ „ „ 20 „	0.045	11.1	0.036	13.9
„ „ „ 24 „	0.045	11.1	0.045	11.1
„ „ „ 28 „	0.050	10.0	0.045	11.1
„ „ „ 32 „	0.055	9.1	0.045	11.1
„ „ „ 36 „	0.060	8.3	0.060	8.3
„ „ „ 40 „	0.070	7.1	0.065	7.7
„ „ „ 44 „	0.080	6.3	0.075	6.7
„ „ „ 48 „	0.090	5.6	0.080	6.3
„ „ „ 52 „	0.080	6.3	0.080	6.3
„ „ „ 56 „	0.090	5.6	0.090	5.6
„ „ „ 60 „	0.1	5.0	0.095	5.3

Gewöhnliche Bouillon von *B. typhi*, Cibilbouillon von *B. typhi*.

Dagegen konnte ich mit Typhuskultur in Cibilbouillon die Abnahme des agglutinierenden Vermögens eines auf 70° C erhitzten Typhusimmunsersums nicht feststellen, während ich mit Typhuskultur in gewöhnlicher Bouillon als Indikator sehr deutlich eine Abnahme des agglutinierenden Vermögens bei dieser Temperatur konstatieren konnte. Wenn derselbe Typhusstamm in einer mit Traubenzucker 1:1000 versetzten Cibilbouillon verwendet wurde, zeigte sich, daß dasselbe Serum auf dieselbe Temperatur erhitzt bedeutend stärker die Cibilkultur agglutinierte, als in unerhitztem Zustande. Bei allmählichem Erhitzen auf dieselbe Temperatur nahm das agglutinierende Vermögen des Serums, auf diese Weise abgelesen, nicht mehr ab, sondern zeigte im Gegenteil bedeutend stärkere Reaktion, welche dann trotz mehrere Stunden dauernden Erhitzens unverändert verblieb. Wenn das Serum noch auf 75—80—85—90—95—100° C und (in zugeschmolzenen Glasröhrchen in Öl gestellt) auf 130—150—175—190° C erhöht wurde, verblieb es fortwährend gleich stark agglutinierend gegenüber Cibilbouillonkultur. Erst als die Temperatur 215° C erreicht hatte, fing die agglutinierende Stärke an abzunehmen, um bei 220° C vollständig zu verschwinden.

Um noch zu zeigen, wie verschieden diese zwei Bouillonkulturen sein können, möge erwähnt sein, daß Normalsera sowohl der Ziegen wie

der Kaninchen, die eine gewöhnliche Typhusbouillonkultur gar nicht agglutinierten, beide gegenüber Cibilbouillonkultur stark (bis 1 : 1000) agglutinierend waren. Durch Erhitzen dieser Normalsera wurde die Agglutinationskraft, mit derselben Cibilbouillon gemessen, gesteigert, gleichwie die der Immunsera, und das agglutinierende Vermögen der Normalsera konnte nicht vernichtet werden, ehe die Temperatur ca. 200° C erreicht hatte. Wenn ich dagegen gewöhnliche Bouillon gebraucht hatte, konnte ein agglutinierendes Vermögen der untersuchten Normalsera weder vor noch nach der Erhitzung beobachtet werden.

Wie dieser Unterschied zu erklären ist, ist schwer zu sagen. Spontane Agglutination der Bakterien oder Säurewirkung war es nicht.

Die obenerwähnte Eigentümlichkeit der Cibilbouillon trat bei Verwendung sowohl von *B. typhi* Stamm I wie *B. typhi* Stamm II auf, während keiner von den von mir untersuchten *B. coli*-Stämmen das Phänomen aufwies. Wie die Typhusstämmen verhielt sich auch ein Staphylokokkenstamm. Ein Typhusimmunserum von Ziege, 1 : 15 verdünnt, gab mit Staphylokokken - Cibilbouillon als Indikator positives Resultat. Und wenn das Serum bis auf 100° C erhitzt wurde, agglutinierte es noch 1 : 40 verdünnt diese Bouillon. Durch fortgesetztes Erhitzen konnte das die Staphylokokkenkultur agglutinierende Vermögen des Serums erst dann abgeschwächt werden, als das Serum bis auf 200° C erhitzt worden war. Eine gewöhnliche Bouillonkultur desselben Staphylokokkenstammes wurde weder durch erhitztes noch durch unerhitztes Serum agglutiniert.

Wie die aus Rindfleisch bereitete gewöhnliche Bouillon verhielten sich auch die aus verschiedenen deutschen, englischen und dänischen Fleisch-extrakten dargestellten Bouillons.

Da die Resultate, welche die gewöhnliche Bouillonkultur von *B. typhi* und die Cibilbouillonkultur desselben Bakteriums gaben, so abweichend waren, habe ich zu meinen Untersuchungen über das agglutinierende Vermögen des Typhusserums Cibilbouillon nicht verwendet, sondern nur gewöhnliche Bouillon.

Es kann ja praktische Bedeutung haben, diese obenerwähnte Eigentümlichkeit der Cibilbouillon zu kennen, da sie bisweilen starkes positives Resultat bei der Widalprobe simulieren könnte.

Geschwindigkeit der Entstehung des Agglutinationsphänomens.

Bevor ich zur Wiedergabe der eigentlichen Versuche übergehe, sind noch einige Tatsachen zu erwähnen, die bei der Versuchsanordnung beobachtet werden müssen, damit die Resultate der Untersuchungen so zuverlässig wie möglich werden. Unter diesen mag zuerst das von vielen

Forschern beobachtete Phänomen, daß verschiedene Bouillons mit verschiedener Geschwindigkeit gegen dieselbe Agglutinationsmenge reagieren, erwähnt werden.

Die Bedeutung der Fehlerquelle, die hier zu vermeiden ist, zeigt uns folgendes Beispiel von der Reaktionsgeschwindigkeit der Agglutination eines Serums, wenn zwei verschiedene Bouillonkultur desselben Stammes als Indikator verwendet werden.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. coli* Stamm I.

	Das agglutinierende Vermögen	
	mit gewöhnlicher Bouillonkultur von Stamm I. gemessen A	mit Traubenzucker-Cibil- bouillonkultur von Stamm I gemessen B
Ablesung nach 5 Minuten	—	0.005
„ „ 10 „	0.065	0.002
„ „ 15 „	0.02	0.0016
„ „ 20 „	0.01	0.0012
„ „ 30 „	0.005	0.0012
„ „ 40 „	0.004	0.001
„ „ 50 „	0.002	0.001
„ „ 60 „	0.002	0.001
„ „ 70 „	0.0016	0.001
„ „ 80 „	0.0016	0.0008
„ „ 90 „	0.0016	0.0008
„ „ 100 „	0.0012	0.0008
„ „ 120 „	0.0012	0.0008
„ „ 140 „	0.001	0.0008
„ „ 160 „	0.001	0.0008
„ „ 220 „	0.001	0.0008

In dieser Tabelle ist unter A und B die kleinste Menge Serum angegeben, die deutliche makroskopische Agglutination hervorgerufen hat. Aus der Tabelle ist deutlich zu ersehen, daß die Traubenzucker-Cibilbouillonkultur von *B. coli* viel schneller agglutiniert wird als gewöhnliche Bouillonkultur desselben Bakteriums.

Denselben Unterschied wie zwischen der mit Traubenzucker versetzten Cibilbouillon und gewöhnlicher Bouillon habe ich auch, obgleich nicht so ausgesprochen, zwischen gewöhnlicher Colibouillon und Coli-Cibilbouillonkultur ohne Traubenzucker gefunden. Man kann einen solchen Unterschied der Geschwindigkeit auch bei zwei verschiedenen gewöhnlichen Colibouillons konstatieren; der Unterschied ist jedoch nicht so groß wie der in dem oben angeführten Versuch zwischen gewöhnlicher Colibouillonkultur und Traubenzucker-Coli-Cibilbouillon konstatierte.

Der Salzgehalt der Bouillon.

Der Unterschied in der Reaktionsgeschwindigkeit verschiedener Bouillons könnte vielleicht durch folgenden Versuch über die Bedeutung des Salzgehaltes der Bouillons erklärt werden.

Serum von Kaninchen, immunisiert mit *B. typhi* Stamm I; als Indikator wurde gewöhnliche Bouillon verwendet, die mittels Salzmischungen und -Lösungen von verschiedener Stärke in Proport. 1 + 1 verdünnt worden war.

Das agglutinierende Vermögen gemessen mit:

A b l e s u n g	Bouillon + Aqua dest.	Bouillon + 0.9 Proz. NaCl	Bouillon + 2 Proz. NaCl	Bouillon + 5 Proz. NaCl	Bouillon + 10 Proz. NaCl	Bouillon + 20 Proz. NaCl	Bouillon + 50 Proz. NaCl
Nach 15 Minuten	0.05	0.1	0.1	—	—	—	—
„ 25 „	0.033	0.08	0.08	—	—	—	—
„ 45 „	0.025	0.065	0.065	0.065	0.1	—	—
„ 70 „	0.020	0.025	0.040	0.025	0.040	0.08	—
„ 90 „	0.016	0.016	0.020	0.020	0.020	0.033	0.065
„ 120 „	0.012	0.012	0.012	0.016	0.020	0.020	0.033
„ 12 Stunden	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.012

Die Einwirkung des Salzgehaltes auf das Auftreten des Agglutinationsphänomens ist verschieden. Bordet¹, Joos² u. a. haben gezeigt, daß, wenn weder Bouillon noch Serum Salz enthalten, keine Agglutination entstehen kann. Andererseits haben Friedberger³, Eisenberg und Volck⁴ u. a. gezeigt, daß große Salzmengen das Auftreten der Agglutination verhindern. Aus dem oben wiedergegebenen Versuch erhellt, wie große Einwirkung ein gesteigerter Salzgehalt auf das Entstehen des Agglutinationsphänomens ausüben kann. Der Unterschied ist anfangs sehr groß, aber je längere Zeit vor der Ablesung verläuft, desto kleiner werden die Differenzen.

Ein Salzgehalt, der größer ist als der gewöhnliche 0.9 prozentige, scheint also nicht so sehr das Endresultat, sondern hauptsächlich die Geschwindigkeit, mit der das Agglutinationsphänomen hervortritt, zu verändern.

Wenn also Salzangel das Auftreten des Agglutinationsphänomens verhindert (Bordet¹, Joos²) und Salzüberschuß den gleichen hemmenden

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

² Joos, *Diese Zeitschr.* Bd. XXXVI und XL.

³ Friedberger, *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXX u. XXXI.

⁴ Eisenberg u. Volck, a. a. O.

Einfluß hat (Friedberger¹ u. a.), muß es auch einen Salzgehalt geben, der das Agglutinationsphänomen am meisten begünstigt. Man könnte sich denken, daß man, wenn man von einem 0prozentigen Salzgehalt ausgehen und die Salzmenge immer steigern würde, zuletzt den Grad finden müßte, der für das Auftreten des Agglutinationsphänomens der geeignetste sei; eine noch weiter vergrößerte Salzmenge würde dann entweder dieselbe starke Agglutination bestehen lassen oder eine Abnahme des agglutinierenden Vermögens bewirken. Wenn man eine ganze Serie von steigenden Salzmenge so untersucht, muß man ja zuletzt die Grenzen des Salzoptimums finden und alsdann ersehen können, inwieweit der Salzgehalt der Bouillon variieren kann, ohne verändernde Einwirkung auf die Geschwindigkeit der Agglutination. Um dieses Sachverhältnis klarzulegen, habe ich folgenden Versuch mit einem Ziegen-Coli-Immunserum angestellt, welches ich durch Dialyse so salzfrei gemacht hatte, daß es in Aqua dest. aufgeschwemmte dialysierte salzfreie Colibakterien nicht agglutinierte. Die unten angeführten Zahlen geben die kleinste Menge Serum an, die eine makroskopisch sichtbare Agglutination hervorrufen konnte. Die Versuche mit gewaschenen dialysierten Bakterien geben jedoch, wie auch Versuche von Dreyer und Jex-Blake² mit Agarbakterien gezeigt haben, ein viel unregelmäßigeres Resultat als die mit gewöhnlichen Bouillonbakterien angestellten.

Dialysiertes Serum von Ziege, immunisiert mit B. coli-Stamm I.
Als Indikator salzfreie Colibakterien in verschiedenen Salzlösungen
in gleicher Menge aufgeschwemmt.

Das agglutinierende Vermögen gemessen mit Colibouillon in:

Ablesung	4 Normal NaCl	3 Normal NaCl	2 Normal NaCl	1 Normal NaCl	0.7 Normal NaCl	0.5 Normal NaCl
Nach 20 Min.	—	0.1	0.08	0.025	0.012	0.012
„ 40 „	0.1	0.05	0.005	0.004	0.005	0.004
„ 60 „	0.1	0.05	0.005	0.0033	0.002	0.0016
„ 90 „	0.065	0.008	0.0033	0.0033	0.0016	0.0016
„ 120 „	0.05	0.0033	0.0012	0.0012	0.001	0.001

Ablesung	0.3 Norm. NaCl	0.2 Norm. NaCl	0.1 Norm. NaCl	0.07 Norm. NaCl	0.05 Norm. NaCl	0.03 Norm. NaCl
Nach 20 Min.	0.01	0.012	0.008	0.008	0.01	0.008
„ 40 „	0.004	0.0033	0.0033	0.006	0.0033	0.0033
„ 60 „	0.0020	0.0016	0.0016	0.0016	0.0016	0.0025
„ 90 „	0.0016	0.0016	0.0016	0.0016	0.0016	0.0016
„ 120 „	0.001	0.0008	0.00065	0.0008	0.0008	0.0008

¹ Friedberger, a. a. O.

² Dreyer u. Jex-Blake, a. a. O.

(Fortsetzung.)

Ablesung	0.02 Normal NaCl	0.01 Normal NaCl	0.007 Normal NaCl	0.005 Normal NaCl	0.003 Normal NaCl	0.002 Normal NaCl	0.001 Normal NaCl	Aqua dest.
Nach 20 Min.	0.01	0.02	0.033	0.065	0.1	0.1	0.1	--
„ 40 „	0.004	0.005	0.01	0.04	0.08	0.1	0.1	—
„ 60 „	0.0016	0.004	0.005	0.01	0.012	0.05	0.1	—
„ 90 „	0.0016	0.0033	0.004	0.01	0.012	0.04	0.08	—
„ 120 „	0.001	0.0025	0.0033	0.01	0.012	0.016	0.08	—

Dieser Versuch zeigt, daß es eine Zone gibt, innerhalb deren Variationen des Salzgehaltes nur kleine, kaum meßbare Variationen der Agglutinationsgeschwindigkeit hervorrufen, während Variationen des Salzgehaltes, die entweder über oder unter die Grenzen dieser Zone fallen, einen großen Einfluß auf diese Geschwindigkeit ausüben. In dem oben angeführten Falle erstreckte sich die neutrale Zone von ungefähr 0.7 Normal NaCl bis 0.02 Normal NaCl. Über 0.7 und unterhalb 0.02 wurde das Agglutinationsphänomen deutlich langsamer. Fast dasselbe Resultat gab ein Versuch mit denselben Bakterien und demselben Serum, als statt NaCl KCl verwendet wurde. Auch KCl übte unterhalb einer gewissen Grenze und über einer anderen einen hemmenden Einfluß auf das Auftreten des Agglutinationsphänomens aus; hier konnte man auch innerhalb der neutralen Zone die KCl-Mengen variieren, ohne irgend eine Veränderung der Geschwindigkeit zu bewirken. Die Grenzwerte für KCl stimmten ziemlich überein mit den für NaCl; zwischen 0.7 und 0.01 Normal KCl konnte keine Veränderung der Agglutinationsgeschwindigkeit beobachtet werden, wohl aber oberhalb 0.7 und unterhalb 0.01.

Wenn man diese Resultate mit dem Versuche über die Agglutinabilität der Typhusbakterien bei verschiedenen Salzmenen vergleicht, scheint die neutrale Zone der Coli- und der Typhusbakterien etwas verschieden zu sein.

Der Salzgehalt der Bouillon kann also einen bedeutenden Einfluß auf die Entstehung der Agglutination nach der einen oder der anderen Richtung haben. Ohne in diesem Zusammenhang näher auf die Bedeutung des Salzgehaltes einzugehen, will ich nur die Aufmerksamkeit auf diese Erscheinung richten. Ein verschiedener Salzgehalt könnte vielleicht die verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit der Cibil- und der gewöhnlichen Bouillonkultur von B. coli gegenüber demselben Serum erklären. Die Verschiedenheit, welche ich beobachtet habe zwischen Cibil- und gewöhnlichen Fleischbouillons mit Typhuskultur, erklären Variationen der Salzmenge nicht.

Das Alkali der Gläser.

Die Bedeutung des Alkalis, welches durch Erhitzen der Glasröhrchen aus diesen abgegeben war, geht aus folgender Tabelle hervor.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. typhi*, Stamm I; als Indikator wurde gewöhnliche Bouillonkultur von demselben Stamm verwendet; das Serum wurde, mit physiologischer Kochsalzlösung 1:4 verdünnt, auf 70.6° C erhitzt; Serumproben wurden mit Intervallen von 1 Minute entnommen; Ablesung nach 3 Stunden; das Erhitzen geschah in zwei Glasröhrchen, von denen das eine Alkali abgab, das andere nicht.

	Das agglutinierende Vermögen			
	im Röhrchen, das beim Erhitzen Alkali nicht abgab		im Röhrchen, das beim Erhitzen Alkali abgab	
	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum	0.002	100	0.002	100
Serum erhitzt bis auf 70.6° C . .	0.0055	36.4	0.0055	36.4
„ „ auf 70.6° während 1 Min.	0.0080	25.0	0.0080	25.0
„ „ „ 2 „	0.0090	22.2	0.0090	22.2
„ „ „ 3 „	0.011	18.2	0.011	18.2
„ „ „ 4 „	0.013	15.4	0.015	13.3
„ „ „ 5 „	0.016	12.5	0.019	10.5
„ „ „ 6 „	0.020	10.0	0.020	10.0
„ „ „ 7 „	0.022	9.1	0.027	7.4
„ „ „ 8 „	0.026	7.7	0.036	5.6
„ „ „ 9 „	0.032	6.3	0.045	4.4
„ „ „ 10 „	0.038	5.3	0.060	3.3
„ „ „ 11 „	0.040	5.0	0.080	2.5
„ „ „ 12 „	0.043	4.7	0.1	2.0
„ „ „ 13 „	0.048	4.2	<0.1	>2.0
„ „ „ 14 „	0.055	3.6	<0.1	>2.0
„ „ „ 15 „	0.060	3.3	<0.1	>2.0
„ „ „ 16 „	0.070	2.9	<0.1	>2.0
„ „ „ 17 „	0.080	2.5	<0.1	>2.0
„ „ „ 18 „	0.085	2.4	<0.1	>2.0
„ „ „ 19 „	0.095	2.1	<0.1	>2.0
„ „ „ 20 „	<0.1	< 2.0	<0.1	>2.0

Die Inaktivierung hatte also anfangs vollständig denselben Verlauf in beiden Röhrchen, nahm aber nach ca. 8 Minuten in dem Alkali abgebenden Röhrchen einen schnelleren Verlauf, während das Serum in dem anderen Röhrchen langsamer inaktiviert wurde, ein Phänomen, das von Bedeutung sein kann bei solchen Versuchen, die ich anzustellen beabsichtigte, und das also so viel wie möglich durch Vorproben des Glases zu vermeiden war.

Ist die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Serums von der Verdünnung, in der das Serum untersucht wird, abhängig?

Das unverdünnte Serum.

Wenn ein unverdünntes Serum auf eine so hohe Temperatur erhitzt wird, daß sein eventuelles agglutinierendes Vermögen abzunehmen anfängt, entsteht oft eine mit dem Auge sichtbare, von Koagulation des Eiweißes herrührende Opaleszenz und Trübung des Serums. In einigen Sera wird das agglutinierende Vermögen vollständig inaktiviert, bevor eine dem Auge sichtbare Veränderung des Serums eintritt, in anderen Fällen kann das Serum dagegen zu einer festen Masse koagulieren, ohne daß das agglutinierende Vermögen in höherem Grade abgenommen hätte, was konstatiert werden kann, wenn man nach der Koagulation des Serums die Koagula zerreibt und das agglutinierende Vermögen des freien Kondenswassers untersucht. Das agglutinierende Vermögen des Kondenswassers und das agglutinierende Vermögen des Serums vor der Koagulation sind ja freilich nicht ohne weiteres vergleichbar; in dem ersten Falle hat man ja das eventuelle Agglutinin auf ein kleineres Volumen verteilt, als in dem letzteren, aber der Umstand, daß das Kondenswasser bisweilen ein ebenso starkes und noch stärkeres positives Resultat gegenüber derselben Bouillon als Indikator gibt, als das Serum selber vor dem Erhitzen, scheint doch dafür zu sprechen, daß die Koagulation der übrigen Eiweißsubstanzen des Serums eine untergeordnete Rolle bei der Inaktivierung des Agglutinins spielt. In anderen Fällen kann dagegen gar kein agglutinierendes Vermögen des Kondenswassers konstatiert werden. Überhaupt muß ich infolge meiner Versuchsergebnisse zu der Auffassung gelangen, daß die sichtbare Koagulation des Serums und die Inaktivierung des Agglutinins nicht zwei parallel verlaufende Prozesse sind.

Die Eiweißkoagulation bereitet große Schwierigkeiten, wenn man die Inaktivierungsgeschwindigkeit eines Serums quantitativ und stufenweise verfolgen will. Die Koagulation macht die Anwendung der Pipette bei Abmessung eines Serums unmöglich. Man kann ja durch Zerreiben der Koagula eine mit der Pipette abmeßbare Masse erhalten, aber die abgemessenen Dosen werden nicht gleichartig; das eine Röhrchen enthält mehr Kondenswasser, das andere mehr Koagula. Und die Zahlen, die man unter so heterogenen Verhältnissen als Ausdruck der Agglutinationskraft erhält, können keine Beweiskraft haben.

Außerdem treten beim Erhitzen unverdünnter Sera sehr oft Hemmungserscheinungen auf.

Die Verdünnung des Serums.

Da mir noch viel daran lag, die Sera bei so vielen verschiedenen Temperaturen und nach so vielen Richtungen wie möglich zu untersuchen, und da die Serummenge eines Tieres, z. B. eines Kaninchens, eine begrenzte ist, entschloß ich mich nach vielen resultatlosen Versuchen mit unverdünnten Sera, die Sera mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt zu untersuchen. Um nicht zuviel die Sera abzuschwächen, habe ich sie nur wenig (von 1:2 bis 1:10) verdünnt.

Eisenberg¹ hat angegeben, daß mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Serum um so langsamer inaktiviert wird, je größer die Verdünnung gewesen ist. Damit stimmt auch die Beobachtung von Dreyer und Jex Blake², daß, je konzentrierter ein Serum ist, desto größer die bei Erhitzung entstehenden Hemmungszonen werden. Um zu sehen, ob auch die geringen Verdünnungen, die ich aus den oben erörterten Gründen zu verwenden gezwungen war, einen bemerkenswerten Einfluß nach der von diesen Forschern angegebenen Richtung ausüben, stellte ich einige Versuche mit verschiedenen Sera in Verdünnungen von $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{40}$ mit physiologischen (0.9 prozentigen) Kochsalzlösungen an.

Als Beispiel mögen folgende Versuche, sowohl mit Typhus-, wie mit Coli-Immunsera von Ziege und Kaninchen, angeführt werden. In diesen Versuchen traten keine Hemmungsphänomene auf.

Serum von Kaninchen, gleichzeitig mit *B. coli* und *B. typhi* immunisiert; das Serum in verschiedenen Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung untersucht; als Indikator Cibibouillonkultur von *B. coli*, Stamm I; Besichtigung nach 3 Stunden.

	Das agglutinierende Vermögen von			
	Serum verdünnt 1:5		Serum verdünnt 1:10	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.005	100.0	0.010	100.0
Serum erhitzt bis auf 75° C. . . .	0.008	62.5	0.020	50.0
„ „ auf 75° C während 4 Min.	0.012	41.7	0.025	40.0
„ „ „ 8 „	0.018	27.8	0.029	34.5
„ „ „ 12 „	0.025	20.0	0.036	27.8
„ „ „ 16 „	0.033	15.2	0.042	23.8
„ „ „ 20 „	0.036	13.9	0.055	18.2
„ „ „ 24 „	0.045	11.1	0.050	20.0
„ „ „ 28 „	0.045	11.1	0.060	16.7
„ „ „ 32 „	0.045	11.1	0.065	15.4

¹ Eisenberg, a. a. O.

² Dreyer u. Jex Blake, a. a. O.

(Fortsetzung.)

	Das agglutinierende Vermögen von			
	Serum verdünnt 1:5		Serum verdünnt 1:10	
	A	A'	A	A'
Serum erhitzt auf 75° C während 36 Min.	0.060	8.3	0.073	13.7
" " " 40 "	0.065	7.7	0.080	12.5
" " " 44 "	0.075	6.6	0.080	12.5
" " " 48 "	0.080	6.3	0.090	11.1
" " " 52 "	0.080	6.3	<0.1	<10.0
" " " 56 "	0.090	5.6	<0.1	<10.0
" " " 60 "	0.095	5.3	<0.1	<10.0

	Das agglutinierende Vermögen von			
	Serum verdünnt 1:20		Serum verdünnt 1:40	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.020	100.0	0.040	100.0
Serum erhitzt auf 75° C	0.033	60.6	0.065	61.6
Serum erhitzt auf 75° C während 4 Min.	0.040	50.0	0.080	50.0
" " " 8 "	0.040	50.0	0.090	44.4
" " " 12 "	0.050	40.0	<0.1	> 40.0
" " " 16 "	0.065	30.8	—	—
" " " 20 "	0.080	25.0	—	—
" " " 24 "	0.085	23.5	—	—
" " " 28 "	0.090	22.2	—	—
" " " 32 "	0.095	21.1	—	—
" " " 36 "	<0.01	<20.0	—	—
" " " 40 "	—	—	—	—
" " " 44 "	—	—	—	—
" " " 48 "	—	—	—	—
" " " 52 "	—	—	—	—
" " " 56 "	—	—	—	—
" " " 60 "	—	—	—	—

Serum von Ziege, 8 Tage nach der letzten subkutanen Injektion von *B. coli*, Stamm I, entnommen; als Indikator gewöhnliche Bouillonkultur von *B. coli*, Stamm I; Besichtigung nach 3 Stunden.

				Das agglutinierende Vermögen von Coli-Immun-					
				Serum verdünnt 1:3		Serum verdünnt 1:6		Serum verdünnt 1:10	
				A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum.				0.0020	100.0	0.0033	100.0	0.0065	100.0
Serum erhitzt bis auf 72.9° C .				0.0025	80.0	0.0040	82.5	0.0080	81.3
Ser. erhitzt auf 72.9° C währ. 5 Min.				0.0033	60.6	0.0056	58.9	0.012	54.2
" " " 10 "				0.0042	47.6	0.0070	47.1	0.018	36.1
" " " 15 "				0.0050	40.0	0.0085	38.8	0.022	29.5
" " " 20 "				0.0065	30.8	0.01	33.0	0.030	21.7
" " " 25 "				0.0080	25.0	0.012	27.5	0.035	18.6
" " " 30 "				0.010	20.0	0.016	20.6	0.039	16.7
" " " 35 "				0.018	11.1	0.020	16.5	0.040	16.3
" " " 40 "				0.023	8.7	0.025	13.2	0.055	11.8
" " " 45 "				0.033	6.1	0.033	10.0	0.062	10.5
" " " 50 "				0.042	4.8	0.040	8.3	0.080	8.1
" " " 55 "				—	—	—	—	0.1	6.5
" " " 60 "				—	—	—	—	<0.1	< 6.5
" " " 65 "				—	—	—	—	<0.1	—
" " " 70 "				—	—	—	—	—	—

Ablesung nach 24 Stunden.

				Das agglutinierende Vermögen von Coli-Immun-					
				Serum verdünnt 1:3		Serum verdünnt 1:6		Serum verdünnt 1:10	
				A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum.				0.0016	100.0	0.0033	100.0	0.005	100.0
Serum erhitzt bis auf 72.9° C .				0.0020	80.0	0.0040	82.5	0.0065	76.9
Ser. erhitzt auf 72.9° C währ. 5 Min.				0.0025	64.0	0.0050	66.0	0.01	50.0
" " " 10 "				0.0033	48.5	0.0065	50.8	0.014	35.7
" " " 15 "				0.0040	40.0	0.0075	44.0	0.018	27.8
" " " 20 "				0.0050	32.0	0.0095	34.7	0.023	21.7
" " " 25 "				0.0065	24.5	0.011	30.0	0.030	16.7
" " " 30 "				0.0080	20.0	0.016	20.6	0.036	13.9
" " " 35 "				0.016	10.0	0.020	16.5	0.037	13.5
" " " 40 "				0.018	8.9	0.025	13.2	0.048	10.4
" " " 45 "				0.022	7.3	0.033	10.0	0.055	9.1
" " " 50 "				0.029	5.5	0.040	8.3	0.070	7.1
" " " 55 "				0.037	4.3	—	—	0.085	5.9
" " " 60 "				0.050	3.2	—	—	—	—
" " " 65 "				0.040	4.0	—	—	—	—
" " " 70 "				0.050	3.2	—	—	—	—

Serum von Ziege; 8 Tage nach der letzten subkutanen Injektion mit B. typhi, Stamm I, entnommen; als Indikator gewöhnliche Bouillon von Stamm I; Besichtigung nach 2 Stunden.

	Das agglutinierende Vermögen von			
	Serum verdünnt 1:3		Serum verdünnt 1:6	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.0040	100	0.01	100
Serum erhitzt auf 69° C	0.0065	61.5	0.02	50.0
„ „ auf 69° während 3 Min.	0.012	33.3	0.029	34.5
„ „ „ 6 „	0.018	22.2	0.036	27.8
„ „ „ 9 „	0.025	16.0	0.050	20.0
„ „ „ 12 „	0.029	13.8	0.042	23.8
„ „ „ 15 „	0.045	8.9	0.045	22.2
„ „ „ 18 „	0.050	8.0	0.050	20.0
„ „ „ 21 „	0.059	6.8	0.065	15.4
„ „ „ 24 „	0.059	6.8	0.072	13.9
„ „ „ 27 „	0.065	6.2	0.090	11.1
„ „ „ 30 „	0.072	5.6	0.1	10.0
„ „ „ 33 „	0.080	5.0	< 0.1	> 10.0
„ „ „ 36 „	0.1	4.0	< 0.1	> 10.0
„ „ „ 39 „	< 0.1	> 4.0	< 0.1	> 10.0

Serum von Kaninchen, gleichzeitig mit B. typhi, Stamm I und B. coli, Stamm I, immunisiert; das Serum 8 Tage nach der letzten subkutanen Injektion entnommen; Indikator gewöhnliche Bouillonkultur von B. typhi, Stamm I; Besichtigung nach 3 Stunden.

	Das agglutinierende Vermögen von					
	Serum verdünnt 1:4		Serum verdünnt 1:6		Serum verdünnt 1:10	
	A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.0033	100	0.0065	100	0.010	100
Serum erhitzt auf 73.4° C	0.0040	82.5	0.0080	81.3	0.014	71.4
„ „ auf 73.4° während 5 Min.	0.0055	60.0	0.01	65.0	0.016	62.5
„ „ „ 10 „	0.0080	41.3	0.014	46.4	0.020	50.0
„ „ „ 15 „	0.0080	41.3	0.016	40.6	0.020	50.0
„ „ „ 20 „	0.01	33.3	0.019	34.2	0.022	45.5
„ „ „ 25 „	0.011	30.0	0.022	29.5	0.033	30.3
„ „ „ 30 „	0.016	20.6	0.024	27.1	0.036	27.8
„ „ „ 35 „	0.020	16.5	0.024	27.1	0.033	30.3
„ „ „ 40 „	0.022	15.0	0.030	21.7	0.040	25.0
„ „ „ 45 „	0.024	13.7	0.036	18.1	0.042	23.8
„ „ „ 50 „	0.025	13.2	0.040	16.3	0.050	20.0

Wenn man die obenangeführten Tabellen durchsieht, so findet man, daß die Agglutinationskraft ohne störende Hemmungserscheinungen regelmäßig abnimmt. Wenn man die Zahlen vergleicht, die das agglutinierende

Vermögen desselben Serums aber in verschiedenen Verdünnungen nach derselben Zeit, auf dieselbe Temperatur erhitzt, angeben, so sieht man, daß diese Zahlen ziemlich parallel abnehmen, abgesehen von der Verdünnung. Doch zeigen meine Tabellen (besonders die S. 298 u. 299 angeführten), daß die Inaktivierung des mehr verdünnten Serums eine Neigung langsamer zu verlaufen hat. Bei Erhitzen auf 75° C während 20 Minuten hat das Serum in verschiedenen Verdünnungen 86.1 bzw. 81.8 und 75 Prozent seines ursprünglichen Vermögens verloren. Bei Erhitzen auf dieselbe Temperatur während 32 Minuten war die Abnahme 88.9 bzw. 84.6 und 78.9 Prozent. Meine Versuche bestätigen also die Ansicht Eisenbergs, daß verdünntes Serum langsamer inaktiviert wird, aber sie zeigen auch, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit, wenn Hemmungserscheinungen nicht auftreten und die Verdünnung nicht größer ist als die von mir verwendete, ziemlich unverändert bleibt.

In den oben angeführten Versuchen verläuft die Inaktivierung nach verschiedenen Typen: das Coliagglutinin von Ziege nach einem Typus α und die anderen nach einem anderen Typus β . Auf den Unterschied dieser Typen werde ich später noch zurückkommen.

Die Hemmungserscheinungen.

An vielen Sera, die bei so hoher Temperatur und so langsam inaktiviert werden, daß eine sichtbare, durch Eiweißkoagulation bewirkte Opaleszenz eintritt, treten Hemmungserscheinungen während des Erhitzens, auch wenn die Sera verdünnt sind, auf, so daß ein Röhrchen, das mehr Agglutinin enthält, schwächere Reaktion gibt, als ein Röhrchen mit weniger Agglutinin. Unter diesen Verhältnissen ist es unmöglich, den Einfluß der Wärme auf das Serum abzulesen und mit Zahlen anzugeben. Durch größere Verdünnungen können jedoch diese Hemmungen zum Verschwinden gebracht werden, so daß eine regelmäßige Ablesung der Abnahme des agglutinierenden Vermögens wieder ermöglicht wird.

Folgendes Beispiel mag dieses Verhältnis veranschaulichen:

Serum von Kaninchen 291, das gleichzeitig mit *B. coli* Stamm II und *B. typhi* Stamm I immunisiert worden war; das Serum mit physiologischer Kochsalzlösung 1:3 verdünnt, auf 76.1° C und 77° C erhitzt; Serumproben sowohl vor dem Erhitzen, wie gleich nachdem die Temperatur 76.1° C erreicht und dann alle 5 Minuten entnommen. Aus jeder Serumprobe wurden die gewöhnlichen fallenden Mengen Serum mit der Pipette abgemessen, damit ihr agglutinierendes Vermögen nach der Madsen-Jørgensenschen¹ vergleichenden Methode festgestellt werden könnte. Die

¹ Madsen und Jørgensen, a. a. O.

Feststellung war nur für die ersten Serien möglich; in den späteren traten Hemmungszonen auf. In der unten angeführten Tabelle bezeichnet +, daß makroskopische Agglutination nach 3 Stunden im Thermostat beobachtet werden konnte, — daß, keine Agglutination nach dieser Zeit festgestellt werden konnte. Als Indikator wurde Bouillonkultur von *B. coli* Stamm II verwendet.

Die Serum- mengen	Unerhitztes Serum	Bis auf 76.1° C erhitzt	Serum erhitzt auf 76.1° C während:								
			5	10	15	20	25	30	35	40	45
			M i n u t e n								
0.1	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.08	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0.065	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0.05	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0.04	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
0.033	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
0.025	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
0.02	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—
0.016	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—
0.012	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—
0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
0.008	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
0.0065	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
0.005	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
0.004	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—
0.003	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—
0.0025	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
0.002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.0016	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.0012	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wenn man diese und folgende Tabelle betrachtet, findet man, daß nach einem kurzzeitigen Erhitzen auf 76.1 und 77° C, noch keine Agglutination in den Röhrchen nachzuweisen war, die die größten Serumdosen enthielten, wie auch keine vorhanden war in denen, die die kleinsten Mengen enthielten, daß die Agglutination also nur innerhalb einer gewissen Zone der Serie auftrat, und daß diese Zone in ihrer Breite variierte. Die Tabellen lassen uns nicht auf eine bestimmte Regel für die Breite dieser Zone schließen, doch scheint es, als würde das Gebiet, innerhalb dessen Agglutination bei fortgesetztem Erhitzen nachzuweisen war, sowohl nach der Richtung der großen Serummengen, wie nach der der kleinen immer enger, je mehr die Zeit des Erwärmens ausgedehnt wurde. Ich habe solche Hemmungen oft beobachten können und im allgemeinen scheint die Ausdehnung der Zonen, wo keine Agglutination beobachtet werden

Dasselbe Serum und dieselbe Verdünnung wie in vorstehender Tabelle erhitzt auf 77° C.

Die Serum-mengen	Unerhitztes Serum	Serum erhitzt bis auf 77° C	Serum erhitzt auf 77° C während:							
			3	6	9	12	15	18	21	24
			M i n u t e n							
0.1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.08	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.065	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0.05	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
0.04	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+
0.03	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+
0.025	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
0.02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.012	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.0065	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.004	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.0025	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—
0.002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.0016	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.0012	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

konnte, also der Hemmungszonen, größer zu werden, je höher die erreichte Temperatur ist.

Wenn man in einem Versuch, wie dem oben angeführten, nach der Madsen-Jørgensenschen Methode die Röhrchen besichtigt, so findet man, daß ein gewisses Röhrchen in der ersten Serie zwei oder mehreren Röhrchen mit sehr verschiedener Agglutinationskraft in den anderen Serien entspricht. Diese Röhrchen findet man sowohl im Anfang wie am Ende des Agglutinationsgebietes. Hier kann also nicht eine regelmäßige Ablesung nach jener Methode gemacht werden.

In den Fällen, in welchen solche Hemmungszonen entstanden, habe ich sie doch in der Regel wieder ausschalten können, wenn ich das Serum in stärkeren Verdünnungen untersuchte.¹ Wenn ich z. B. das in den Tabellen S. 303 und 304 angeführte Serum 1:7 verdünnt hatte, so fand ich, daß die Inaktivierung einen vollständig regelmäßigen Verlauf hatte. Es traten keine die Besichtigung störenden Hemmungszonen auf. Als

¹ Die Fälle, wo die Hemmungszonen trotz Verdünnung nicht verschwanden, werde ich später erörtern.

Beispiel sei folgende Tabelle angeführt. Der Versuch analog wie der S. 303 mitgeteilte.

Das Serum ist dasselbe, das in den Tabellen S. 303 verwendet wurde; Erhitzen auf 76.1° C.

Die Serum- mengen	Unerhitztes Serum	Serum erhitzt bis auf 76.1° C	Serum erhitzt auf 76.1° C während:															
			5"	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
			M i n u t e n															
0.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.005	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.012	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.0065	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wenn man diesen Versuch nach der Madsen-Jørgensenschen¹ Methode abliest, so wird man die unten angeführten Zahlen finden. In dieser Tabelle sind dieselben Bezeichnungen wie früher gebraucht.

Serum von Kaninchen, immunisiert mit B. coli Stamm II und B. typhi Stamm I; Indikator gewöhnliche Bouillonkultur von B. coli Stamm II.

	Das agglutinierende Vermögen von	
	A	A'
Unerhitztes Serum	0.008	100.0
Serum erhitzt bis auf 76.1° C . . .	0.01	80.0
„ „ auf 76.1° C während 5 Min.	0.0014	57.1
„ „ „ 10 „	0.020	40.0
„ „ „ 15 „	0.020	40.0
„ „ „ 20 „	0.025	32.0
„ „ „ 25 „	0.055	14.5
„ „ „ 30 „	0.033	24.2
„ „ „ 35 „	0.036	22.2
„ „ „ 40 „	0.040	20.0
„ „ „ 45 „	0.048	16.7
„ „ „ 50 „	0.060	13.3
„ „ „ 55 „	0.070	11.4

¹ A. a O.

(Fortsetzung.)

				Das agglutinierende Vermögen von	
				A	A'
Serum erhitzt auf 76·1° während	60 Min.			0·080	10·0
" "	65 "			0·1	8·0
" "	70 "			<0·1	> 8·0
" "	75 "			<0·1	> 8·0
" "	80 "			<0·1	> 8·0

Denselben regelmäßigen, hemmungsfreien Verlauf der Inaktivierung zeigte das Serum noch auf 77°, 78·8° und 79·2° erhitzt, wenn nur die Verdünnung 1:7 war. Wenn dieses Serum, verdünnt 1:3, auf 76·1° erhitzt wurde, konnte man (s. Tabelle S. 303) nach 40 Minuten keine Agglutination mehr finden, während deutliche Agglutination noch nach 65 bis 70 Minuten zu sehen war, wenn die Verdünnung 1:7 war.

Wie aus meinen früher angeführten Versuchen zu ersehen ist, wird die Inaktivierungsgeschwindigkeit des agglutinierenden Vermögens eines verdünnten Serums nicht viel verändert, wenn die Verdünnung nicht größer ist als 1:9, und wenn nicht Hemmungserscheinungen den regelmäßigen Verlauf der Agglutininabnahme verhindern. Man ist deshalb zu der Annahme berechtigt, daß der große Unterschied zwischen den Verdünnungen 1:3 und 1:7 in diesem Falle seine Ursache nicht darin hat, daß die Thermostabilität des Agglutinins in der letzteren Verdünnung viel größer geworden war, sondern vielmehr darin, daß der hemmende Einfluß, der möglicherweise auf die beobachtete Koagulation anderer Eiweißstoffe zurückzuführen ist, jetzt infolge der größeren Verdünnung, die Inaktivierung nicht mehr beeinträchtigen konnte.

Man könnte sich wohl denken, daß die durch die Eiweißkoagulation entstandene größere Viskosität des konzentrierten Serums einen hemmenden, physikalischen Einfluß auf das sichtbare Auftreten der Agglutinationsreaktion ausüben könnte, wie es der Fall ist mit manchen anderen Stoffen. Ich selbst habe mich, wie auch andere Forscher, von dem ähnlichen Einfluß einer konzentrierten Zuckerlösung überzeugen können. Auch habe ich beobachtet, daß eine Menge andere Stoffe, wie Glycerin, Gummilösung, konzentrierte Salzlösung usw. Hemmungszonen bewirken. Gelatine hat nicht diese Wirkung. Daß die Ursache der Hemmungserscheinungen aber nicht nur in der Eiweißkoagulation zu suchen ist, ist daraus zu ersehen, daß Hemmungserscheinungen in dem verdünnten Serum trotz eingetretener Opaleszenz nicht immer entstanden. Da ich sie aber nie an solchen Sera gefunden habe, deren Inaktivierung bei so niedriger Temperatur geschah, daß keine Opaleszenz eintrat, hat man doch Grund zu vermuten, daß ein Zusammenhang

zwischen Eiweißkoagulation und Entstehen der Hemmungserscheinungen existiert.

Wenn man den in den Tabellen S. 303 wiedergegebenen Versuch betrachtet und nach der Madsen-Jørgensenschen Methode eins von den letzten Röhrchen der Serie als Standardröhrchen, mit den Röhrchen in den anderen Serien vergleicht, und dann nur die Röhrchen aufzeichnet, die am Ende des agglutinierenden Gebietes diesem Standardröhrchen entsprechen, so erhält man folgende Werte des agglutinierenden Vermögens.

	A	A'
Unerhitztes Serum	0.0033	100.0
Serum erhitzt bis auf 76.1° C.	0.0040	82.5
„ „ auf 76.1° C während 5 Min.	0.0055	60.0
„ „ „ 10 „	0.0070	47.1
„ „ „ 15 „	0.0080	41.3
„ „ „ 20 „	0.01	33.0
„ „ „ 25 „	—	—
„ „ „ 30 „	—	—
„ „ „ 35 „	—	—
„ „ „ 40 „	—	—

Wenn man diese Zahlen mit denen vergleicht, die für dasselbe Serum S. 305 u. 306 angegeben sind, so sieht man, daß der Prozeß trotz der verschiedenen Verdünnungen in beiden Tabellen bis zu 20 Minuten vollständig parallel verläuft; nachdem aber wird das Agglutinin des weniger verdünnten Serums plötzlich schnell inaktiviert, während in dem starken verdünnten Serum Agglutinin noch nachzuweisen ist, bis es nach Erwärmen während 65 Minuten 92 Prozent seines Vermögens verloren hat. Die nach 20 Minuten beobachtete schnellere Inaktivierung des schwächer verdünnten Serums ist wohl nur als eine scheinbare zu betrachten. Das Agglutinin kann kaum plötzlich aus der einen der Verdünnungen verschwinden, nachdem der Prozeß bis dahin vollständig parallel in den beiden verlaufen ist. Viel natürlicher scheint die Erklärung, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit sich in der Tat durch die verschiedenen Verdünnungen nicht so verändert hat, wie es bei dem ersten Blick auf die Tabellen erscheint und daß die sichtbare Agglutination durch andere Ursachen zum Vorschein zu kommen, verhindert wird.

Die beobachtete Abnahme der Agglutinationskraft entspricht wahrscheinlich nicht der wirklichen Abnahme des agglutinierenden Vermögens allein, sondern ist diese als die Summe dieser reellen Abnahme und der scheinbar durch die hemmende Einwirkung der durch das Erhitzen physikalisch und chemisch veränderten übrigen Bestandteile des Serums, der Eiweißstoffe, entstandenen Abnahme zu betrachten.

**Bei welcher Temperatur wird das Coli-Immunserum inaktiviert?
Wie wirken Variationen der Zeit und Temperatur auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit? Kann man irgendwelche Gesetzmäßigkeit für die Inaktivierung feststellen?**

Bei den in dieser Richtung gemachten Versuchen habe ich die Inaktivierungsgeschwindigkeit sowohl der Ziegen- wie Kaninchen- und Pferdeimmunsera von mehreren Tieren bei mehreren verschiedenen Temperaturen verfolgt. Die Messungen der Agglutinationskraft sind nach den früher erörterten Prinzipien ausgeführt. Die Sera wurden in solchen Verdünnungen untersucht, wo Hemmungserscheinungen das Ablesen des Resultates nicht unmöglich machten.

Bei welcher Temperatur werden die Coliagglutinine inaktiviert? Es hat natürlich keinen Sinn zu behaupten, wie es jedoch oft behauptet worden ist, daß die Agglutinine bei dieser oder jener Temperatur inaktiviert werden, wenn man nicht gleichzeitig angibt, in welcher Zeit, d. h. wie schnell diese Inaktivierung verläuft. Es ist ein Irrtum für jedes Agglutinin eine bestimmte Inaktivierungstemperatur anzunehmen. Im Gegenteil — fast jede Temperatur wirkt abschwächend auf die Agglutinationskraft eines Serums; aber je höher die Temperatur ist, desto schneller geht die Inaktivierung, je niedriger die Temperatur, desto kleiner werden die Veränderungen der agglutinierenden Stärke. Es gibt für jedes Serum eine Temperatur, von welcher an seine Agglutinationskraft in bestimmbarem Maße in relativ kurzer Zeit, in einigen Stunden abnimmt, und ebenso eine Temperatur, bei der die Abnahme so schnell, in einigen Sekunden, zum vollständigen Verschwinden des Agglutinins führt, daß man sie nicht mehr stufenweise messen kann; und dazwischen liegt eine Temperaturzone, innerhalb welcher den Veränderungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit leicht zu folgen ist. Die Frage: bei welcher Temperatur werden die Coli-Immunagglutinine inaktiviert? müßte also eigentlich so lauten: wie schnell werden die Coli-Immunagglutinine bei einer bestimmten Temperatur inaktiviert, und wie wirkt eine bestimmte Veränderung der Temperatur auf diese Inaktivierungsgeschwindigkeit? Um die Frage zu beantworten, habe ich die obengenannten Sera bei mehreren Temperaturen untersucht.

Als Beispiel mag folgender Versuch angeführt werden:

Serum von Ziege immunisiert mit *B. coli* Stamm I; das Serum am 8. Tage nach der letzten subkutanen Injektion entnommen; die Untersuchungsmethode ist früher angegeben; als Indikator Cibilbouillon von Stamm I; das Serum verdünnt 1:6; A und A' haben dieselbe Bedeutung wie in früheren Tabellen.

Das agglutinierende Vermögen:

	A	A'		A	A'
Ser. erhitzt bis auf 70.3°C	0.005	100.0	Ser. erhitzt bis auf 71.4°C	0.005	100.0
desgl. während 15 Min.	0.0065	76.9	desgl. während 10 Min.	0.0070	71.4
" " 30 "	0.0085	58.8	" " 20 "	0.010	50.0
" " 45 "	0.0098	51.0	" " 30 "	0.014	35.7
" " 60 "	0.011	45.5	" " 40 "	0.020	25.0
" " 75 "	0.018	27.8	" " 50 "	0.024	20.8
" " 90 "	0.027	18.5	" " 60 "	0.030	16.7
" " 105 "	0.033	15.2	" " 70 "	0.037	13.5
" " 120 "	0.037	13.5	" " 80 "	0.050	10.0
" " 135 "	0.050	10.0	" " 90 "	0.060	8.3
" " 150 "	0.058	8.6	" " 100 "	0.075	6.7
" " 165 "	0.075	6.7	" " 110 "	0.090	5.6
" " 180 "	0.095	5.3	" " 120 "	0.1	5.0
" " 195 "	<0.1	5.0	" " 130 "	<0.1	5.0
" " 210 "	<0.1	5.0	" " 140 "	<0.1	5.0
" " 225 "	<0.1	5.0	" " 150 "	<0.1	5.0
Ser. erhitzt bis auf 72.2°C	0.005	100.0	Ser. erhitzt bis auf 73.1°C	0.005	100.0
desgl. während 6 Min.	0.0065	76.9	desgl. während 10 Min.	0.0072	69.4
" " 12 "	0.0090	55.6	" " 20 "	0.012	41.7
" " 18 "	0.012	41.7	" " 30 "	0.025	20.0
" " 24 "	0.01	50.0	" " 40 "	0.033	15.2
" " 30 "	0.012	41.7	" " 50 "	0.058	8.6
" " 36 "	0.018	27.8	" " 60 "	0.075	6.7
" " 42 "	0.020	25.0	" " 70 "	0.1	5.0
" " 48 "	0.025	20.0	" " 80 "	<0.1	5.0
" " 54 "	0.035	14.3	" " 90 "	<0.1	5.0
" " 60 "	0.055	9.1	" " 100 "	<0.1	5.0
" " 66 "	0.065	76.9			
" " 72 "	0.080	62.5	Ser. erhitzt bis auf 74.8°C	0.005	100.0
" " 78 "	0.1	5.0	desgl. während 2 Min.	0.0045	111.1
" " 84 "	<0.1	<5.0	" " 4 "	0.0060	83.3
" " 90 "	<0.1	<5.0	" " 6 "	0.0072	69.4
" " 96 "	<0.1	<5.0	" " 8 "	0.0085	58.8
Ser. erhitzt bis auf 73.6°C	0.005	100.0	" " 10 "	0.01	50.0
desgl. während 4 Min.	0.0058	86.2	" " 12 "	0.014	35.7
" " 8 "	0.0075	66.7	" " 14 "	0.018	27.8
" " 12 "	0.0095	52.6	" " 16 "	0.023	21.7
" " 16 "	0.014	35.7	" " 18 "	0.029	17.2
" " 20 "	0.022	22.7	" " 20 "	0.045	11.1
" " 24 "	0.025	20.0	" " 22 "	0.049	10.2
" " 28 "	0.033	15.2	" " 24 "	0.068	7.4
" " 32 "	0.045	11.1	" " 26 "	0.090	5.6
" " 36 "	0.060	8.3	" " 28 "	0.1	5.0
" " 40 "	0.080	6.3	" " 30 "	<0.1	>5.0
" " 44 "	0.1	5.0	" " 32 "	<0.1	>5.0
" " 48 "	<0.1	<5.0			
" " 52 "	<0.1	<5.0			
" " 56 "	<0.1	<5.0			

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß eine Temperaturdifferenz von $\frac{1}{2}^{\circ}$ schon genügt, um die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins in diesem Serum in ablesbarem Grade zu beeinflussen. In dem oben wiedergegebenen Beispiel hat das Serum, ungefähr 180 Minuten auf 70.3°C erhitzt, so viel von seiner Stärke verloren, wie nach 120 Minuten auf 71.4°C , nach 78 Minuten auf 72.2°C , nach 70 Minuten auf 73.1°C , nach 44 Minuten auf 73.6°C und nach 28 Minuten auf 74.8°C . Ganz dasselbe Resultat zeigten alle von mir untersuchten Coli-Immunsera. Eine Temperaturdifferenz von $\frac{1}{2}$ bis 1°C bewirkte an allen einen deutlich ablesbaren Unterschied der Inaktivierungsgeschwindigkeit.

Wie aus dem von Madsen und Streng¹ bald erscheinenden Aufsatz hervorgeht, verläuft die Inaktivierung des Coliagglutinins zuweilen wie eine monomolekulare Reaktion. So ist es auch der Fall in dem oben angeführten Beispiel. Im folgenden werde ich der Übersichtlichkeit wegen diese Inaktivierungsart als Typus α bezeichnen.

Im oben angegebenen Beispiel ist die Stärke des eben auf 71.4°C erhitzten Serums, von welchem 0.005^{cem} eine gleich starke Agglutinationsreaktion zeigte, wie 0.007^{cem} desselben Serums, als es 10 Minuten auf dieselbe Temperatur erhitzt war, also während dieser 10 Minuten auf 71.4°C von $\frac{1}{0.005}$, d. i. 200 A.-E.² bis $\frac{1}{0.007}$, d. i. 143 A.-E. gesunken. Das Serum hat also innerhalb der ersten 10 Minuten ungefähr 57 A.-E. verloren. Nachdem das Serum schon 90 Minuten auf 71.4°C erhitzt worden war, zeigte 0.060^{cem} davon dieselbe agglutinierende Stärke, wie die oben angegebenen Mengen im Anfang des Versuchs; nach 100 Minuten ergab 0.075^{cem} eine ebenso starke Agglutination. 0.060^{cem} entspricht $\frac{1}{0.060} = 16.6$ A.-E., und $0.075^{\text{cem}} = \frac{1}{0.075}$ oder 13.3 A.-E. Die absolute Stärke des Serums war also während dieser 10 Minuten nur um 3.3 A.-E. vermindert worden. Aus diesem Beispiele geht also hervor, daß die absolute Abnahme der agglutinierenden Stärke mit jedem Zeitintervalle immer kleiner wurden.

In diesem Beispiele ist weiter das Serum während der ersten 10 Minuten von 200 A.-E. bis 143 A.-E. gesunken, hat also ungefähr 28 Prozent seiner Stärke verloren. Während der letzteren 10 Minuten hat das Serum von $\frac{1}{0.06}$ bis $\frac{1}{0.075}$, also um 20 Prozent abgenommen. Diese relative Abnahme der agglutinierenden Stärke ist ungefähr gleich groß im Anfang, am Ende und während der ganzen Inaktivierungszeit.

¹ Madsen u. Streng, a. a. O.

² Als Agglutinations-Einheit, A.-E., wird in diesem Versuche die Agglutinationsstärke eines imaginären Serums bezeichnet, wovon 1^{cem} ebenso starke Agglutination hervorrufen kann, wie die von den in obenstehender Tabelle angegebenen Serum-mengen hervorgerufene.

Alle von mir untersuchten Sera werden aber nicht auf diese Weise inaktiviert. In einer großen Anzahl der Sera wird die Inaktivierungsgeschwindigkeit mit der Zeit nicht nur absolut, wie im obigen Beispiele, sondern auch relativ betrachtet immer langsamer und langsamer. Dieser letztgenannte Typus, welchen ich Typus β benennen will, zeigt nicht den monomolekularen Verlauf.¹ Als ein deutliches Beispiel für den Typus β mag folgender Versuch angeführt werden.

Serum von Kaninchen 336, immunisiert mit *B. coli* Stamm I; das Serum am 8. Tage nach der letzten Injektion entnommen; die Injektionen wurden alternierend subkutan und intraperitoneal jeden 3. Tag gemacht; als Indikator Bouillonkultur von Stamm I; das Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 1:7 verdünnt (s. nachstehende Tabelle S. 312).

Wenn man die daselbst angeführten Zahlen vergleicht, so wird man finden, daß nicht nur die absolute Abnahme der Agglutinationsstärke, sondern auch die relative Verminderung mit jedem Zeitintervalle kleiner und kleiner werden. So hat das Serum innerhalb der ersten 10 Minuten bei 67.5° C schon 67 Prozent verloren, während es in den letzten 90 Minuten nicht mehr eine sicher meßbare Menge verloren hat, obwohl die Agglutinationsstärke noch nicht vollständig aufgehoben war. In den ersten 10 Minuten hat das Serum 200 A.-E., während der letzten 2 Stunden ca. 8 A.-E. verloren. Während dieser 2 letzten Stunden hat das Serum ca. 20 Prozent von der Stärke, welche es unmittelbar vor diesen 2 Stunden zeigte, verloren. Ganz wie der erst angeführte Versuch zeigen auch diese Tabellen, daß eine Erhöhung der Temperatur von 1° C die Inaktivierungsgeschwindigkeit sehr verändert. Das Serum braucht z. B. auf 70.1° erhitzt mehr als 50 Minuten, um 90 Prozent seiner Stärke zu verlieren, bei 71° wird diese Abnahme schon von 25 Minuten bewirkt.

Wie sind nun die verschiedenen Inaktivierungstypen α und β zu erklären?

Der Unterschied könnte vielleicht seinen Grund in der als Indikator verwendeten Bouillon haben. In der Tat habe ich in einigen Fällen einen bedeutenden Unterschied zwischen Bouillons, die auf dieselbe Weise dargestellt waren, gefunden. Da ich aber bei Verwendung derselben Bouillon als Indikator sowohl einen Verlauf wie den S. 309 angeführten, wo die Abnahme der Agglutinationsstärke des Serum nach dem Typus α geschah, wie auch einen Verlauf nach dem Typus β erhalten habe, können die beobachteten prinzipiellen Abweichungen der Inaktivierung verschiedener Sera nicht von der Beschaffenheit der Bouillon herrühren.

¹ Madsen u. Streng, a. a. O.

Das agglutinierende Vermögen:

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0033	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.0033	100.0
Ser. erhitzt bis auf 63.1°C	0.0033	100.0	Ser. erhitzt bis auf 67.5°C	0.004	82.5
desgl. während 2 Min.	0.0036	91.7	desgl. während 2 Min.	0.0055	60.0
" " 4 "	0.0033	100.0	" " 4 "	0.0065	50.8
" " 6 "			" " 6 "	0.0080	41.3
" " 8 "	0.0045	73.3	" " 8 "	0.01	33.0
" " 10 "	0.005	66.0	" " 10 "	0.01	33.0
" " 12 "	0.005	66.0	" " 12 "	0.011	30.0
" " 16 "	0.005	66.0	" " 14 "	0.016	20.6
" " 22 "	0.0055	60.0	" " 16 "	0.016	20.6
" " 28 "	0.0055	60.0	" " 18 "	0.015	22.0
" " 34 "	0.0060	55.0	" " 20 "	0.016	20.6
" " 44 "	0.0065	50.8	" " 25 "	0.018	18.3
" " 54 "	0.0080	41.3	" " 30 "	0.020	16.5
" " 64 "			" " 40 "	0.022	15.0
" " 74 "	0.01	33.0	" " 60 "	0.024	13.8
" " 94 "	0.014	23.6	" " 90 "	0.029	11.4
Unerhitztes Serum. . .	0.0033	100.0	" " 120 "	0.029	11.4
Ser. erhitzt bis auf 70.1°C	0.016	20.6	" " 150 "	0.029	11.4
desgl. während 4 Min.	0.018	18.3	" " 180 "	0.030	11.0
" " 8 "	0.020	16.5			
" " 16 "	0.020	16.5	Unerhitztes Serum. . .	0.0033	100.0
" " 20 "	0.022	15.0	Ser. erhitzt bis auf 71.0°C	0.016	20.6
" " 32 "	0.022	15.0	desgl. während 5 Min.	0.025	13.2
" " 44 "	0.025	13.2	" " 10 "	0.029	11.4
" " 56 "	0.029	11.4	" " 15 "	0.030	11.0
Unerhitztes Serum. . .	0.0033	100.0	" " 20 "	0.030	11.0
Ser. erhitzt bis auf 75.0°C	0.030	11.0	" " 25 "	0.033	10.0
desgl. während 4 Min.	0.040	8.3	" " 30 "	0.033	10.0
" " 8 "	0.050	6.6	" " 35 "	0.036	9.2
" " 12 "	0.060	5.5	" " 40 "	0.036	9.2
" " 16 "	0.065	5.1	" " 45 "	0.036	9.2
" " 20 "	0.080	4.1	" " 50 "	0.036	9.2
" " 24 "	0.090	3.7			
" " 28 "	0.1	3.3	Unerhitztes Serum. . .	0.0040	100.0
" " 32 "	<0.1	>3.3	Ser. erhitzt bis auf 71.9°C	0.020	20.0
Unerhitztes Serum. . .	0.0040	100.0	desgl. während 10 Min.	0.033	12.1
Ser. erhitzt bis auf 72.6°C	0.020	20.0	" " 20 "	0.060	6.7
desgl. während 4 Min.	0.029	13.8	" " 30 "	0.065	6.2
" " 8 "	0.040	10.0	" " 40 "	0.080	5.0
" " 12 "	0.052	7.7	" " 50 "	0.090	4.4
" " 16 "	0.062	6.5	" " 60 "	0.1	4.0
" " 20 "	0.070	5.7	" " 70 "	<0.1	>4.0
" " 24 "	0.082	4.9			
" " 28 "	0.090	4.4			
" " 32 "	0.1	4.0			
" " 36 "	<0.1	>4.0			

Man könnte sich vielleicht noch denken, daß während der Inaktivierung und durch die von ihr hervorgerufene Veränderung des Agglutinins oder des Serums eine Substanz hätte entstehen können, die einem weiteren gleichförmigen Abnehmen des Agglutinins nach dem monomolekularen Typus hindernd entgegengetreten würde. Warum sollten aber diese hemmenden Substanzen bei der Inaktivierung des Agglutinins des einen Serums entstehen, bei der des anderen nicht?

Eine dritte Erklärung könnte die von Joos aufgestellte Hypothese von verschiedenen Partialagglutininen mit verschiedener Inaktivierungstemperatur geben. Eine solche Annahme könnte erklären, warum das eine Serum die ganze Zeit mit gleichförmig abnehmender Geschwindigkeit, also nach dem Typus α , inaktiviert wird, während ein anderes erst eine schnelle Abnahme des agglutinierenden Vermögens aufweist, die dann, auch relativ betrachtet, immer schwächer und schwächer wird, um zuletzt in einigen Fällen, bevor der Nullpunkt erreicht ist, ganz aufzuhören, Typus β , siehe S. 312.

Wenn man sich an diese letzte Hypothese anschließt, so muß man nicht nur zwei scharf abgegrenzte Partialagglutinine annehmen, sondern es müßten deren dann eine ganze Reihe vorhanden sein. Vielleicht wäre dann das Richtige, das Agglutinin nicht als eine homogene Substanz, sondern wie die Globuline als eine Reihe von Stoffen mit verschiedener Resistenz gegenüber der Einwirkung der Temperatur oder also als eine Eigenschaft einer Reihe von solchen verschiedenen Stoffen zu betrachten. Dann wären die beiden Typen α und β leicht zu erklären. Je mehr diese Partialagglutinine eines Serums bezüglich der Thermostabilität sich nähern, je mehr wird die Inaktivierung dem Typus α gemäß verlaufen; je verschiedener die Resistenz der einzelnen Partialagglutinine eines Serums gegenüber der Temperatur ist, je mehr wird sich der Inaktivierungsverlauf von dem Typus α entfernen und die Eigenschaften des Typus β annehmen.

In meinen Versuchen habe ich den Typus α viel seltener gesehen als den Typus β ; den erstgenannten habe ich sowohl bei Kaninchen- wie bei Ziegen-Coliimmunsera gefunden, den letzteren hauptsächlich bei Kaninchen-, aber auch einige Male bei Ziegensera.

Zeigen Immunagglutinine von verschiedenen Tieren und Tierarten große Verschiedenheiten, oder werden die Coli-Immunagglutinine ungefähr gleich schnell bei derselben Temperatur inaktiviert, unabhängig davon, von welchem Tiere das Agglutinin stammt? Wenn Unterschiede nachzuweisen sind, wie groß sind sie dann, und variieren sie nach der Spezies oder nach dem Individuum? Mit anderen Worten, kann man behaupten,

daß die Agglutinine einer Tierart resistenter seien als die einer anderen, oder sind die individuellen Verschiedenheiten schon so groß, daß man keine Regel für die verschiedenen Tierarten aufstellen kann?

Folgende Tabellen zeigen, wie große Verschiedenheiten Tiere von derselben Spezies aufweisen können.

Sera von Ziegen A und B; immunisiert mit *B. coli* Stamm I; als Indikator gewöhnliche Bouillonkultur von *B. coli* Stamm I; Besichtigung nach 3 Stunden; Verdünnung 1:3.

Das agglutinierende Vermögen von:						
	Ziege A			Ziege B		
	A	A'		A	A'	
Unerhitztes Serum. . .	0.0020	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.004	100.0	
Ser. erhitzt bis auf 72.9 °C	0.0025	80.0	Ser. erhitzt bis auf 64.2 °C	0.005	80.0	
desgl. während 5 Min.	0.0033	60.6	desgl. während 1 Min.	0.005	80.0	
„ „ 10 „	0.0042	47.6	„ „ 2 „	0.0065	61.53	
„ „ 15 „	0.0050	40.0	„ „ 3 „	0.0090	44.4	
„ „ 20 „	0.0065	30.8	„ „ 4 „	0.011	36.4	
„ „ 25 „	0.0080	25.0	„ „ 5 „	0.011	36.4	
„ „ 30 „	0.010	20.0	„ „ 6 „	0.018	22.2	
„ „ 35 „	0.018	11.1	„ „ 7 „	0.018	22.2	
„ „ 40 „	0.023	8.7	„ „ 8 „	0.020	20.0	
„ „ 45 „	0.033	6.1	„ „ 9 „	0.022	18.2	
„ „ 50 „	0.042	4.8	„ „ 10 „	0.022	18.2	
„ „ 55 „			„ „ 11 „	0.027	14.8	
„ „ 60 „			„ „ 12 „	0.036	11.1	
„ „ 65 „			„ „ 13 „	0.036	11.1	
„ „ 70 „			„ „ 14 „	0.036	11.1	

Aus diesen Tabellen ersieht man, daß durch die Einwirkung desselben *B. coli*-Stammes auf 2 verschiedene Ziegen Agglutinine entstanden sind, die sehr verschiedene Thermostabilität zeigen. Das erste Serum verliert auf 72.9° erhitzt in 35 Minuten soviel seines agglutinierten Vermögens, wie das zweite schon auf 64.2° C in nur 12 Minuten. Die Sera waren gleich stark verdünnt und enthielten gleich stark wirkendes Agglutinin. Betreffs des Coliagglutinins der Ziegen kann man also nicht behaupten, daß sie an eine bestimmte Fraktion der Globuline gebunden wären.

Ganz ähnliche Resultate erhielt ich bei Versuchen mit Kaninchen, die gleichzeitig mit gleichen Mengen desselben Colistammes immunisiert worden waren. Als Beispiel mögen folgende Tabellen angeführt werden.

Serum von Kaninchen A und B, immunisiert mit *B. coli* Stamm I; Verdünnung 1:7; Indikator Bouillonkultur von *B. coli* Stamm I.

Das agglutinierende Vermögen von:					
	Kaninchen A			Kaninchen B	
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0033	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.0025	100.0
Ser. erhitzt bis auf 67.5° C	0.004	82.5	Ser. erhitzt bis auf 70.0° C	0.0040	62.5
desgl. während 5 Min.	0.0073	45.2	desgl. während 5 Min.	0.0060	41.7
„ „ 10 „	0.01	33.0	„ „ 10 „	0.0085	29.4
„ „ 15 „	0.016	20.6	„ „ 15 „	0.012	20.8

Wie der Versuch zeigt, existieren auch unter den Kaninchen sehr große individuelle Verschiedenheiten; das Serum von Kaninchen A wird schon bei 67.5° ebenso schnell inaktiviert wie das Serum von Kaninchen B bei 70°, aber bei fortgesetztem Erhitzen wird das Serum von Kaninchen B, dessen Inaktivierungsverlauf sich dem Typus α nähert, schneller inaktiviert als das Serum von Kaninchen A, dessen Serum mehr ausgeprägt die Eigenschaften des Typus β zeigt.

Wenn man die oben erhaltenen Zahlen mit den S. 314 vorgeführten vergleicht, so sieht man ganz wie aus vielen anderen meiner Versuche, daß das Serum von Kaninchen B thermolabiler ist als das Serum von Ziege A und thermostabiler als das von Ziege B. Also zeigen die Coli-Immunagglutinine der Ziegen und Kaninchen nur individuelle, nicht Artunterschiede. Dasselbe scheint auch für die Coli-Immunagglutinine der Pferde zu gelten.

Können irgendwelche Unterschiede in der Thermostabilität der durch verschiedene Colistämme an verschiedenen Individuen hervorgerufenen Agglutinine konstatiert werden?

Um eine endgültige Antwort auf diese Frage zu erhalten, müßte man eine sehr große Reihe von Versuchen anstellen. Meine Versuche scheinen darauf hinzuweisen, daß die durch Immunisierung mit B. coli Stamm II entstandenen Agglutinine thermostabiler sind als die durch Immunisierung mit den zwei anderen Stämmen hervorgerufenen. Zwischen B. coli Stamm I und Stamm III habe ich einen Unterschied in dieser Richtung nicht konstatieren können. Als Beispiel seien folgende Tabellen angeführt.

Wie auch die nächsten Tabellen zeigen, haben alle meine Versuche einen deutlichen Unterschied zwischen den Agglutininen des B. coli Stamm II, einerseits und den der Stämme I und III andererseits nach der Richtung aufgewiesen, daß die Agglutinine, die von B. coli Stamm II herrühren, resistenter gegenüber der Einwirkung der Temperatur sind, als die Agglutinine, die durch die anderen Stämme entstanden sind.

Serum vom Kaninchen, immunisiert mit B. coli Stamm I; Indikator Bouillonkultur von Stamm I; Verdünnung 1:5			Serum vom Kaninchen, immunisiert mit B. coli Stamm II; Indikator Bouillonkultur von Stamm II; Verdünnung 1:7		
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0025	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.008	100.0
Ser. erhitzt bis auf 71.4°C	0.0050	50.0	Ser. erhitzt bis auf 78.4°C	0.016	50.0
desgl. während 2 Min.	0.0080	31.3	desgl. während 2 Min.	0.020	40.0
„ „ 4 „	0.01	25.0	„ „ 4 „	0.024	33.3
„ „ 6 „	0.016	15.6	„ „ 6 „	0.029	27.6
„ „ 8 „	0.022	11.4	„ „ 8 „	0.029	27.6
„ „ 10 „	0.033	7.6	„ „ 10 „	0.033	24.2
„ „ 12 „	0.040	6.3	„ „ 12 „	0.037	21.6
„ „ 14 „	0.050	5.0	„ „ 14 „	0.040	20.0
„ „ 16 „	0.065	3.8	„ „ 16 „	0.045	17.8
„ „ 18 „	0.080	3.1	„ „ 18 „	0.050	16.0
„ „ 20 „	0.1	2.5	„ „ 20 „	0.060	13.3
„ „ 22 „	<0.1	>2.5	„ „ 22 „	0.070	11.4
			„ „ 24 „	0.080	10.0
			„ „ 26 „	0.090	8.9
			„ „ 28 „	0.1	8.0
			„ „ 30 „	<0.1	>8.0
			„ „ 32 „	<0.1	>8.0
			„ „ 34 „	<0.1	>8.0

Serum vom Kaninchen, immunisiert mit B. coli Stamm III; Indikator Bouillonkultur von Stamm III; Verdünnung 1:3		
	A	A'
Unerhitztes Serum	0.0033	100.0
Serum erhitzt bis auf 68.7°C	0.011	30.0
Serum erhitzt auf 68.7°C während 4 Min.	0.018	18.3
„ „ „ 8 „	0.020	16.5
„ „ „ 12 „	0.024	13.8
„ „ „ 16 „	0.030	11.0
„ „ „ 20 „	0.033	10.0
„ „ „ 24 „	0.036	9.2
„ „ „ 28 „	0.040	8.3
„ „ „ 32 „	0.040	8.3

Meine Versuche über die durch B. coli hervorgerufenen Agglutinine ergeben also: Die zufolge erhöhter Temperatur eingetretene Inaktivierung des Coli-Immunagglutinins verläuft in den Sera von verschiedenen Tieren nicht nur mit sehr verschiedener Geschwindigkeit, sondern auch nach verschiedenen Typen α und β , von welchen Typus α , wie Madsen und Streng zeigen werden, dem monomolekularen Verlaufe entspricht, β dagegen einem viel langsameren

Verläufe. Von den beiden Typen ist der Typus β der häufiger vorkommende.

Die Inaktivierungsgeschwindigkeit der von mir untersuchten Coli-Immunagglutinine von verschiedenen Tierarten, Ziegen und Kaninchen zeigen keine konstante Artdifferenzen.

Dagegen können schon an verschiedenen Individuen derselben Spezies sehr große Differenzen beobachtet werden. Das Agglutinin des einen Tieres wird bei etwas über 60° C ebenso schnell und schneller inaktiviert als das Agglutinin des anderen Tieres bei 70° C und etwas über 70° C.

Die Agglutinine des B. coli Stamm II scheinen resistenter zu sein als die Agglutinine der Stämme I und III.

Bei welcher Temperatur wird das Typhusimmunserum inaktiviert, wie schnell verläuft diese Inaktivierung, und kann derselbe Unterschied für dieses Immunserum wie für das Coli-Immunserum festgestellt werden?

Zu diesen Versuchen habe ich sowohl Kaninchen- wie Ziegensera verwendet.

Meine Versuche zeigten, daß das Typhusagglutinin bei fast derselben Temperatur wie die früher untersuchten Coliagglutinine inaktiviert wird. In der bei den Versuchen verwendeten Verdünnung fällt die Inaktivierungstemperatur also zwischen 60° bis 80° C. Wie es der Fall war mit den Coliagglutininen von verschiedenen Tieren, so ist auch für die Typhusagglutinine von verschiedenen Individuen derselben Spezies die Inaktivierungsgeschwindigkeit bei derselben Temperatur sehr verschieden. Artverschiedenheiten konnten nicht festgestellt werden. Folgendes Beispiel sei angeführt, dieses zu veranschaulichen. In den Tabellen sind dieselben Bezeichnungen wie für Coli-Immunsera verwendet. Die Versuche sind auf gewöhnliche Weise angestellt.

Serum von Ziege, immunisiert mit B. typhi Stamm I; das Serum 8 Tage nach der letzten subkutanen Injektion entnommen; als Indikator gewöhnliche Bouillonkultur von B. typhi Stamm I; Verdünnung 1:6; Ablesung nach 2½ Stunden.

Die Agglutinationsstärke von:					
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0080	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.0080	100.0
Ser. erhitzt bis auf 68.4°C	0.01	80.0	Ser. erhitzt bis auf 69.0°C	0.016	50.0
desgl. während 5 Min.	0.012	66.7	desgl. während 3 Min.	0.029	27.6
„ 10 „	0.018	44.4	„ 6 „	0.033	24.2
„ 15 „	0.028	28.6	„ 9 „	0.040	20.0
„ 20 „	0.05	16.0	„ 12 „	0.033	24.2
„ 25 „	0.065	12.3	„ 15 „	0.045	17.8
„ 30 „	0.080	10.0	„ 18 „	0.045	17.8
„ 35 „	0.090	8.9	„ 21 „	0.060	13.3
„ 40 „	0.090	8.9	„ 24 „	0.065	12.3
„ 45 „	0.1	8.0	„ 27 „	0.080	10.0
„ 50 „	0.1	8.0	„ 30 „	0.090	8.9
„ 55 „	<0.1	>8.0	„ 33 „	0.1	8.0
„ 60 „	<0.1	>8.0	„ 36 „	<0.1	>8.0
„ 65 „	<0.1	>8.0	„ 39 „	<0.1	>8.0
			„ 42 „	<0.1	>8.0

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0080	100.0	desgl. während 15 Min.	0.065	12.3
Ser. erhitzt bis auf 69.6°C	0.02	40.0	„ 18 „	0.080	10.0
desgl. während 3 Min.	0.028	28.6	„ 21 „	0.085	9.4
„ 6 „	0.038	21.1	„ 24 „	0.095	8.4
„ 9 „	0.048	16.7	„ 27 „	0.1	8.0
„ 12 „	0.058	13.8	„ 30 „	<0.1	>8.0

Dasselbe Serum, Verdünnung 1:3, Ablesung nach 3 Stunden.

	A	A'		A	A'
Ser. erhitzt bis auf 67.9°C	0.0065	100.0	Ser. erhitzt bis auf 69.0°C	0.0065	100.0
desgl. während 5 Min.	0.016	40.6	desgl. während 3 Min.	0.012	54.2
„ 10 „	0.02	32.5	„ 6 „	0.018	36.1
„ 15 „	0.023	28.3	„ 9 „	0.025	26.0
„ 20 „	0.042	15.5	„ 12 „	0.029	22.4
„ 25 „	0.045	14.4	„ 15 „	0.045	14.4
„ 30 „	0.045	14.4	„ 18 „	0.050	13.0
„ 35 „	0.065	10.0	„ 21 „	0.059	11.0
„ 40 „	0.072	9.0	„ 24 „	0.059	11.0
„ 45 „	0.076	8.6	„ 27 „	0.065	10.0
„ 50 „	0.080	8.1	„ 30 „	0.072	9.0
„ 55 „	0.090	7.2	„ 33 „	0.080	8.1
„ 60 „	0.095	6.8	„ 36 „	0.10	6.5
„ 65 „	0.1	6.5	„ 39 „	<0.1	6.5
„ 70 „	<0.1	6.5	„ 42 „	<0.1	6.5
			„ 45 „	<0.1	6.5

	A	A'		A	A'
Ser. erhitzt bis auf 67.2°C	0.0065	100.0	Ser. erhitzt bis auf 69.9°C	0.008	100.0
desgl. während 10 Min.	0.016	40.6	desgl. während 1½ Min.	0.012	66.7
„ 20 „	0.025	26.0	„ 3 „	0.018	44.4
„ 30 „	0.033	19.7	„ 4½ „	0.023	34.8
„ 40 „	0.05	13.0	„ 6 „	0.016	50.0
„ 50 „	0.065	10.0	„ 7½ „	0.033	24.2
„ 60 „	0.08	8.1	„ 9 „	0.045	17.8
„ 70 „	0.08	8.1	„ 10½ „	0.050	16.0
„ 80 „	0.1	6.5	„ 12 „	0.050	16.0
„ 90 „	<0.1	>6.5	„ 13½ „	0.065	12.3
„ 100 „	<0.1	>6.5	„ 15 „	0.072	11.1
„ 110 „	<0.1	>6.5	„ 16½ „	0.085	9.5
„ 120 „	<0.1	>6.5	„ 18 „	0.095	8.4
			„ 19½ „	0.1	8.0
			„ 21 „	<0.1	>8.0
			„ 22½ „	<0.1	>8.0
			„ 24 „	<0.1	>8.0

Serum von Ziege, immunisiert mit B. typhi Stamm I; Verdünnung 1:6.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0050	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.0050	100.0
Ser. erhitzt bis auf 63.1°C	0.0065	76.9	Ser. erhitzt bis auf 67.4°C	0.016	31.3
desgl. während 3 Min.	0.0070	71.4	desgl. während 5 Min.	0.025	20.0
„ 6 „	0.0090	55.6	„ 10 „	0.030	16.7
„ 9 „	0.0090	55.6	„ 15 „	0.037	13.5
„ 12 „	0.0085	58.8	„ 20 „	0.042	11.9
„ 15 „	0.011	45.5	„ 25 „	0.046	10.9
„ 18 „	0.012	41.7	„ 30 „	0.055	9.1
„ 21 „	0.010	50.0	„ 35 „	0.055	9.1
„ 24 „	0.010	50.0	„ 40 „	0.060	8.3
„ 27 „	0.010	50.0	„ 45 „	0.060	8.3
„ 30 „	0.011	45.5	„ 50 „	0.065	7.7
„ 33 „	0.012	41.7	„ 55 „	0.070	7.1
„ 36 „	0.012	41.7	„ 60 „	0.070	7.1
„ 46 „	0.014	35.7	„ 65 „	0.072	6.9
„ 56 „	0.016	31.3	„ 70 „	0.075	6.7
„ 66 „	0.020	25.0	„ 75 „	0.080	6.3
„ 76 „	0.022	22.7	„ 80 „	0.080	6.3
„ 86 „	0.025	20.0	„ 85 „	0.085	5.9
„ 96 „	0.025	20.0			
„ 106 „	0.027	18.5			
„ 136 „	0.029	17.2			
„ 166 „	0.036	13.9			
„ 196 „	0.039	12.8			
„ 256 „	0.040	12.5			
„ 316 „	0.043	11.6			
„ 426 „	0.040	12.5			

Serum von Kaninchen, immunisiert mit B. typhi Stamm I; als Indikator Bouillonkultur von Stamm I; Verdünnung 1:4.5.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.01	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.01	100.0
Ser. erhitzt bis auf 74.6 °C	0.016	62.5	Ser. erhitzt bis auf 75.1 °C	0.020	50.0
desgl. während 3 Min.	0.020	50.0	desgl. während 2 Min.	0.025	40.0
„ 6 „	0.033	30.3	„ 4 „	0.033	30.3
„ 9 „	0.040	25.0	„ 6 „	0.040	25.0
„ 12 „	0.040	25.0	„ 8 „	0.050	20.0
„ 15 „	0.050	20.0	„ 10 „	0.050	20.0
„ 18 „	0.050	20.0	„ 12 „	0.065	15.4
„ 21 „	0.065	15.4	„ 14 „	0.080	12.5
„ 24 „	0.070	14.3	„ 16 „	0.080	12.5
„ 27 „	0.090	11.1	„ 18 „	0.090	11.1
„ 30 „	0.1	10.0	„ 20 „	<0.1	>10.0
			„ 22 „	<0.1	>10.0
			„ 24 „	<0.1	>10.0

Serum von Kaninchen, immunisiert abwechselnd mit subkutanen und intraperitonealen Injektionen von B. typhi Stamm I und B. coli Stamm I; als Indikator Bouillonkultur von B. typhi Stamm I; Verdünnung 1:6.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.0065	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.0065	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.1 °C	0.01	65.0	Ser. erhitzt bis auf 71.0 °C	0.012	54.2
desgl. während 4 Min.	0.012	54.2	desgl. während 5 Min.	0.016	40.6
„ 8 „	0.012	54.2	„ 10 „	0.016	40.6
„ 12 „	0.012	54.2	„ 15 „	0.018	36.1
„ 16 „	0.011	59.1	„ 20 „	0.018	36.1
„ 20 „	0.014	46.4	„ 25 „	0.022	29.5
„ 24 „	0.014	46.4	„ 30 „	0.022	29.5
„ 28 „	0.016	40.6	„ 35 „	0.027	24.1
„ 32 „	0.016	40.6	„ 40 „	0.030	21.7
„ 44 „	0.020	32.5	„ 45 „	0.031	20.9
„ 56 „	0.025	26.0	„ 50 „	0.036	18.1
Ser. erhitzt bis auf 75.0 °C	0.016	40.6	Unerhitztes Serum. . .	0.008	100.0
desgl. während 4 Min.	0.029	22.4	Ser. erhitzt bis auf 67.5 °C	0.012	66.7
„ 8 „	0.045	14.4	desgl. während 30 Min.	0.016	50.0
„ 12 „	0.060	10.8	„ 60 „	0.020	40.0
„ 16 „	0.070	9.3	„ 90 „	0.020	40.0
„ 20 „	0.095	6.8	„ 150 „	0.022	36.4
„ 27 „	<0.1	6.5	„ 180 „	0.022	36.4

Serum von Kaninchen, immunisiert gleichzeitig mit B. typhi Stamm I und B. coli Stamm I; als Indikator Bouillonkultur von B. typhi Stamm I; Verdünnung 1:6.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum. . .	0.01	100.0	Unerhitztes Serum. . .	0.01	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.1° C	0.025	40.0	Ser. erhitzt bis auf 71.4° C	0.033	30.3
desgl. während 4 Min.	0.033	30.3	desgl. während 4 Min.	0.040	25.0
„ 8 „	0.036	27.8	„ 8 „	0.045	22.2
„ 12 „	0.038	26.3	„ 12 „	0.070	14.3
„ 16 „	0.040	25.0	„ 16 „	0.070	14.3
„ 20 „	0.048	20.8	„ 20 „	0.075	13.3
„ 24 „	0.055	18.2	„ 24 „	0.080	12.5
„ 28 „	0.060	16.7	„ 28 „	0.080	12.5
„ 32 „	0.065	15.4	„ 32 „	0.080	12.5
„ 36 „	0.065	15.4	„ 36 „	0.085	11.8
„ 40 „	0.065	15.4	„ 40 „	0.085	11.8
„ 44 „	0.070	14.3	„ 44 „	0.090	11.1
„ 48 „	0.070	14.3	„ 48 „	0.1	10.0
„ 52 „	0.060	16.7	„ 52 „	0.1	10.0
„ 56 „	0.080	12.5	„ 56 „	<0.1	>10.0
„ 60 „	0.075	13.3	„ 60 „	<0.1	>10.0
„ 64 „	0.080	12.5			

	A	A'		A	A'
Ser. erhitzt bis auf 72.1° C	0.025	40.0	desgl. während 24 Min.	0.080	12.5
desgl. während 4 Min.	0.050	20.0	„ 28 „	0.090	11.1
„ 8 „	0.065	15.4	„ 32 „	0.1	10.0
„ 12 „	0.065	15.4	„ 36 „	<0.1	>10.0
„ 16 „	0.080	12.5	„ 40 „	<0.1	>10.0
„ 20 „	0.1	10.0			

Wenn man diese Tabellen einer näheren Untersuchung unterwirft, sieht man, daß sie alle einen anfangs relativ schnellen Verlauf der Inaktivierung aufzeigen, der aber nachher bedeutend langsamer wird. Das in den Tabellen S. 319 angeführte Serum verliert während der ersten Minuten die Hälfte seines Vermögens, nachdem aber dauert es $1\frac{1}{2}$ Stunde, ehe das Serum noch 30 Prozent seines agglutinierenden Vermögens verliert. Das Serum, das in $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden 80 bis 90 Prozent seines agglutinierenden Vermögens verloren hat, wird nachher trotz fortwährenden Erhitzens bei derselben Temperatur in 5 Stunden nicht mehr in bemerkenswertem Grade abgeschwächt, vielmehr scheint die Inaktivierung also bei dieser Temperatur schon nach 2 bis 3 Stunden fast vollständig beendet zu sein. Dasselbe Resultat ergibt das Kaninchenserum S. 320: in 1 Stunde hat das Agglutinin bei Erhitzen auf 67.5° ca. 60 Prozent seines agglutinierenden Vermögens verloren, aber nach weiteren 2 Stunden wird dieses nur noch um 4 Prozent herabgesetzt. Dasselbe Phänomen

— anfangs schnelle Inaktivierung, die später relativ schwächer und schwächer wird — habe ich nicht nur bei den jetzt erwähnten, sondern bei allen von mir untersuchten Typhusimmunsera beobachtet, obschon nicht immer in so ausgeprägtem Grade wie bei dem S. 319 angeführten Serum. Kein einziges Typhusserum ergab dasselbe Resultat, wie das S. 309 angeführte Coli-Immunserum, dessen Inaktivierung nach dem Typus α verlief. Alle von mir untersuchten Typhusimmunsera hatten einen Inaktivierungsverlauf nach dem Typus β .

Die Inaktivierungsart einiger Typhussera nähert sich jedoch ziemlich beträchtlich dem Typus α ; bei anderen dagegen treten größere Veränderungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit auf, und die Inaktivierung hört auf, ehe die Agglutinationsstärke den Nullpunkt erreicht hat. Zwischen diesen beiden Grenzen gibt es dann eine Reihe Zwischenstufen.

Diese Versuche mit Typhussera zeigen deutlich, daß eine richtige Auffassung der Inaktivierung eines Serums unmöglich ist, wenn man, wie bisher geschehen ist, das agglutinierende Vermögen des Serums nur vor dem Erhitzen feststellt, und dann während des Erhitzens nur einige vereinzelte Messungen macht. Wenn man z. B. den Serienversuch S. 319 betrachtet, so wird man finden, daß das Agglutinin in $3\frac{1}{4}$ Stunden 88 Prozent seines ursprünglichen Vermögens verloren hatte; aber nach fortdauerndem Erhitzen hatte in 4 Stunden die Abnahme keine weiteren Fortschritte gemacht, sondern die Agglutinationskraft war andauernd ca. 12 Prozent von der ursprünglichen.

Die angeführten Tabellen weisen noch einen großen Unterschied in der Inaktivierungsgeschwindigkeit der Sera von verschiedenen Tieren auf. Das Kaninchenserum S. 320 verliert in $\frac{1}{2}$ Stunde bei 74.6°C 90 Prozent seines agglutinierenden Vermögens, während an dem Kaninchenserum S. 321 dieselbe Abnahme in derselben Zeit bei 72.1°C zu notieren ist, und das Ziegenserum S. 318 90 Prozent seines Vermögens schon innerhalb 20 Minuten bei 69.6°C verliert. Das erstgenannte von diesen drei Sera verlor 50 Prozent seines Vermögens innerhalb 3 Minuten bei 74.6°C , das zweite verlor 50 Prozent schon bei Erwärmung bis auf 70.1°C und das dritte Serum noch früher, schon bei Erwärmung bis auf 69.6° . Dasselbe Phänomen also bei den Typhus-Immunagglutininen wie bei den Coli-Immunagglutininen: sehr verschiedene Thermostabilität bei verschiedenen Sera nicht nur von Individuen verschiedener Arten, sondern auch von Individuen derselben Spezies.

Wie es der Fall war bei den Coli-Immunagglutininen, so kann man auch betreffs der Typhusimmunagglutinine keine bestimmte Inaktivierungstemperatur für ein Serum feststellen. Von einer gewissen Temperatur

an wird die Inaktivierung aller dieser Sera mit jedem steigenden Temperaturgrade beschleunigt. Eine Temperaturdifferenz von 0.5° C verursacht einen meßbaren Unterschied der Inaktivierung (s. z. B. S. 320).

Der Umstand, daß ein Serum, wie das S. 319 angeführte, bei einer bestimmten Temperatur schnell einen großen Teil seines Vermögens verliert, dann aber nicht weiterer Abschwächung unterworfen ist, scheint auch bezüglich der Typhus-Immunagglutinine für die Existenz von Partialagglutininen mit verschiedener Thermostabilität zu sprechen. Auf Grund meiner Versuchsergebnisse kann diese Existenz nicht mit Bestimmtheit festgestellt werden; sie würde aber auf eine einfache Weise die oben erwähnten Eigentümlichkeiten des Inaktivierungsvorgangs erklären. Doch genügt es dann nicht mit Joos die Partialagglutinine auf nur zwei zu begrenzen, sondern es muß deren eine größere Anzahl angenommen werden, die, wie die Globuline, nicht in scharf begrenzte Gruppen zu trennen sind.

Wie verhalten sich die Agglutinine des Normalserums gegenüber dem Einfluß der Temperatur?

In Analogie mit den Untersuchungen über die Inaktivierung der Immunsera habe ich einige Versuche mit Normalsera angestellt, um zu sehen, nach welchen Typen, mit welcher Geschwindigkeit, und bei welcher Temperatur die Inaktivierung dieser Sera verläuft.

Zu diesen Versuchen habe ich nur Ziegenserum verwendet. Bei der Versuchsanordnung habe ich durchaus dasselbe Verfahren befolgt, wie bei den Versuchen mit Immunsera.

Normalserum von Ziege XXII; Verdünnung 1:3; als Indikator Bouillonkultur von B. coli Stamm I.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . . .	0.10	100.0	desgl. während 8 Min.	0.65	15.4
Serum erhitzt bis auf 63° .	0.12	83.3	„ 9 „	0.70	14.3
desgl. während 1 Min.	0.16	62.5	„ 10 „	0.75	13.3
„ 2 „	0.25	40.0	„ 11 „	0.75	13.3
„ 3 „	0.40	25.0	„ 12 „	0.80	12.5
„ 4 „	0.40	25.0	„ 13 „	1.0	10.0
„ 5 „	0.50	20.0	„ 14 „	<1.0	10.0
„ 6 „	0.55	18.2	„ 15 „	<1.0	10.0
„ 7 „	0.60	16.7			

Normalserum von Ziege LXX; Verdünnung 1:3; als Indikator
Bouillonkultur von B. coli Stamm I.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.20	100.0	Serum erhitzt bis auf 67°	0.80	25.0
Serum erhitzt bis auf 64.2°	0.30	66.7	desgl. während 1 Min.	1.0	20.0
desgl. während 1 Min.	0.36	55.6	„ 2 „	<1.0	>20.0
„ 2 „	0.48	41.7	„ 3 „	<1.0	>20.0
„ 3 „	0.70	28.6	Serum erhitzt bis auf 66°	0.33	60.6
„ 4 „	0.80	25.0	desgl. während 1 Min.	0.50	40.0
„ 5 „	0.80	25.0	„ 2 „	0.80	25.0
„ 6 „	0.90	22.2	„ 3 „	1.0	20.0
„ 7 „	1.0	20.0	„ 4 „	<1.0	>20.0
„ 8 „	<1.0	>20.0	„ 5 „	<1.0	>20.0

Wie aus diesen Zahlen ersichtlich ist, kann man auf ganz dieselbe Weise die Inaktivierungsgeschwindigkeit der Normal- wie die der Immunsera untersuchen, und die Versuche zeigen, daß auch bei den Normalsera die Inaktivierung bei fortwährendem Erhitzen, wie bei den Typhusimmunagglutininen und den meisten Coli-Immunagglutininen, nach dem Typus β verläuft. Aus den Versuchen geht noch hervor, daß eine Differenz von 1° C genügt, um große, deutlich ablesbare Veränderungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit zustande zu bringen.

Die von mir untersuchten Normalagglutinine scheinen überhaupt relativ schnell schon bei niedriger Temperatur — ca. 60° C — inaktiviert zu werden, also etwas früher als die meisten von mir untersuchten Immunsera. Doch ist es ja nicht richtig, so ohne weiteres die Inaktivierungsgeschwindigkeit verschiedener Sera von verschiedenen Tieren zu vergleichen. Um die Thermostabilität der Immun- und Normalagglutinine überhaupt vergleichen zu können, müssen sie unter möglichst gleichen Bedingungen, d. h. in Sera von demselben Tiere, untersucht werden. Im folgenden werde ich die Resultate einiger so angestellter Versuche wiedergeben.

Sind Unterschiede in der Thermostabilität der Coli- und Typhusimmunsra aufzuweisen, und in dem Falle welche?

Um eine Antwort auf diese Frage zu erhalten, könnte man die Inaktivierungsweise und -geschwindigkeit an Sera einer sehr großen Anzahl von Tieren, die mit B. coli immunisiert worden sind, und ebenso einer Menge von Tieren, mit B. typhi immunisiert, untersuchen und die alsdann erhaltenen Mittelzahlen vergleichen. Dieses Verfahren erscheint mir jedoch

als ziemlich unsicher. Die individuellen Eigenschaften der Tiere sind, wie gezeigt, sehr verschieden und können nach verschiedener Richtung Einfluß auf die Art des in ihnen entstandenen Agglutinins ausüben. Wie die Sera können auch die Agglutinine verschiedener Individuen sehr verschieden sein. Aus dem Grunde habe ich für zweckmäßig gehalten, dem Inaktivierungsverlauf der Coli- und Typhus-Immunagglutinine in Serum von demselben Tiere zu folgen. Ich habe meine Versuchstiere gleichzeitig mit *B. coli* und *B. typhi* immunisiert, und glaube durch dieses Verfahren die zu vergleichenden Agglutinine so vergleichbar wie möglich erhalten zu haben. Wenn ich dann mit beiden Bakterien das agglutinierende Vermögen vor dem Erhitzen maß, und dann zugleich die relative Inaktivierungsgeschwindigkeit sowohl des einen wie des anderen auf derselben Temperatur feststellte, mußte ja das Resultat eine Antwort nach der einen oder der anderen Richtung auf die Frage nach dem Verhältnis der Thermostabilität beider Agglutinine sein. Die Wertbemessung der Agglutinationsstärke des *B. coli*-Serums wird zwar mit *B. coli* gemacht, und die des Typhusserums mit *B. typhi*, und die so erhaltenen absoluten Werte sind nicht miteinander vergleichbar, aber die Veränderungen, denen das eine unterworfen ist, sind mit den entsprechenden Veränderungen des anderen vergleichbar. Wenn z. B. das eine bei einer gewissen Temperatur 50 Prozent seines Vermögens verliert, während das andere unter denselben Bedingungen gar nicht abgeschwächt wird, so kann man daraus auf eine verschiedene Thermostabilität der beiden Agglutinine schließen. Hier wird man vielleicht einwenden, daß, wenn das Serum, wie es bisweilen geschah, um eine genügende Anzahl von Beobachtungen zu erhalten, mit physiologischer Kochsalzlösung 1:6 verdünnt wurde, während dasselbe Serum bei Untersuchung des anderen Agglutinins nur 1:3 verdünnt wurde, dieser Unterschied Einfluß auf die Resultate ausüben könnte. Die Bedeutung dieses Faktors muß ja allerdings beachtet werden (S. 302), aber ein Vergleich ist dennoch auch unter diesen Umständen möglich, da die Schwankungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit, die von so geringen Variationen der Verdünnungen herrühren, so klein sind, daß sie von keiner Bedeutung bei diesen Versuchen sind.

Meines Wissens sind vergleichende Untersuchungen über die Thermostabilität verschiedener Agglutinine mit Berücksichtigung des oben Erwähnten bisher noch nicht gemacht worden, weswegen ich auch den Angaben der Autoren über das Verhältnis verschiedener Bakterienagglutinine zu der Wärme keine bindende Beweiskraft zusprechen kann.

Verschiedene Bouillons gaben zwar, wie schon früher gesagt, etwas verschiedene Resultate für die Inaktivierungsgeschwindigkeit desselben Serums, doch sind die von mir beobachteten Unterschiede in der Regel nicht so be-

deutend, daß sie einen Vergleich in obengenannter Richtung unmöglich machen würden. Im Gegenteil haben meine Versuche mit Kulturen eines Bakterienstammes in sehr verschiedener Bouillon so übereinstimmende Ergebnisse aufgewiesen, daß ein Vergleich zwischen der Inaktivierungsgeschwindigkeit verschiedener Agglutinine möglich erscheint. Wenn z. B. ein Serum bei einer gewissen Temperatur innerhalb einer gewissen Zeit 50 Prozent seines agglutinierenden Vermögens verliert, wenn eine Bouillonkultur als Indikator verwendet wird, so erlangt man fast dasselbe Resultat auch bei Verwendung einer anderen Bouillonkultur derselben Bakterienart. So verhielten sich wenigstens die Bouillons, die ich untersucht habe. Nur einmal (im Herbst 1907) zeigte meine Typhuskultur eine auffallende, mir unerklärliche Veränderung, indem die Bouillons, die von da an mit diesen veränderten Bazillen infiziert wurden, ein von den früheren etwas abweichendes Resultat bei der Wertbemessung der Agglutininaktivierung desselben Serums ergaben. Mit diesen Bouillons gemessen zeigten sich die Serien reich an Hemmungszonen, und die Inaktivierung hatte, so viel man aus dem unregelmäßigen Resultate entnehmen konnte, einen bedeutend langsameren Verlauf. Mehrere Male versuchte ich mit frisch bereiteter Bouillon aus diesen Röhrchen eine ähnliche Kultur wie die früher verwendete darzustellen, aber immer ohne Erfolg. Alle die neu dargestellten Bouillonkulturen gaben so ziemlich dasselbe Resultat und wichen auf dieselbe Weise von meinen früheren Kulturen ab. Es ist mir nicht gelungen, dieses Phänomen zu erklären; eine Mischinfektion mit irgend einer anderen Bakterienart war es sicher nicht. Aus anderen Typhusröhrchen, an denen man diese eigentümliche Veränderung nicht bemerken konnte, war es mir immer — auch zu diesen Zeiten — leicht, eine Bouillon, die fast vollständig dasselbe Resultat gab wie meine sonst immer verwendeten Bouillons, zu erhalten. Zu den folgenden Versuchen habe ich immer eine gleichartige Bouillon verwendet.

Zu den oben erwähnten parallelen Untersuchungen über Typhus- und Coli-Immunagglutinin habe ich eine Ziege und 14 Kaninchen verwendet. Die Ziege und 7 von den Kaninchen waren gleichzeitig mit *B. coli* Stamm I und *B. typhi* Stamm I immunisiert worden, 1 Kaninchen wurde mit *B. coli* Stamm II und *B. typhi* Stamm II, 3 Kaninchen mit *B. coli* Stamm II und *B. typhi* Stamm I, und 3 mit *B. coli* Stamm III und *B. typhi* Stamm I immunisiert.

Folgendes Beispiel mag die Abnahme der Agglutinationskraft veranschaulichen.

Serum von Kaninchen Nr. 351, immunisiert mit *B. coli* Stamm I und *B. typhi* Stamm I; das Serum am 8. Tage nach der letzten Injektion entnommen.

	Die Coli-Agglutinationsstärke		Die Typhus-Agglutinationsstärke	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.0016	100.0	0.0065	100.0
Serum erhitzt bis auf 70°	0.0033	48.5	0.0065	100.0

(Fortsetzung.)

		Die Coli-Agglutinationsstärke		Die Typhus-Agglutinationsstärke	
		A	A'	A	A'
Serum erhitzt auf 70° während 5 Min.		0.0065	24.6		
"	10 "	0.0080	20.0	0.0075	86.7
"	15 "	0.011	14.5		
"	20 "	0.015	10.7	0.0075	86.7
"	25 "	0.018	8.9		
"	30 "	0.022	7.3	0.0070	92.9
"	35 "	0.027	5.9		
"	40 "	0.040	4.0	0.0080	81.3
"	45 "	0.060	2.7		
"	50 "	0.090	1.8	0.0080	81.3
"	55 "	<0.1	> 1.6		
"	60 "	<0.1	> 1.6	0.0085	76.5

Dieser Versuch zeigt deutlich, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit der Coli- und Typhusagglutine im Serum von demselben Tiere eine ganz verschiedene ist. Während das eine auf 70° erhitzt innerhalb 50 Minuten 98 Prozent seines Vermögens verlor, betrug die Abnahme des anderen bei derselben Temperatur und in derselben Zeit nur 19 Prozent. In diesem Serum war also das Typhusagglutinin mehr resistent und unempfindlich gegenüber der Erhitzungstemperatur. Dasselbe Verhalten zeigten die anderen 6 Kaninchen, deren Agglutinine durch Immunisierung mit B. coli Stamm I und B. typhi Stamm I entstanden waren. In einem von diesen Fällen war die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Coliagglutinins im Anfang größer als die des Typhusagglutinins, aber mit dem Fortschreiten des Erhitzens näherte sich die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Typhusagglutinins der des Coliagglutinins, und beim Erhitzen auf 75°C war die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Coliagglutinins wohl anfangs größer als die des Typhusagglutinins, aber schließlich war doch die Geschwindigkeit bei dem Typhusagglutinin bei dieser Temperatur die größere; diese beiden Agglutinine wurden nach dem Typus β inaktiviert, aber der Inaktivierungsverlauf des Typhusagglutinins näherte sich in diesem Falle mehr dem Typus α als der des Coliagglutinins. Wenn man die Hypothese von Partialagglutininen akzeptiert, könnte man dieses letzte Phänomen auf die Weise erklären, daß das Coliagglutinin hauptsächlich aus einer thermolabilen Gruppe bestand, und daneben aus einer kleineren Menge, die thermostabiler war als die Typhusagglutinine dieses Tieres.

Folgende Beispiele mögen noch angeführt werden.

Serum von Kaninchen Nr. 466, gleichzeitig mit B. coli Stamm I und B. typhi Stamm I immunisiert; das Serum am 8. Tage nach der

letzten Injektion entnommen; als Indikator Bouillonkulturen von B. coli Stamm I und B. typhi Stamm I.

		Die Agglutinationsstärke des			
		Coli-Agglutinins		Typhus-Agglutinins	
		A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum		0.0050	100.0	0.008	100.0
Serum erhitzt auf 69.1°		0.0065	76.9	0.009	88.9
„ „ auf 69.1° während 5 Min.		0.0090	55.6		
„ „ 10 „		0.010	50.0	0.009	88.9
„ „ 15 „		0.012	41.7		
„ „ 20 „		0.016	31.3	0.008	100.0
„ „ 25 „		0.022	22.7		
„ „ 30 „		0.028	17.1	0.01	80.0
„ „ 35 „		0.0			
„ „ 40 „		0.045	11.1	0.01	80.0
„ „ 45 „		0.055	9.1		
„ „ 50 „		0.070	7.1	0.011	72.7
„ „ 55 „		0.080	6.3		
„ „ 60 „		0.1	5.0	0.011	72.7
„ „ 65 „		<0.1	5.0		

Serum von Kaninchen Nr. 425, gleichzeitig immunisiert mit B. coli Stamm III und B. typhi Stamm I; das Serum 8 Tage nach der letzten Injektion entnommen; als Indikator Bouillonkulturen der betreffenden Bakterien; Verdünnung 1:3; Ablesung nach 12 Stunden.

		Die Agglutinationsstärke des			
		Coli-Agglutinins		Typhus-Agglutinins	
		A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum		0.0033	100.0	0.0065	100.0
Serum erhitzt bis auf 74.4° C.		0.029	11.4	0.0080	81.3
„ „ auf 74.4° während 1 Min.		0.040	8.3	0.0080	81.3
„ „ 2 „		0.050	6.7	0.012	54.1
„ „ 3 „		0.065	5.1	0.014	46.4
„ „ 4 „		0.080	4.1	0.018	36.1
„ „ 5 „		0.080	4.1	0.020	32.5
„ „ 6 „		0.1	3.3	0.020	32.5
„ „ 7 „		0.1	3.3	0.020	32.5
„ „ 8 „				0.020	32.5
„ „ 9 „				0.022	29.5
„ „ 10 „				0.022	29.5
„ „ 11 „				0.022	29.5
„ „ 12 „				0.022	29.5

Dasselbe Serum erhitzt auf 72·1°.

	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0·0033	100·0	0·0065	100·0
Serum erhitzt bis auf 72·1° C . . .	0·012	27·5	0·01	65·0
„ „ auf 72·1° während 2 Min.	0·022	15·0	0·01	65·0
„ „ 4 „	0·030	11·0	0·012	54·2
„ „ 6 „	0·036	9·2	0·016	40·6
„ „ 8 „	0·036	9·2	0·012	54·2
„ „ 10 „	0·045	7·3	0·012	54·2
„ „ 12 „	0·045	7·3	0·016	40·6
„ „ 14 „	0·050	6·6	0·012	54·2
„ „ 16 „	0·065	5·1	0·012	54·2
„ „ 18 „	0·065	5·1	0·012	54·2
„ „ 20 „	0·065	5·1	0·014	46·4
„ „ 22 „	0·080	4·1	0·014	46·4
„ „ 24 „	0·080	4·1	0·016	40·6
„ „ 26 „	0·080	4·1		
„ „ 28 „	> 0·1	3·3		

Serum von Kaninchen Nr. 440, gleichzeitig mit B. coli, Stamm III und B. typhi, Stamm I immunisiert; das Serum 8 Tage nach der letzten Injektion entnommen; als Indikator Bouillonkulturen von B. coli, Stamm III und B. typhi, Stamm I; Verdünnung 1:6.

	Die Agglutinationsstärke des			
	Coli-Agglutinins		Typhus-Agglutinins	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0·0025	100·0	0·0065	100·0
Serum erhitzt bis auf 74·6° C . . .	0·0060	41·7	0·0080	81·3
„ „ auf 74·6° während 5 Min.	0·020	12·5	0·016	40·6
„ „ 10 „	0·050	5·0	0·029	22·4
„ „ 15 „	0·065	3·8	0·050	13·0
„ „ 20 „	0·080	3·1	0·065	10·0
„ „ 25 „	0·1	2·5	0·070	9·3
„ „ 30 „	< 0·1	> 2·5	0·070	9·3

Serum von Kaninchen Nr. 389, gleichzeitig immunisiert mit B. coli, Stamm II und B. typhi, Stamm II; als Indikator Bouillonkulturen von B. coli, Stamm II und B. typhi, Stamm II; Ablesung nach 3 Stunden.

	Die Agglutinationsstärke des			
	Coli-Agglutinins		Typhus-Agglutinins	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.0020	100.0	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 76° C.	0.0025	80.0	0.0065	61.5
„ „ auf 76° während 5 Min.	0.0065	30.8	in 1 Min. 0.01	40.0
„ „ 10 „	0.01	20.0	2 „ 0.025	16.0
„ „ 15 „	0.016	12.5	3 „ 0.050	20.0
„ „ 20 „	0.05	4.0	4 „ <0.1	>4.0
„ „ 25 „	0.1	2.0	5 „ <0.1	>4.0
„ „ 30 „	<0.1	>2.0		

Serum von Kaninchen Nr. 410, gleichzeitig immunisiert mit *B. coli*, Stamm II und *B. typhi*, Stamm I; Indikator Bouillonkulturen von *B. coli*, Stamm II und *B. typhi*, Stamm I; Ablesung nach 3 Stunden.

	Die Agglutinationsstärke des			
	Coli-Agglutinins		Typhus-Agglutinins	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.025	100.0	0.020	100.0
Serum erhitzt bis auf 74.1° C.	0.033	75.8	0.033	60.6
„ „ auf 74.1° während 1 Min.	0.033	75.8	0.040	50.0
„ „ 2 „	0.036	69.4	0.036	55.6
„ „ 3 „	0.040	62.5	0.036	55.6
„ „ 4 „	0.040	62.5	0.036	55.6
„ „ 5 „	0.040	62.5	0.045	44.4
„ „ 6 „	0.036	69.4	0.045	44.4
„ „ 7 „	0.036	69.4	0.050	40.0
„ „ 8 „	0.045	55.6	0.050	40.0
„ „ 9 „	0.045	55.6	0.060	33.3
„ „ 10 „	0.045	55.6	0.065	30.8
„ „ 11 „	0.050	50.0	0.070	28.6

Unter den von den anderen Colistämmen bei Kaninchen gebildeten Agglutininen erwies sich das von Stamm III gebildete immer als thermolabiler als das Typhusagglutinin (S. 328 u. 329) und also als analog mit dem von *B. coli*, Stamm I herrührenden. Dagegen war das mit *B. coli*, Stamm II dargestellte Agglutinin viel resistenter als das Typhusagglutinin (S. 329 und 330). Kein Versuch hat für Typhus- und Coliagglutinine dieselbe Empfindlichkeit gegenüber der Wärme ergeben.

Aus diesen meinen Untersuchungen über eventuelle Unterschiede in der Thermostabilität der Coli- und Typhusagglutinine erhellt also, daß wenn sie gleichzeitig in demselben Organismus vorkommen, ihre Thermostabilität verschieden ist, in einigen Fällen ist der Unterschied sehr groß,

wie die Tabellen S. 326 und 327 zeigen, in anderen unbedeutend, wie z. B. aus den Tabellen S. 330 hervorgeht; doch kann man nicht die Regel aufstellen, daß das eine von diesen beiden Agglutininen immer stabiler als das andere wäre. Die Versuche zeigen ja in einigen Fällen größere Stabilität der Coliagglutinine als der Typhusagglutinine, in anderen im Gegenteil eine geringere, aber in allen den Fällen, wo die Immunisierung mit demselben Colistamme parallel mit demselben Typhusstamm geschah, haben die Versuche immer ein konstantes Verhältnis gezeigt. Inwieweit Abweichungen bei der Untersuchung einer größeren Anzahl Tiere vorkommen könnten, mag unentschieden bleiben. Auffallend ist jedoch, daß in den von mir untersuchten Sera keine Abweichung von jener Regel anzutreffen war. Noch soll erwähnt werden, daß die Agglutinine, welche von den nach ihrem kulturellen und morphologischen Verhalten ganz ähnlichen *B. coli*-Stämmen I und III stammten, gegenüber dem Typhusagglutinin labiler waren, wogegen das Agglutinin von *B. coli*, Stamm II, das z. B. Saccharose nicht zerlegen konnte und also zu einer ganz anderen Coligruppe gehörte, stabiler als das Typhusagglutinin war. Die Annahme liegt deshalb sehr nahe, daß das von einer gewissen Bakterienart in einem Tiere gebildete Agglutinin in seinem Verhältnis gegenüber dem in demselben Tiere von einer anderen Bakterienart gebildeten Agglutinin konstant ist, obschon die von derselben Bakterienart in verschiedenen Tieren derselben Species gebildeten Agglutinine große Unterschiede aufweisen können. Ich werde bei Gelegenheit die Untersuchungen nach dieser Richtung noch fortsetzen.

Sind die Normal- und Immunagglutinine gleich resistent gegenüber der Einwirkung der Wärme, oder können Unterschiede in ihrer Thermostabilität aufgewiesen werden?

Wie früher schon gesagt, haben u. a. Rodet¹, Lüdke², Landsteiner und Reich³ behauptet, daß die Normalagglutinine thermolabiler als die Immunagglutinine seien. Keiner von diesen Forschern hat jedoch meines Erachtens eine endgültige einwandfreie Antwort auf diese Frage gegeben. Keiner von ihnen hat die Labilität der beiden Agglutinine unter möglichst den gleichen Bedingungen, in demselben Tiere, verglichen. Um die zu vergleichenden Agglutinine gleich stark zu erhalten, haben Landsteiner und Reich³, welche Hämagglutinine untersuchten, das Immunserum in sehr hohem Grade verdünnt, 1:256 bis 1:1000. Dadurch haben sie, wie sie es auch selbst zu befürchten scheinen, in die Versuche eine Fehlerquelle eingeführt, (Eisenberg⁴, siehe S. 302).

¹ Rodet, a. a. O.

² Lüdke, a. a. O.

³ Landsteiner u. Reich, a. a. O.

⁴ Eisenberg, a. a. O.

Ich glaube deshalb, daß, obgleich Landsteiner und Reich bindende Beweise für die verschiedene Labilität der erwähnten Agglutinine geliefert zu haben meinen, die Frage noch als unentschieden betrachtet werden muß.

Die Resultate meiner Versuche zeigen fast mehr, daß die beiden Agglutinine nahezu dieselbe Empfindlichkeit gegenüber der Wärme besitzen. Als Beiträge zu ihrer Lösung mögen folgende Versuche angeführt sein.

Zuerst habe ich untersucht, inwieweit das Normalagglutinin von einem Tage zum anderen Veränderungen unterworfen ist. Ich entnahm von einigen normalen Ziegen, die ein ziemlich stark agglutinierendes Normalserum zeigten, an verschiedenen Tagen Serum. Das agglutinierende Vermögen dieser Sera wurde festgestellt, sowie auch die Geschwindigkeit, mit der sie bei einer gewissen Temperatur inaktiviert werden. Als Indikator wurde Bouillonkultur von *B. coli* verwendet; die Sera wurden in der Verdünnung 1:3 untersucht. Als Beispiel sei folgender Versuch wiedergegeben.

		Serum von Ziege 70, entnommen					
		15. XI.		19. XII.		21. XII.	
		A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum		0.2	100.0	0.2	100.0	0.21	100.0
Serum erhitzt bis auf 64.2° C		0.33	60.6	0.34	58.8	0.33	63.6
"	auf 64.2° während 1 Min.	0.36	55.6	0.40	50.0	0.45	46.7
"	2 "	0.45	44.4	0.50	40.0	0.55	38.2
"	3 "	0.70	23.6	0.65	30.8	0.68	30.9
"	4 "	0.80	25.0	0.65	30.8	0.75	23.0
"	5 "	0.90	22.2	0.80	25.0	0.90	23.3
"	6 "	1.0	20.0	1.0	20.0	1.0	21.0
"	7 "	<1.0	>20.0	<1.0	>20.0		
"	8 "	<1.0	>20.0	<1.0	>20.0		
"	9 "	<1.0	>20.0	<1.0	>20.0		
"	10 "	<1.0	>20.0	<1.0	>20.0		

Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, war die Thermostabilität des Normalagglutinins vom 15. XI. bis 19. XII. fast durchaus unverändert. 19. XII. fing eine Immunisierung mit *B. coli* an, und Serumproben wurden mit Zwischenräumen von einigen Tagen entnommen. Als Beispiel der Empfindlichkeit der allmählich entstandenen Immunagglutinine mag folgender Versuch angeführt sein. Die Temperatur war dieselbe wie in dem vorigen Versuche, und das Serum von demselben Tiere genommen, dessen Normalagglutinin, wie aus der oben angegebenen Tabelle hervor-

geht, schon bei 64.2°C relativ schnell inaktiviert wurde. Die Verdünnung war 1:3, dieselbe wie für das Normalagglutinin.

	Das Serum entnommen			
	24. XII.		30. XII.	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.02	100.0	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 64.2°C . . .	0.025	80.0	0.005	80.0
„ „ auf 64.2° während 1 Min.	0.03	66.7	0.0055	72.7
„ „ 2 „	0.04	50.0	0.0065	61.5
„ „ 3 „	0.055	36.4	0.0090	44.4
„ „ 4 „	0.070	28.6	0.011	36.4
„ „ 5 „	0.080	25.0	0.011	36.4
„ „ 6 „	0.1	20.0	0.018	22.2
„ „ 7 „	0.11	18.2	0.018	22.2
„ „ 8 „	0.13	15.4	0.020	20.0
„ „ 9 „	0.12	16.7	0.022	18.2
„ „ 10 „	0.14	14.3	0.022	18.2
„ „ 11 „	0.15	13.3	0.027	14.8
„ „ 12 „	0.16	12.5	0.035	11.4
„ „ 13 „			0.036	11.1

Das Agglutinin dieser Immunsera wird also mit derselben Geschwindigkeit wie die von demselben Tiere stammenden Normalagglutinine inaktiviert. Die Inaktivierung nimmt innerhalb derselben Zeit mit genau demselben Prozent ab, obwohl die agglutinierte Stärke des Serums während der Immunisierung von 1:5 bis 1:250 vergrößert wurde.

Bis jetzt habe ich noch nicht eine größere Anzahl Tiere nach dieser Richtung untersucht. Weitere Untersuchungen würden vielleicht zeigen, daß auch solche Tiere existieren, deren normal vorkommendes Agglutinin und durch Immunisierung entstandenes Agglutinin verschiedene Resistenz zeigen, aber bis jetzt habe ich das nicht beobachtet. Vielleicht sind die Immunagglutinine in den Sera relativ thermostabil, wo keine Normalagglutinine zu existieren scheinen. Einige von mir bereits gemachten Versuche scheinen nach dieser Richtung zu deuten.

Ohne zu glauben mit meinen wenigen Versuchen die Frage erschöpfend beantwortet zu haben, will ich doch auf die zwei von mir beobachteten Fakta — einerseits die äußerst großen individuellen Verschiedenheiten der Immunagglutinine verschiedener Tiere derselben Spezies, andererseits die Ähnlichkeit des Normal- und Immunagglutinins desselben Tieres — aufmerksam machen und vor einem kategorischen Schlußsatz in der von den oben genannten Forschern angegebenen Richtung warnen.

Ist die Thermostabilität der Immunagglutinine in den verschiedenen Phasen der Immunisierung Schwankungen unterworfen oder nicht?

Wie bekannt, entsteht im Organismus nach der Injektion einer Bakterienkultur ein entsprechendes Agglutinin, das durch fortgesetzte Injektionen bis zu einer gewissen Grenze gesteigert werden kann, die es dann trotz weiteren Immunisierens nicht mehr überschreitet. Das Agglutinin entsteht im Anfang langsam, aber nach einem gewissen Zeitraum nimmt das agglutinierende Vermögen schnell zu, um, nachdem die Akme erreicht worden ist, allmählich abzunehmen und zuletzt ganz zu verschwinden (Madsen und Salomonson¹, Madsen und Jörgensen²). Die Untersuchungen, die bisher gemacht worden sind, beschäftigen sich nur mit den quantitativen Veränderungen der Agglutininmenge während der Immunisierung. Die unten wiederzugebenden Untersuchungen betreffen die eventuellen Veränderungen der Qualität der Agglutinine bezüglich der Thermostabilität in den verschiedenen Phasen der Immunisierung. Ich habe untersuchen wollen, ob das Agglutinin trotz der Veränderungen seiner Stärke auf dieselbe Weise und mit derselben Geschwindigkeit sowohl in der Periode der Steigerung, wie in der der Akme und in der der Abnahme der Agglutinationsstärke inaktiviert wird.

Zu diesem Zwecke wurde Serum entnommen von 3 Ziegen, von denen 2 mit *B. coli* und 1 mit *B. typhi* mit Zwischenräumen von einigen Tagen immunisiert worden waren, die Agglutinationskraft der entnommenen Proben wurde festgestellt, und ebenso die Geschwindigkeit, mit der die Inaktivierung bei einer gewissen Temperatur verlief. Im übrigen wurden diese Sera in Analogie mit den früheren Versuchen auf möglichst gleiche Weise unter Verwendung gleichartiger Bouillon als Indikator untersucht. Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. coli* 23. IX. bis 3. X. 1907; die letzte Injektion 50 ccm; Proben wurden an den im folgenden angegebenen Tagen entnommen. Ihre Agglutinationsstärke geht aus den unten angeführten Zahlen hervor, die die kleinste Menge Serum, welche eine deutliche makroskopische Agglutination zeigte, angeben.

Tag, an dem die Probe entnommen wurde	Agglutinationsstärke	Tag, an dem die Probe entnommen wurde	Agglutinationsstärke
1. X.	0.002	16. XI.	0.0008
6. X.	0.0012	25. XI.	0.001
9. X.	0.0008	5. XII.	0.0011
18. X.	0.00065	12. XII.	0.0018
23. X.	0.0004	20. XII.	0.0033
7. XI.	0.00065		

¹ Madsen u. Salomonson, *Festkrift vid invielser af Danske Statens Serum-institut*. 1902.

² Madsen u. Jörgensen, a. a. O.

Um die Schwankungen der Agglutinationsstärke dieses Serums während der Immunisierung besser zu veranschaulichen, sei folgende Kurve wiedergegeben, in der die reziproken Zahlen, die die kleinsten agglutinierenden Serummengen angeben, in der Abscissa, und die Zeiten für die Entnahme des Serums als Ordinaten gezeichnet sind.

Fig. 1

	Das Serum verd. mit physiol. Kochsalzlös. 1 : 5, entnommen							
	1. X.		6. X.		9. X.		23. X.	
	A	A'	A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.01	100.0	0.008	100.0	0.0065	100.0	0.004	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°C	0.014	71.4	0.012	66.7	0.01	65.0	0.0065	61.5
desgl. während 10 Min.	0.019	52.6	0.016	50.0	0.014	46.4	0.01	40.0
„ 20 „	0.025	40.0	0.026	30.8	0.020	32.5	0.016	25.0
„ 30 „	0.036	27.8	0.039	20.5	0.026	25.0	0.020	20.0
„ 40 „	0.060	16.7	0.050	16.0	0.033	19.7	0.025	16.0
„ 50 „	0.075	13.3	0.055	14.5	0.045	14.4	0.033	12.1
„ 60 „	0.095	10.5	0.068	11.8	0.067	9.7	0.040	10.0
„ 70 „	<0.1	>10.0	0.080	10.0	0.090	7.2	0.055	7.3
„ 80 „					<0.1	>6.5		

	Das Serum verdünnt mit physiol. Kochsalzlösung 1:5, entnommen							
	25. XI.		5. XII.		12. XII.		20. XII.	
	A	A'	A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.008	100.0	0.01	100.0	0.016	100.0	0.012	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°C	0.011	72.7	0.016	62.5	0.025	64.0	0.022	54.5
desgl. während 10 Min.	0.020	40.0	0.025	40.0	0.033	48.5	0.025	48.0
„ 20 „	0.033	24.2	0.033	30.3	Hem-	—	0.040	30.0
„ 30 „	0.040	20.0	Hem-	—	mungs-	—	0.065	18.5
„ 40 „	0.040	20.0	mungs-	—	zonen	—	Hem-	—
„ 50 „	0.060	13.3	zonen	—	—	—	mungs-	—
							zonen	

Wie aus dieser Versuchsreihe zu ersehen ist, wurde die Inaktivierungsgeschwindigkeit dieses Ziegenserums nicht verändert während des Verlaufs der Immunisierung, obgleich das agglutinierende Vermögen vervielfältigt wurde. Dies bezieht sich aber nur auf die Periode der Immunisierung, innerhalb welcher die Agglutininmenge zunimmt. Als das Agglutinin im Begriffe war, aus dem Organismus zu verschwinden, entstanden bei dem Erhitzen des Serums Hemmungserscheinungen, die eine regelmäßige Ablesung unmöglich machten.

Da ich es für möglich hielt, daß diese Hemmungserscheinungen wenigstens zum Teil im Zusammenhang mit dem physikalischen Einfluß der Eiweißkoagulation standen, entschloß ich mich, die Sera, welche Hemmungszonen aufwiesen, mit Aqua dest. verdünnt zu untersuchen, da die Eiweißkoagulation durch Vermindern des Salzgehaltes zu vermeiden ist. Ich untersuchte deshalb u. a. das Serum vom 20. XII mit Aqua dest. 1:6 und 1:10 verdünnt. Das Resultat ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

	Serum, 20. XII. entnommen; Verdünnung mit Aqua dest.			
	1:6		1:10	
	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.012	100.0	0.016	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°C . . .	0.020	60.0	0.025	64.0
„ „ auf 70.6°C während 10 Min.	0.036	33.3	0.045	35.6
„ 20 „	0.048	25.0	0.060	26.7
„ 30 „	0.058	20.7	0.080	20.0
„ 40 „	0.066	18.2	0.090	17.8
„ 50 „	0.065	18.5	0.1	16.0
„ 60 „	0.080	15.0	<0.1	>16.0
„ 70 „	0.090	13.3	<0.1	>16.0
„ 80 „	<0.1	>12.0	<0.1	>16.0

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß die Inaktivierung des Serums vom 20. XII. mit fast derselben Geschwindigkeit verlief, mochte die mit Aqua dest. gemachte Verdünnung 1:6 oder 1:10 sein. Wenn man die so erhaltenen Zahlen mit den früheren über die Inaktivierungsgeschwindigkeit anderer von demselben Tiere stammender Sera angeführten vergleicht, so wird man finden, daß das Serum vom 20. XII., das auf diese Weise untersucht worden ist, mit derselben Geschwindigkeit inaktiviert werde, wie z. B. Serum vom 23. X., obgleich die Agglutinationsstärke beider Sera vollständig verschieden war. Man

könnte einwenden, daß diese Zahlen nicht vergleichbar seien, da ich das Serum vom 20. XII. mit Aqua dest. und das Serum vom 23. X. mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt untersucht hatte. Gegen die Richtigkeit dieser Bemerkung spricht aber das Resultat der im folgenden zu erörternden Versuche über den Einfluß des Salzgehaltes auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit. Diese Versuche zeigen nämlich, daß Variationen des Salzgehaltes zwischen den Grenzen, innerhalb deren ich mich in diesem Falle bewegte, keine merkbaren Veränderungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit bewirken. Aus diesen Gründen müssen die oben angeführten Zahlen für die in physiologischer Kochsalzlösung und Aqua dest. untersuchten Sera als vergleichbare betrachtet werden und zeigen diese also, daß das Serum vom 20. XII. und vom 23. XII. dieselbe Inaktivierungsgeschwindigkeit beim Erhitzen auf 70.6°C hat. Diese meine Auffassung wird noch durch die Tat-

Fig. 2

sache bestätigt, daß die von dem mit Aqua dest. verdünnten Serum vom 20. XII. erhaltenen Resultate mit denen von dem mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Serum vom 20. XII. übereinstimmen. Nur die Hemmungszonen der letzteren Probe fehlen in der ersteren.

Aus diesen Versuchen mit *B. coli* ist also zu ersehen, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit der aus demselben Tiere stammenden Agglutinine während der Immunisierungszeit sich nicht verändert. Das abweichende Verhalten, welches die Versuche mit Sera von der Periode der Abnahme des agglutinierenden Vermögens

aufzeigen, mag nur ein scheinbares durch Hemmungserscheinungen hervorgerufenes sein.

Noch einen Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme liefert folgender Versuch mit Typhusserum, der keine Hemmungserscheinungen aufwies und denselben Inaktivierungsverlauf während der ganzen Immunisierungszeit hatte. Die Kurve (Fig. 2) ist auf dieselbe Weise gemacht wie die des Coliagglutinins S. 335.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. typhi*, Stamm I, 8. X. mit 5 ccm, 11. X. mit 10 ccm, 14. X. mit 20 ccm, 17. X. mit 40 ccm; Serumproben wurden nach Verlauf von einigen Tagen entnommen und wie gewöhnlich auf agglutinierendes Vermögen und Inaktivierungsgeschwindigkeit untersucht.

Tag, an welchem die Probe entnommen wurde	Agglutinationsstärke
18. X.	0.004
23. X.	0.0025
26. X.	0.001
31. X.	0.0004
17. XI.	0.001
27. XI.	0.0016
4. XII.	0.0020

Um die Veränderungen der agglutinierenden Stärke des Serums zu zeigen, mag folgende Tabelle (S. 339), die in Analogie mit der auf S. 334 angeführten gemacht ist, angeführt werden.

Aus den angeführten Tabellen erhellt, daß, wenn auch die Agglutinationskraft des Typhusserums während des Verlaufes der Immunisierung verändert wurde, doch die Inaktivierungsgeschwindigkeit auch dieses Agglutinins unverändert war. Im Gegensatz zu dem ersten Serum, welches Coliagglutinin enthielt, wurde dieses Agglutinin inaktiviert, bevor sichtbare Koagulationstrübung entstand, und zeigte nicht einmal eine scheinbare Veränderung der Inaktivierungsgeschwindigkeit in den verschiedenen Perioden des Immunisierens.

Das dritte auf diese Weise untersuchte Tier, das mit *B. coli* immunisiert worden war, gab dasselbe Resultat wie diese mit Typhusimmunserum immunisierten.

Meine Versuche zeigen also, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Immunagglutinins während des Verlaufes der Immunisierung unverändert bleibt. Die beobachteten Abweichungen können als nur scheinbare erklärt werden.

Das Serum verdünnt 1:4, als Indikator Bouillonkultur von B. typhi, Stamm I; Proben entnommen:

	18. X.		23. X.		26. X.		31. X.		27. XI.		4. XII.	
	A	A'	A	A'	A	A'	A	A'	A	A'	A	A'
Unerhitztes Serum	0.011	100.0	0.003	100.0	0.003	100.0	0.0012	100.0	0.005	100.0	0.008	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° C	0.027	40.7	0.015	53.3	0.006	50.0	0.0021	57.1	0.009	55.6	0.020	40.0
„ „ auf 70.6° während 1 Min.	0.042	26.2	0.021	38.1	0.0085	35.3	0.0034	35.3	0.014	35.7	0.033	24.2
„ 2 „	0.055	20.0	0.024	33.3	0.0098	30.6	0.0044	27.3	0.018	27.8	0.040	20.0
„ 3 „	0.070	15.7	0.029	27.6	0.011	27.3	0.0055	21.8	0.022	22.7	0.055	14.5
„ 4 „	0.080	13.8	0.041	19.5	0.016	18.6	0.0065	18.5	0.025	20.0	0.060	13.3
„ 5 „	0.090	12.2	0.045	17.8	0.022	13.6	0.0075	16.0	0.033	15.2	0.065	12.3
„ 6 „	0.1	11.0	0.050	16.0	0.024	12.5	0.0085	14.1	0.037	13.5	0.070	11.4
„ 7 „	<0.1	>11.0	0.058	13.8	0.033	9.1	0.0085	14.1	0.042	11.9	0.080	10.0
„ 8 „	—	—	0.070	11.4	0.035	8.6	0.011	10.9	0.050	10.0	0.090	8.9
„ 9 „	—	—	0.085	9.4	0.038	7.9	0.014	8.6	0.066	7.6	<0.1	>8.0
„ 10 „	—	—	0.1	8.0	0.045	6.7	0.022	5.5	0.082	6.1	<0.1	>8.0
„ 11 „	—	—	—	—	—	—	0.027	4.4	0.085	5.3	—	—
„ 12 „	—	—	—	—	—	—	0.032	3.8	<0.1	>5.0	—	—
„ 13 „	—	—	—	—	—	—	0.040	3.0	<0.1	>5.0	—	—
„ 14 „	—	—	—	—	—	—	0.044	2.7	—	—	—	—
„ 15 „	—	—	—	—	—	—	0.048	2.5	—	—	—	—
„ 16 „	—	—	—	—	—	—	0.048	2.5	—	—	—	—
„ 17 „	—	—	—	—	—	—	0.055	2.2	—	—	—	—
„ 18 „	—	—	—	—	—	—	0.066	1.8	—	—	—	—
„ 19 „	—	—	—	—	—	—	0.065	1.8	—	—	—	—
„ 20 „	—	—	—	—	—	—	0.082	1.5	—	—	—	—
„ 21 „	—	—	—	—	—	—	0.1	1.2	—	—	—	—
„ 22 „	—	—	—	—	—	—	<0.1	>1.2	—	—	—	—
„ 23 „	—	—	—	—	—	—	<0.1	>1.2	—	—	—	—
„ 24 „	—	—	—	—	—	—	<0.1	>1.2	—	—	—	—

Sind die durch verschiedene aufeinanderfolgende Immunisierungen mit demselben Bakterienstamm entstandenen Agglutinine gleich stabil gegenüber dem Einfluß der Wärme, oder ist ein Unterschied der Stabilität vorhanden?

Da ich zu verschiedenen Versuchen Ziege mit *B. coli*, Stamm I und Ziege mit *B. typhi*, Stamm I mehrmals immunisiert, und die Geschwindigkeit der Inaktivierung während verschiedener Immunisierungen untersucht habe, glaube ich folgende Tabellen zur Beleuchtung jener Frage zusammenstellen zu können. Wie die Tabellen zeigen, sind die Agglutinine, die durch denselben Bakterienstamm in demselben Tierkörper mit Intervallen von vielen Monaten gebildet werden, fast gleich stabil. Die Versuche sind nicht zahlreich, aber der Umstand, daß ich trotz genauen Serienversuchen keine größeren Differenzen gefunden habe, scheint doch für ein gewissermaßen konstantes Verhältnis zwischen der Agglutinine von demselben Tiere und der Wärme zu sprechen.

Zu den verschiedenen Immunisierungen habe ich nicht immer dieselbe Kultur als Indikator verwendet, wohl aber Kulturen, die ungefähr dieselben relativen Werte für die durch den Einfluß der Temperatur entstandenen Veränderungen der Agglutininstärke ergeben haben.

Serum von Ziege I, im Dezember 1906 mit *B. coli*, Stamm I immunisiert; als Indikator Bouillonkultur von *B. coli*, Stamm I; Verdünnung 1:6.

Die Agglutinationsstärke:

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum	0.0012	100.0	Erhitzt bis auf 72.2°	0.0016	75.0
Serum erhitzt bis auf 70.0°	0.0016	75.0	desgl. während 10 Min.	—	—
desgl. während 15 Min.	0.0025	48.0	„ 20 „	0.0040	30.0
„ 30 „	0.0033	36.4	„ 30 „	0.0050	24.0
„ 45 „	0.0037	32.4	„ 40 „	0.0065	18.5
„ 60 „	0.0045	26.7	„ 50 „	0.0045	26.7
„ 75 „	0.0045	26.7	„ 60 „	0.01	12.0
„ 90 „	0.0057	21.1	„ 70 „	0.016	7.5
„ 105 „	0.0065	18.5	„ 80 „	0.022	5.5
„ 120 „	0.0065	18.5	„ 90 „	0.025	4.8
„ 135 „	0.0073	16.4	„ 100 „	0.022	5.5
„ 150 „	0.0093	12.9	„ 110 „	0.027	4.4
„ 165 „	0.012	10.0	„ 120 „	0.045	2.7
„ 180 „	0.016	7.5	„ 130 „	0.050	2.4
„ 195 „	0.018	6.7	„ 140 „	0.080	1.5
„ 210 „	0.020	6.0	„ 150 „	0.11	1.1
„ 225 „	0.020	6.0	„ 160 „	0.11	1.1
„ 240 „	0.033	3.6	„ 170 „	0.12	1.0
			„ 180 „	0.16	0.75

Serum von derselben Ziege, im April 1907 mit demselben Colistamm immunisiert; die Inaktivierung dieses Agglutinins siehe die Tabelle auf S. 309.

Analoges Ziegenserum vom Oktober bis November 1907, s. S. 335 u. 336.

Wenn man einen Blick auf die Thermostabilität dieser Sera wirft, so wird man finden, daß sie bei ca. 70° C mit fast derselben Geschwindigkeit inaktiviert werden. Da ich beim Anstellen jener Versuche es auf einen Vergleich nach dieser Richtung nicht abgesehen hatte, sind die Temperaturen nicht ganz dieselben. Doch geht auch so aus den Tabellen hervor, daß die Agglutinine ungefähr die gleiche Thermostabilität zeigen.

Wenn man ebenso die in den Tabellen S. 312 und 339 für die Inaktivierung des Typhusagglutinins angegebenen Zahlen vergleicht, so findet man auch hier ein ähnliches Verhalten. Das eine Serum stammt von einer im Frühling, das andere von einer im Herbst 1907 gemachten Immunisierung desselben Tieres mit demselben Typhusstamm. Diese Tabellen bestätigen die Richtigkeit der Annahme, daß die Temperaturempfindlichkeit der aus demselben Tiere stammenden Agglutinine obwohl nicht absolut, so doch ziemlich konstant ist.

Welchen Einfluß üben Alkali-Variationen auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins?

Wie meine Versuche gezeigt haben, ist die Inaktivierungsgeschwindigkeit der Agglutinine sehr verschieden bei verschiedenen Individuen derselben Spezies. Nicht nur die Geschwindigkeit ist eine verschiedene, auch der Typus, nach welchem die Inaktivierung verläuft, variiert. Andererseits haben die Versuche auch ein auffallend konstantes Verhältnis von Agglutininen desselben Tieres sowohl in den verschiedenen Perioden einer Immunisierung, als auch während neuer nach langen Intervallen mit derselben Bakterie unternommener Immunisierungen, ja sogar eine auffallende Ähnlichkeit der Normal- und Immunagglutinine von demselben Tiere gezeigt.

Als eine Folge dieser Beobachtungen tritt uns jetzt die Frage entgegen, ob die bei den verschiedenen Individuen entstandenen Agglutinine wirklich verschiedene Stoffe mit verschiedener Destruktionstemperatur sind, oder ob der ganze Unterschied der Thermostabilität von Eigentümlichkeiten des Mediums, worin sie untersucht worden sind, abhängig ist. Ohne Zweifel üben die Eigenschaften des Mediums Einfluß auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit der Agglutinine, aber wieweit sich dieser Einfluß erstreckt, ist noch nicht genau quantitativ untersucht worden.

Da eine nähere Untersuchung der Frage Interesse zu haben schien, entschloß ich mich zuerst zu untersuchen, welche Bedeutung Alkalivariationen nach dieser Richtung haben können. Daß Alkali Agglutinin zu inaktivieren vermag, ist von vielen Forschern, wie Dreyer und Jex-Blake¹, Eisenberg², Wassermann³ u. a. bewiesen worden. Ihre Versuche lassen jedoch die Frage unbeantwortet, wie großen Einfluß ein Zusatz von Alkali zum Serum hat, nach welchem Typus die Alkali-Inaktivierung verläuft, und wie empfindlich das Serum gegenüber einem Zusatz von Alkali bei verschiedener Temperatur ist.

Weiter: Ist die Einwirkung des Alkalis von der Agglutininmenge abhängig, so daß eine bestimmte Menge Alkali mit einer bestimmten Geschwindigkeit eine bestimmte Menge Agglutinin inaktiviert, oder verläuft die Inaktivierung eines Agglutinins mit derselben Geschwindigkeit, wenn nur der Alkaligehalt des Serums derselbe ist, ganz abgesehen von der Agglutininmenge des Serums?

Noch geben uns frühere Untersuchungen keine Antwort auf die Frage, inwieweit Variationen des Gehalts an Alkalien innerhalb der Grenzen, die in den Sera in der Natur vorkommen, eine Veränderung der Inaktivierungsgeschwindigkeit des Serums bewirken können.

Es sind diese Fragen der Gegenstand der nachstehend berichteten Untersuchungen.

Die Versuchsanordnung weicht darin von der in den oben referierten einfachen Temperaturversuchen ab, daß zu dem Serum, als es die erwünschte Temperatur erreicht hatte, bestimmte Mengen Alkali in Form von NaOH, oder $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$ usw. Normal-NaOH-Lösung in aqu. dest., auf dieselbe Temperatur erhitzt, zugefügt wurde. Nach bestimmten Zwischenräumen wurden dann in Analogie mit meinen früheren Versuchen gleiche Mengen Serum- und Alkalimischung entnommen und sogleich in ein bestimmtes Quantum auf ca. 6° C abgekühlter Kochsalzlösung, welche soviel Normal-HCl enthielt, daß die mit der Serummischung eingeführte NaOH eben neutralisiert wurde, überführt. Wenn z. B. zu 9^{cem} des verdünnten Serums 1^{cem} 0.1 Normal-NaOH zugesetzt wurde, so wurde von dieser Mischung, die also 0.1^{cem} Normal-NaOH auf 10^{cem} enthielt, 1^{cem} entnommen, und in eine Kochsalzlösung, die 0.1^{cem} Normal-HCl auf 9^{cem} enthielt, überführt. Dadurch wurde die Alkaliwirkung sofort aufgehoben, nachdem das Alkali in der gewünschten Zeit und bei der ge-

¹ Dreyer, a. a. O. ² Eisenberg, a. a. O. ³ Wassermann, a. a. O.

wünschten Temperatur gewirkt hatte. Durch Verbindung von NaOH und HCl entsteht ja NaCl. Um die Versuchsergebnisse vergleichen zu können, habe ich zu jedem Versuche die Salzlösung so gewählt, daß der endliche Salzgehalt derselbe in allen Serien wurde. Da immer dasselbe Serum und für die Ablesung derselbe Indikator verwendet wurden, so sind alle unten angeführten Zahlen so weit möglich unter sich nach jeder Richtung vergleichbar. Zu den Versuchen wurde Serum verwendet, das von einer mit B. coli, Stamm I immunisierten Ziege entnommen war, s. Tabelle S. 334. Ähnliche Untersuchungen, wenn auch nicht so vollständige, sind auch mit Coli-Immunserum von Kaninchen gemacht.

Ziegen Serum, verdünnt 1:4.

	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . . .	0.004	100.0			
Serum erhitzt auf 69° . .	0.0053	75.5			
desgl. während 20 Min.	0.0075	53.3			
„ 40 „	0.0072	55.6			
„ 60 „	0.0092	43.5			
„ 80 „	0.015	26.7			
„ 100 „	0.019	21.1			
„ 120 „	0.020	20.0			

14.4 ^{cem} Serum + 1.6 ^{cem} $\frac{1}{15}$ Normal-NaOH			14.4 ^{cem} Serum + 1.6 ^{cem} $\frac{1}{20}$ Normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 69°	0.0065	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 69°	0.0065	100.0
desgl. während 4 Min.	0.013	50.0	desgl. während 6 Min.	0.008	81.3
„ 8 „	0.018	36.1	„ 12 „	0.011	59.1
„ 12 „	0.024	27.1	„ 18 „	0.016	40.6
„ 16 „	0.036	18.1	„ 24 „	0.022	29.5
„ 20 „	0.042	15.5	„ 30 „	0.026	25.0
„ 24 „	0.050	13.0	„ 36 „	0.030	21.7
„ 28 „	0.060	10.8	„ 42 „	0.036	18.1
„ 32 „	0.070	9.3	„ 48 „	0.045	14.4
„ 36 „	0.080	8.1	„ 54 „	0.056	11.6
„ 40 „	0.1	6.5	„ 60 „	0.060	10.8
„ 44 „	<0.1	>6.5	„ 66 „	0.070	9.3
			„ 72 „	0.075	8.7
			„ 78 „	0.085	7.6
			„ 84 „	0.1	6.5
			„ 90 „	<0.1	<6.5

Ziegen Serum.

1:4 verdünnt 14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{10}$ normal-NaOH				
	A	A'		
Serum + Alkali erhitzt bis auf 69° C . . .	0.008	100.0		
„ „ „ auf 69° während 1 Min.	0.011	72.7		
„ „ „ 2 „	0.020	40.0		
„ „ „ 3 „	0.027	29.6		
„ „ „ 4 „	0.029	27.6		
„ „ „ 5 „	0.034	23.5		
„ „ „ 6 „	0.045	17.8		
„ „ „ 7 „	0.060	13.3		
„ „ „ 8 „	0.075	10.7		
„ „ „ 9 „	0.095	8.4		
„ „ „ 10 „	<0.1	<0.1		

1:3 verdünnt 14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{10}$ normal-NaOH			1:6 verdünnt 14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{10}$ normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 69°	0.0065	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 69°	0.016	100.0
desgl. während 1 Min.	0.011	59.1	desgl. während 1 Min.	0.028	57.1
„ 2 „	0.014	46.4	„ 2 „	0.037	43.2
„ 3 „	0.014	46.4	„ 3 „	0.038	27.6
„ 4 „	0.018	36.1	„ 4 „	0.080	20.0
„ 5 „	0.027	24.1	„ 5 „	0.1	16.0
„ 6 „	0.029	22.4	„ 6 „	<0.1	>16.0
„ 7 „	0.036	18.1	„ 7 „	<0.1	>16.0

Ziegen Serum, 1:4 verdünnt.

14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4}$ normal-NaOH			14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4.5}$ normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7°	0.0055	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7°	0.005	100.0
desgl. während 1 Min.	0.009	61.1	desgl. während 3 Min.	0.018	27.8
„ 2 „	0.018	30.6	„ 6 „	0.04	12.5
„ 3 „	0.025	22.0	„ 9 „	0.055	9.1
„ 4 „	0.040	13.8	„ 12 „	0.075	6.7
„ 5 „	0.055	10.0	„ 15 „	0.1	5.0
„ 6 „	0.080	6.9		<0.1	5.0
„ 7 „	0.090	6.1			
„ 8 „	0.1	5.5			
„ 9 „	<0.1	5.5			

(Fortsetzung.)

14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{5}$ Normal-NaOH			14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{5.5}$ Normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.005	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.0065	100.0
desgl. während 3 Min.	0.0072	69.4	desgl. während 7 Min.	0.017	38.2
„ 6 „	0.011	45.5	„ 14 „	0.022	29.5
„ 9 „	0.013	38.5	„ 21 „	0.030	21.7
„ 12 „	0.015	33.3	„ 28 „	0.039	16.7
„ 15 „	0.019	26.3	„ 35 „	0.055	11.8
„ 18 „	0.022	22.7	„ 42 „	0.060	10.8
„ 21 „	0.022	22.7	„ 49 „	0.075	8.7
„ 24 „	0.027	18.5	„ 56 „	0.090	7.2
„ 27 „	0.025	20.0	„ 63 „	0.1	6.5
„ 30 „	0.029	17.2	„ 70 „	<0.1	>6.5
„ 33 „	0.036	13.9			
„ 36 „	0.036	13.9			
„ 39 „	0.045	11.1			
„ 42 „	0.050	10.0			

14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{6}$ Normal NaOH			14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{7}$ Normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.004	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.0065	100.0
desgl. während 8 Min.	0.01	40.0	desgl. während 15 Min.	0.01	65.0
„ 16 „	0.014	28.6	„ 30 „	0.015	43.3
„ 24 „	0.016	25.0	„ 45 „	0.018	36.1
„ 32 „	0.022	18.2	„ 60 „	0.022	29.5
„ 40 „	0.025	16.0	„ 75 „	0.024	27.1
„ 48 „	0.025	16.0	„ 90 „	0.027	24.1
„ 56 „	0.029	13.8	„ 105 „	0.025	26.0
„ 64 „	0.033	12.1	„ 120 „	0.027	24.1
„ 72 „	0.036	11.1	„ 135 „	0.036	18.1
„ 80 „	0.045	8.9	„ 150 „	0.036	18.8
„ 88 „	0.045	8.9	„ 165 „	0.042	15.5
„ 96 „	0.055	7.3	„ 180 „	0.045	14.4
„ 104 „	0.065	6.2	„ 195 „	0.045	14.4
			„ 210 „	0.055	11.8

Dasselbe Serum, 2 Wochen später auf dieselbe Weise untersucht.

14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4.25}$ Normal-NaOH			14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4.25}$ Normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.8° . . .	0.0065	100.0	desgl. während 3 Min.	0.030	21.7
desgl. während 1 Min.	0.012	54.2	„ 4 „	0.045	14.4
„ 2 „	0.018	36.1	„ 5 „	0.070	9.3
			„ 6 „	0.1	6.5

(Fortsetzung.)

14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4.25}$ Normal-NaOH			14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4.50}$ Normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.006	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.006	100.0
desgl. während 1 Min.	0.01	60.0	desgl. während 2 Min.	0.013	46.2
„ 2 „	0.018	33.3	„ 4 „	0.022	27.3
„ 3 „	0.025	24.0	„ 6 „	0.036	16.7
„ 4 „	0.033	18.2	„ 8 „	0.045	13.3
„ 5 „	0.040	15.0	„ 12 „	0.058	10.3
„ 6 „	0.050	12.0	„ 14 „	0.072	8.3
„ 7 „	0.060	10.0	„ 16 „	0.090	6.7
„ 8 „	0.065	9.2	„ 18 „	0.1	6.0
„ 9 „	0.070	8.6			
„ 10 „	0.075	8.0			
„ 11 „	0.090	6.7			
„ 12 „	0.1	6.0			

14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{4.75}$ Normal-NaOH			14.4 ccm Serum + 1.6 ccm $\frac{1}{5}$ Normal-NaOH		
	A	A'		A	A'
Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.006	100.0	Serum + Alkali erhitzt bis auf 58.7° . . .	0.0065	100.0
desgl. während 3 Min.	0.012	50.0	desgl. während 3 Min.	0.013	50.0
„ 6 „	0.021	28.6	„ 6 „	0.022	29.5
„ 9 „	0.027	22.2	„ 9 „	0.034	19.1
„ 12 „	0.035	17.1	„ 12 „	0.038	17.1
„ 15 „	0.042	14.3	„ 15 „	0.046	14.1
„ 18 „	0.055	10.9	„ 18 „	0.056	11.6
„ 21 „	0.065	9.2	„ 21 „	0.066	9.8
„ 24 „	0.070	8.6	„ 24 „	0.080	8.1
„ 27 „	0.080	7.5	„ 27 „	0.085	7.6
„ 30 „	0.090	6.7	„ 30 „	0.090	7.2
„ 33 „	0.1	6.0	„ 33 „	0.1	6.5

Bei näherer Prüfung dieser Zahlen zeigt sich, daß die von Alkali beeinflusste Agglutinin-Inaktivierung bedeutend schneller bei 69° als bei 58.7° verlief. Der Einfluß, den $\frac{1}{20}$ Normal-NaOH bei 69° ausübte, wurde von $\frac{1}{5.5}$ Normal-NaOH schon bei 58.7° bewirkt. Mit anderen Worten, je höher die Temperatur, desto empfindlicher wird das Agglutinin.

Das Agglutinin des 1:4 verdünnten Serums wurde ohne Zusatz von Alkali bei 69° so langsam inaktiviert, daß es zweier Stunden bedurfte,

um zu 20 Prozent seines ursprünglichen Vermögens vermindert zu werden; wenn zu 9^{cem} auf dieselbe Weise (1 + 3) verdünnten Serums 1^{cem} $\frac{1}{10}$ Normal-NaOH zugesetzt wurde, verlief die Inaktivierung des Serums so schnell, daß das agglutinierende Vermögen innerhalb 10 Minuten bis unter 6.5 Prozent gesunken war. Wenn man noch die S. 343 und 344 angeführten Zahlen vergleicht, sieht man, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit bei Zufügen von $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$ und $\frac{1}{15}$ Normal-NaOH-Lösung große Verschiedenheiten zeigt. Wenn man von dem im Serum normal vorkommenden Alkali absieht, könnte man sagen, daß in diesen Versuchen die Serum- und Alkalimischung gleich $\frac{1}{100}$ bis $\frac{1}{200}$ Normal-NaOH-Lösung war. $\frac{1}{100}$ bis $\frac{1}{200}$ Normal-NaOH-Lösung enthält 0.581 bis 0.290 auf 1000. Also zeigen die Versuche, daß das Agglutinin so empfindlich gegenüber dem Zusatz von kleinen Mengen Alkali ist, daß man wohl annehmen könnte, daß die im Serum normaliter vorkommenden Alkalivariationen die verschiedene Inaktivierungsgeschwindigkeit der Agglutinine verschiedener Sera hervorrufen könnten. Daß Serumalkali in der Tat diesen Einfluß hat, ist aber hierdurch nicht bewiesen. Eine solche Wirkung scheint im Gegenteil höchst unwahrscheinlich zu sein, wie aus folgendem hervorgeht.

Die Versuche S. 344 zeigen, daß derselbe Alkaligehalt des Serums auf verschiedene Mengen Agglutinin verschiedenen Einfluß hat. Ist das Serum 1 + 5 verdünnt, so wirkt $\frac{1}{10}$ NaOH viel kräftiger, als wenn die Verdünnung 1 + 2 oder 1 + 3 ist; ebenso wirkt es in einem 1 + 3 verdünnten Serum kräftiger, als in einem 1 + 2 verdünnten. Es scheint also nicht der Alkaligehalt der Flüssigkeit zu sein, der die Inaktivierungsgeschwindigkeit entscheidet. In dieser Richtung sprechen ja auch meine Versuche über die Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung, die nur eine kleine Veränderung der Inaktivierungsgeschwindigkeit durch Verdünnung des Serums zeigen. Der Alkaligehalt der Flüssigkeit wird ja z. B. in den S. 298 u. 299 angeführten Versuchen, in welchen das Serum 1:20 und 1:40 verdünnt wurde, ebenso 1:20 und 1:40 verdünnt; dennoch zeigten die Zahlen hier nicht annähernd so große Unterschiede der Inaktivierungsgeschwindigkeit, wie die, welche man an Sera verschiedener Tiere derselben Tierspezies, wo die Alkalimenge nicht so viel wechselt, beobachten kann. Siehe z. B. S. 314.

Noch eine andere Möglichkeit, die Verschiedenheiten der verschiedenen Sera zu erklären, ist vorhanden, die nämlich, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit von der Relation zwischen Alkali und Agglutinin abhängig wäre.

Durch eine Verdünnung des Serums mit physiologischer Kochsalzlösung wird die Relation zwischen Alkali und Agglutinin nicht verändert.

Die früher erwähnten Versuche über den Einfluß der Verdünnung stimmen damit gut überein.

Sind wir also zu der Annahme berechtigt, daß die verschiedene Inaktivierungsgeschwindigkeit verschiedener Sera auf das Verhältnis des Alkalis zum Agglutinin zurückzuführen sind? Meine Versuche über die Inaktivierungsgeschwindigkeit der im Verlaufe der Immunisierung veränderten Agglutininmengen sprechen dagegen. Wenn nämlich dieselbe wirklich in Sera von verschiedenen Tieren von der Relation zwischen freiem Alkali und Agglutinin abhängig wäre, so würde daraus folgen, da die Agglutininmenge des Serums während des Verlaufes der Immunisierung vervielfältigt wird, während dies nicht der Fall mit dem Alkali sein kann, daß ein Tiereserum, das viel Agglutinin enthält, langsamer inaktiviert werden müßte, als ein solches mit geringer Agglutininmenge. Da dies aber auch nicht der Fall zu sein scheint, so kann man kaum dem Alkali, weder der Relation zwischen Alkali und Agglutinin, noch dem Alkaligehalt als solchem, einen Hauptanteil an dem Zustandekommen der verschiedenen Inaktivierungsgeschwindigkeit zuerkennen.

Der Inaktivierungstypus bei Einwirkung von Alkali scheint der Typus β zu sein, siehe die Tabellen S. 344, 345 und 346.

Welche Einwirkung haben Variationen des Salzgehaltes auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins?

Da möglicherweise die Salzmenge eines Serums Veränderungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit bewirken könnte, und da ich hier den Grund der Verschiedenheit der Inaktivierungsgeschwindigkeit der Agglutinine von verschiedenen Tieren zu finden dachte, machte ich einige Versuche, um zu sehen, wie große Schwankungen des Salzgehaltes genügten, um ablesbare Veränderungen der Inaktivierung herbeizurufen.

Ich untersuchte dasselbe Serum, vor dem Erhitzen mit verschiedenen Salzengen versetzt, bei derselben Temperatur und mit derselben Bouillon als Indikator. Um die Resultate vergleichen zu können, muß man immer, weil das Agglutinationsphänomen in verschiedenen Salzlösungen mit verschiedener Geschwindigkeit auftritt (s. S. 293 bis 294), nach dem Erhitzen durch Zusatz von Salz in genügenden Mengen zu allen Proben, den verwendeten Salzgehalt in allen Versuchen auf dieselbe Konzentration zurückführen. Dies tut man am besten so, daß man, wie bei den Alkaliuntersuchungen, bei jedem Versuche eine Reihe Gläschen mit entsprechenden Salzlösungen im voraus fertig gemessen hat, in die man die Serumproben

aus dem erhitzten, mit solchen verschiedenen Salzmengen versetzten Serum zufügen kann, daß jede Serumprobe jetzt die gleiche Salzmenge im Kubikzentimeter enthält. Dadurch wird man miteinander vergleichbare Zahlen bekommen.

Versuche werden sowohl mit *B. typhi*, wie mit *B. coli* gemacht.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. coli*; das Serum verdünnt mit:

Physiologischer Kochsalzlösung 1 : 6.

	A ¹	A'
Unerhitztes Serum	0.0065	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°	0.011	59.1
desgl. während 10 Min.	0.014	46.4
„ 20 „	0.020	32.5
„ 30 „	0.026	25.0
„ 40 „	0.033	19.7
„ 50 „	0.045	14.4
„ 60 „	0.067	9.7
„ 70 „	0.090	7.2
„ 80 „	< 0.1	6.5

Aqua dest. 1 : 6.

	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum	0.0065	100.0	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .	0.01	65.0	0.007	57.1
desgl. während 10 Minuten	0.015	43.8	0.011	36.4
„ 20 „	0.027	24.1	0.014	28.6
„ 30 „	0.033	19.7	0.020	20.0
„ 40 „	0.065	10.1	0.022	18.2
„ 50 „	0.048	13.5	0.029	13.8
„ 60 „	0.070	9.3	0.036	11.1
„ 70 „	0.080	8.1	0.045	8.9

Normal-NaCl-Lösung 1 : 6.

Unerhitztes Serum	0.008	100.0	0.0065	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .	0.01	80.0	0.008	81.2
desgl. während 10 Minuten	0.014	57.1	0.011	59.1
„ 20 „	0.020	40.0	0.014	46.4
„ 30 „	0.025	32.0	0.020	32.5
„ 40 „	0.033	24.2	0.022	29.5
„ 50 „	0.065	12.3	0.024	27.1
„ 60 „	0.065	12.3	0.029	22.4
„ 70 „	0.065	12.3	0.040	16.3

¹ Unter A und A' sind die Zahlen angeführt, welche ich beim Ablesen nach 2 Stunden beobachtete, unter B und B' die nach 3 Stunden.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. typhi*, Stamm I; das Serum verdünnt mit:

Physiologischer Kochsalzlösung 1 : 4.

	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum	0.005	100.0	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°. . .	0.018	27.8	0.015	26.7
desgl. während 1 Min.	0.020	25.0	0.016	25.0
„ 2 „	0.028	17.9	0.023	17.4
„ 3 „	0.036	13.9	0.030	13.3
„ 4 „	0.045	11.1	0.038	10.5
„ 5 „	0.052	9.6	0.045	8.9
„ 6 „	0.060	8.3	0.055	7.3
„ 7 „	0.070	7.1	0.070	5.7
„ 8 „	0.090	5.6	0.080	5.0
„ 9 „	0.090	5.6	0.090	4.4
„ 10 „	0.1	5.0	0.1	4.0

Aqua dest. 1 : 4.

Unerhitztes Serum	0.008	100.0	0.005	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°. . .	0.014	57.1	0.011	45.5
desgl. während 1 Min.	0.020	40.0	0.018	27.8
„ 2 „	0.025	32.0	0.020	25.0
„ 3 „	0.040	20.0	0.033	15.2
„ 4 „	0.050	16.0	0.036	13.9
„ 5 „	0.045	17.8	0.042	11.9
„ 6 „	0.065	12.3	0.065	7.7
„ 7 „	0.065	12.3	0.050	10.0
„ 8 „	0.080	10.0	0.065	7.7
„ 9 „	0.1	8.0	0.080	6.3
„ 10 „	<0.1	> 8.0	0.1	5.0

Normal-NaCl-Lösung 1 : 4.

Unerhitztes Serum	0.0065	100.0	0.005	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°. . .	0.011	59.1	0.011	45.5
desgl. während 1 Min.	0.014	46.4	0.014	35.7
„ 2 „	0.027	24.1	0.026	19.2
„ 3 „	0.040	16.3	0.033	15.2
„ 4 „	0.065	10.0	0.050	10.0
„ 5 „	0.065	10.0	0.055	9.1
„ 6 „	0.080	8.1	0.070	7.1
„ 7 „	0.1	6.5	0.090	5.6
„ 8 „	<0.1	>6.5	0.1	5.0
„ 9 „	<0.1	>6.5	0.1	5.0
„ 10 „	<0.1	>6.5	<0.1	> 5.0

ⁱ Unter A und A' sind die Zahlen angegeben, welche eine Ablesung des Versuches nach 2 Stunden ergab, unter B und B' die Zahlen bei Ablesung nach 3 Std.

	2 Normal-NaCl-Lösung 1:4				3 Normal-NaCl-Lösung 1:4			
	A	A'	B	B'	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum . . .	0.0065	100.0	0.005	100.0	—	—	0.0055	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°	0.0090	72.2	0.008	62.5	—	—	0.070	78.6
desgl. während 1 Min.	0.012	54.2	0.01	50.0	—	—	0.080	68.8
„ 2 „	0.020	32.5	0.016	31.3	—	—	0.01	55.0
„ 3 „	0.025	26.0	0.020	25.0	—	—	0.012	45.8
„ 4 „	0.025	26.0	0.020	25.0	—	—	0.014	39.3
„ 5 „	0.033	19.7	0.027	18.5	—	—	0.016	34.4
„ 6 „	0.036	18.1	0.033	15.2	—	—	0.018	30.6
„ 7 „	0.040	16.3	0.036	13.9	—	—	0.018	30.6
„ 8 „	0.050	13.0	0.040	12.5	—	—	0.020	27.5
„ 9 „	0.065	10.0	0.050	10.0	—	—	0.018	30.6
„ 10 „	0.080	8.1	0.065	7.7	—	—	0.025	22.0

Wie aus diesen Versuchen zu ersehen ist, waren die Differenzen der Inaktivierungsgeschwindigkeit trotz sehr bedeutender Variationen des Salzgehaltes relativ gering; jedenfalls war der Unterschied nicht so groß wie in den Versuchen über die Differenzen der Inaktivierungsgeschwindigkeit von Agglutininen verschiedener Tiere derselben Tierspezies (S. 314). Weder Typhus- noch Coliagglutinine wurden in höherem Grade von den von mir untersuchten Salzvariationen beeinflusst. Es muß schon ein Salzgehalt von 2 bis 3 Normallösungen sein, um eine deutliche Abnahme der Inaktivierungsgeschwindigkeit zu bewirken.

Aus diesen Gründen scheint man zu der Annahme berechtigt zu sein, daß es auch nicht die Variationen des Salzgehaltes sind, die den großen Unterschied der Thermostabilität der Agglutinine verschiedener Sera hervorrufen.

Doch muß hinzugefügt werden, daß konzentrierte Salzlösungen die Inaktivierungsgeschwindigkeit herabzusetzen scheinen.

Kann die Menge und die Qualität des Eiweißes Einfluß auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit ausüben?

Meine Versuche haben gezeigt, daß weder die Alkali- noch die Salzvariationen, die in den Sera vorkommen können, die großen Unterschiede der Inaktivierungsgeschwindigkeit und der Thermostabilität, die ich an Sera von verschiedenen Tieren gefunden habe, bewirken.

In dem Folgenden will ich über einige Versuche berichten, die ich über die Bedeutung der Variationen der übrigen Bestandteile des Serums, hauptsächlich des Eiweißes, in dieser Beziehung angestellt habe.

Ich untersuchte dasselbe Serum, das ich zu dem oben erörterten Versuche über den Salzgehalt verwendet hatte, mit einer 10 prozent. Verdünnung von verschiedenen Tiersera in physiologischer Kochsalzlösung 1:4, anstatt nur physiologischer Kochsalzlösung 1:4, verdünnt. Als Verdünnungsmedien sind Sera von Meerschweinchen, Ziege, Kaninchen, Pferde, Taube, 10 prozent. Peptonsalzlösung und Hühnereiweiß verwendet. Außerdem habe ich noch den Einfluß von Variationen des Harnstoffes untersucht; doch habe ich nur solche Variationen des Harnstoffes benutzt, die in den Sera normaliter vorkommen können. Die Versuchsanordnung war die gewöhnliche.

Serum von Ziege, immunisiert mit *B. typhi*. Die Inaktivierung des mit physiologischer Kochsalzlösung 1:4 verdünnten Serums ist in den Tabellen S. 350 angegeben.

Dasselbe Serum, verdünnt mit:
10 Prozent normalem Ziegenserum 1:4.

	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum	0.005	100.0	0.005	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .	0.014	35.7	0.014	35.7
desgl. während 1 Min.	0.020	25.0	0.018	27.8
„ 2 „	0.025	20.0	0.020	25.0
„ 3 „	0.033	15.2	0.025	20.0
„ 4 „	0.033	15.2	0.025	20.0
„ 5 „	0.040	12.5	0.033	15.2
„ 6 „	0.050	10.0	0.040	12.5
„ 7 „	0.060	8.3	0.055	9.1
„ 8 „	0.070	7.1	0.070	7.1
„ 9 „	0.080	6.3	0.080	6.3
„ 10 „	<0.1	>5.0	0.1	5.0

10 Prozent normalem Pferdeserum 1:4.

Unerhitztes Serum	0.0045	100.0	0.0033	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .	0.012	37.5	0.008	41.3
desgl. während 1 Min.	0.014	32.1	0.012	27.5
„ 2 „	0.017	26.5	0.014	23.6
„ 3 „	0.020	22.5	0.014	23.6
„ 4 „	0.022	20.5	0.016	20.6
„ 5 „	0.033	13.6	0.025	13.2
„ 6 „	0.040	11.3	0.033	10.0
„ 7 „	0.050	9.0	0.040	8.3
„ 8 „	0.065	6.9	0.045	7.3
„ 9 „	0.070	6.4	0.050	6.6
„ 10 „	0.080	5.6	0.055	6.0

¹ A und A', B und B' haben dieselbe Bedeutung wie in dem vorigen Versuche.

10 Prozent normalem Meerschweinchenserum 1:4.

			A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum			—	—	0.005	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .			—	—	0.014	35.7
desgl. während 1 Min.			—	—	0.027	18.5
„ 2 „			—	—	0.033	15.2
„ 3 „			—	—	0.033	15.2
„ 4 „			—	—	0.045	11.1
„ 5 „			—	—	0.045	11.1
„ 6 „			—	—	0.045	11.1
„ 7 „			—	—	0.055	9.1
„ 8 „			—	—	0.060	8.3
„ 9 „			—	—	0.065	7.7
„ 10 „			—	—	0.065	7.7
„ 11 „			—	—	0.075	6.7
„ 12 „			—	—	0.085	5.9
„ 13 „			—	—	0.090	5.6

10 Prozent normalem Kaninchenserum 1:4.

Unerhitztes Serum			0.005	100.0	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .			0.016	31.3	0.012	33.3
desgl. während 1 Min.			0.020	25.0	0.016	25.0
„ 2 „			0.033	15.2	0.022	18.2
„ 3 „			0.033	15.2	0.022	18.2
„ 4 „			0.040	12.5	0.029	13.8
„ 5 „			0.040	12.5	0.033	12.1
„ 6 „			0.050	10.0	0.040	10.0
„ 7 „			0.065	7.7	0.050	8.0
„ 8 „			0.080	6.3	0.065	6.2
„ 9 „			0.1	5.0	0.070	5.7
„ 10 „			<0.1	>5.0	0.090	4.4

			10 Prozent Taubenserum 1:4				10 Prozent Hühnereiweiß 1:4			
			A	A'	B	B'	A	A'	B	B'
Unerhitztes Serum			—	—	0.005	100.0	—	—	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6° . . .			—	—	0.016	31.3	—	—	0.012	33.3
desgl. während 1 Min.			—	—	0.022	22.7	—	—	0.018	22.2
„ 2 „			—	—	0.033	15.2	—	—	0.025	16.0
„ 3 „			—	—	0.040	12.5	—	—	0.025	16.0
„ 4 „			—	—	0.055	9.1	—	—	0.040	10.0
„ 5 „			—	—	0.060	8.3	—	—	0.050	8.0
„ 6 „			—	—	0.075	6.7	—	—	0.060	6.7
„ 7 „			—	—	0.080	6.3	—	—	0.080	5.0
„ 8 „			—	—	0.090	5.6	—	—	0.1	4.0
„ 9 „			—	—	0.090	5.6	—	—	<0.1	>4.0
„ 10 „			—	—	<0.1	>5.0	—	—	<0.1	>4.0

Wenn man diese Versuche vergleicht, findet man, daß keine großen Unterschiede der Thermostabilität des Agglutinins in einem Serum sich gezeigt haben, trotzdem so verschiedene Verdünnungsflüssigkeiten verwendet wurden, wie es Sera von verschiedenen Tierarten sind. Die Inaktivierung verläuft mit fast derselben Geschwindigkeit. Diese Versuche scheinen also darauf hinzuweisen, daß solche Variationen des Serums, die in Sera von verschiedenen Tieren normaliter vorkommen, d. i. Variationen der Salze, der Alkalien, des Eiweißes, der Harnstoffe, die Inaktivierungsgeschwindigkeit nicht bestimmen.

Ohne mit Bestimmtheit behaupten zu wollen, daß die Agglutinine selbst verschiedene Thermostabilität bei verschiedenen Tieren und Tierarten haben, oder daß das agglutinierende Vermögen in verschiedenen Tieren an verschiedene Globulinfraktionen gebunden sei, will ich doch hervorheben, wie geringe Bedeutung in dieser Beziehung die obengenannten anderen Eigenschaften des Serums haben.

**Ist die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins
Schwankungen unterworfen, nachdem das Serum aus dem
Organismus entnommen ist?**

Wie andere Forscher habe auch ich gefunden, daß ein Serum, das längere Zeit gestanden hat, beim Erhitzen sehr oft Hemmungserscheinungen aufweist, auf dieselbe Weise, wie ein in der letzten Periode der Immunisierung entnommenes Serum (s. S. 336). Wie es der Fall war bei den frischen Sera, habe ich nur an solchen Sera Hemmungen gefunden, bei denen die Inaktivierung so hohe Temperatur erforderte, daß sichtbare Koagulation eintrat. Bei Sera, die bei so niedriger Temperatur inaktiviert wurden, daß Koagulation nicht sichtbar eintrat, habe ich diese Hemmungsphänomene nicht gesehen.

Wie bei frischen, so bewirkt auch bei den alten Sera, welche Hemmungen zeigen, das Verdünnen mit physiologischer Kochsalzlösung eine Abnahme und zuletzt ein Verschwinden der Hemmungserscheinungen. Doch scheint es, als ob eine Verdünnung, die genügt, um die Hemmungserscheinungen in den frischen Sera aufzuheben, nicht immer ausreicht, um das Entstehen derselben auch in alten Sera zu verhindern. Wahrscheinlich wäre dieses Resultat erlangt, wenn ich die letztgenannten Sera genug damit verdünnt hätte, aber da wäre es mir unmöglich geworden, für längere Zeit die Inaktivierung des Serums zu verfolgen. Anstatt dessen versuchte ich die Hemmungserscheinungen durch Verdünnung mit Aqua dest. auch in alten Sera aufzuheben, was mir auch bisher immer gelang, ohne daß ich die Verdünnung zu groß zu machen brauchte.

Serum von Ziege, immunisiert mit B. coli Stamm I.

Serum 1:4 verdünnt, unmittelbar nach dem Entnehmen untersucht

	A	A'
Unerhitztes Serum	0.004	100.0
Serum erhitzt bis auf 70.6°.	0.005	80.0
desgl. auf 70.6° während 6 Min.	0.0060	66.7
„ 12 „	0.0065	61.5
„ 18 „	0.0065	61.5
„ 24 „	0.0075	53.3
„ 30 „	0.0082	48.8
„ 36 „	0.0095	42.1
„ 42 „	0.011	36.4
„ 48 „	0.013	30.8

Dasselbe Serum, 2 Monate später untersucht			Dasselbe 2 Monate alte Serum, mit Aqua dest. 1:4 verdünnt, der Versuch angestellt am selben Tage wie der letztgenannte		
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.004	100.0	Unerhitztes Serum . .	0.004	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.005	80.0	Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.005	80.0
desgl. während 10 Min.	0.0075	53.3	desgl. während 10 Min.	0.0065	61.5
„ 20 „	0.010	40.0	„ 20 „	0.0080	50.0
„ 30 „	Hem-	—	„ 30 „	0.01	40.0
„ 40 „	mungs-	—	„ 40 „	0.012	33.3
„ 50 „	zonen	—	„ 50 „	0.015	26.7

Serum von Ziege, immunisiert mit B. typhi; das Serum 1:4 verdünnt, unmittelbar nach dem Entnehmen und dann nach verschiedenen Zeiträumen untersucht; Hemmungszonen zeigten sich nie, die Inaktivierung geschah so schnell, daß sichtbare Koagulation nicht auftrat.

Das Serum am Tage d. Entnehmens unters.			Das Serum am folgenden Tage untersucht		
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.0065	100.0	Unerhitztes Serum . .	0.005	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.018	36.1	Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.016	31.3
desgl. während 1 Min.	0.022	29.5	desgl. während 1 Min.	0.018	27.8
„ 2 „	0.029	22.4	„ 2 „	0.025	20.0
„ 3 „	0.036	18.1	„ 3 „	0.040	12.5
„ 4 „	0.042	15.5	„ 4 „	0.065	7.7
„ 5 „	0.050	13.0	„ 5 „	0.070	7.1
„ 6 „	0.065	10.0	„ 6 „	0.070	7.1
„ 7 „	0.070	9.3	„ 7 „	0.070	7.1
„ 8 „	0.080	8.1	„ 8 „	0.080	6.3
„ 9 „	0.1	6.5	„ 9 „	0.090	5.6
„ 10 „	<0.1	>6.5	„ 10 „	0.1	5.0

Das Serum 2 Wochen später untersucht			Das Serum 1 Monat später untersucht		
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.005	100.0	Unerhitztes Serum . .	0.005	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.018	27.8	Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.016	31.3
desgl. während 1 Min.	0.020	25.0	desgl. während 1 Min.	0.020	25.0
„ 2 „	0.028	17.9	„ 2 „	0.025	20.0
„ 3 „	0.036	13.9	„ 3 „	0.033	15.2
„ 4 „	0.045	11.1	„ 4 „	0.040	12.5
„ 5 „	0.050	10.0	„ 5 „	0.050	10.0
„ 6 „	0.060	8.3	„ 6 „	0.055	9.1
„ 7 „	0.070	7.1	„ 7 „	0.055	9.1
„ 8 „	0.090	5.6	„ 8 „	0.080	6.3
„ 9 „	0.1	5.0	„ 9 „	0.090	5.6
„ 10 „	<0.1	5.0	„ 10 „	0.1	5.0

Ein zweites Serum von derselben Ziege; das Serum am Tage des Entnehmens untersucht (siehe S. 339).

Das Serum am folgenden Tage untersucht			Das Serum nach 2 Tagen untersucht		
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.004	100.0	Unerhitztes Serum . .	0.004	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.012	33.3	Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.008	50.0
desgl. während 1 Min.	0.016	25.0	desgl. während 1 Min.	0.012	33.3
„ 2 „	0.024	16.7	„ 2 „	0.018	22.2
„ 3 „	0.027	14.8	„ 3 „	0.022	18.2
„ 4 „	0.033	12.1	„ 4 „	0.029	13.8
„ 5 „	0.036	11.1	„ 5 „	0.034	11.8
„ 6 „	0.050	8.0	„ 6 „	0.045	8.9
„ 7 „	0.050	8.0	„ 7 „	0.050	8.0
„ 8 „	0.065	6.2	„ 8 „	0.066	6.1
„ 9 „	0.08	5.0	„ 9 „	0.075	5.3
„ 10 „	0.1	4.0	„ 10 „	0.080	5.0
„ 11 „	0.1	4.0	„ 11 „	0.1	4.0
„ 12 „	<0.1	>4.0			

Ein drittes Serum von derselben Ziege; das Serum am Tage des Entnehmens untersucht (vgl. S. 3. 9).

Das Serum am folgenden Tage untersucht					
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.0020	100.0	desgl. während 10 Min.	0.038	5.3
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.0055	36.4	„ 11 „	0.040	5.0
desgl. während 1 Min.	0.0080	25.0	„ 12 „	0.043	4.7
„ 2 „	0.0090	22.2	„ 13 „	0.048	4.2
„ 3 „	0.011	18.2	„ 14 „	0.055	3.6
„ 4 „	0.013	15.4	„ 15 „	0.060	3.3
„ 5 „	0.016	12.5	„ 16 „	0.075	2.7
„ 6 „	0.020	10.0	„ 17 „	0.085	2.4
„ 7 „	0.022	9.1	„ 18 „	0.095	2.1
„ 8 „	0.026	7.7	„ 19 „	<0.1	>2.0
„ 9 „	0.032	6.3			

Das Serum 6 Tage später untersucht			Das Serum 8 Tage später untersucht		
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.0022	100.0	Unerhitztes Serum . .	0.0022	100.0
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.0060	36.7	Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.0055	40.0
desgl. während 1 Min.	0.0080	27.5	desgl. während 1 Min.	0.0083	26.5
„ 2 „	0.011	20.0	„ 2 „	0.012	18.3
„ 3 „	0.016	13.8	„ 3 „	0.014	15.7
„ 4 „	0.019	11.6	„ 4 „	0.019	11.6
„ 5 „	0.028	7.9	„ 5 „	0.028	7.9
„ 6 „	0.036	6.1	„ 6 „	0.040	5.5
„ 7 „	0.050	4.4	„ 7 „	0.045	4.9
„ 8 „	0.055	4.0	„ 8 „	0.055	4.0
„ 9 „	0.065	3.4	„ 9 „	0.060	3.7
„ 10 „	0.065	3.4	„ 10 „	0.065	3.4
„ 11 „	0.075	2.9	„ 11 „	0.075	2.9
„ 12 „	0.080	2.8	„ 12 „	0.085	2.6
„ 13 „	0.095	2.3	„ 13 „	0.1	2.2

Das Serum 2 Monate später untersucht					
	A	A'		A	A'
Unerhitztes Serum . .	0.0025	100.0	desgl. während 7 Min.	0.040	6.3
Ser. erhitzt bis auf 70.6°	0.0060	41.7	„ 8 „	0.050	5.0
desgl. während 1 Min.	0.01	25.0	„ 9 „	0.055	4.5
„ 2 „	0.012	20.8	„ 10 „	0.065	3.8
„ 3 „	0.014	17.9	„ 11 „	0.080	3.1
„ 4 „	0.016	15.6	„ 12 „	0.080	3.1
„ 5 „	0.022	11.4	„ 13 „	0.090	2.8
„ 6 „	0.030	8.3	„ 14 „	0.1	2.5

Wie aus diesen Versuchen ersichtlich ist, können in aufbewahrten Sera Hemmungserscheinungen entstehen, aber immer entstehen sie nicht. Die Inaktivierung des Coliserums hatte bei 70° einen so langsamen Verlauf, daß Eiweißkoagulation beobachtet werden konnte, bevor das agglutinierende Vermögen des Serums in höherem Grade abgeschwächt wurde, und hierbei traten Hemmungserscheinungen auf; die Inaktivierung des Typhusserums verlief dagegen ohne irgendeine sichtbare Eiweißkoagulation, und ohne Hemmungserscheinungen. Ohne mit Bestimmtheit behaupten zu wollen, daß die Eiweißkoagulation der einzige Faktor wäre, der Entstehen der Hemmungserscheinungen bewirken konnte, will ich doch auf diesen Unterschied der von mir untersuchten Sera aufmerksam machen.

Noch ist die Tatsache zu erwähnen, daß bei Versuchen mit Typhusimmunserum von Ziege, vom 31. XI. S. 339, die Inaktivierungsgeschwindigkeit mit jedem Tage sich etwas veränderte, so daß sie im Anfang beim

Stehen immer schneller und schneller wurde. Doch zeigt die Tabelle auch, daß dieses Schnellerwerden nicht immer weiter fortschreitet, sondern schon nach wenigstens 8 Tagen aufhört. Wie aus den Tabellen S. 356 noch zu ersehen ist, scheint diese Veränderung doch auch die zwei ersten Tage ausbleiben zu können. Der Grund dieser Veränderung mag diesmal unerörtert bleiben. Man könnte sich denken, daß das Serum in den verschiedenen Stadien der Immunisierung eine verschiedene Stabilität in diesem Sinne aufzeigte. Doch habe ich durch meine Versuche diese Annahme nicht bestätigen können. Im Gegenteil haben die Versuche, die ich nach dieser Richtung angestellt habe, ein entgegengesetztes Resultat gegeben: Serum von z. B. 4. XII. von demselben Tiere entnommen, veränderte sich nicht auf dieselbe Weise wie das erstgenannte vom 31. XI. Doch steht fest, daß ein Immunserum einmal sich als, wie Cagnetto¹ sagt, chronostabil zeigt, ein anderes Mal chronolabil. Wo die Ursache davon zu suchen ist, ist nicht sicher. Vielleicht spielt die Alkaliabgabe des Aufbewahrungsglases dabei eine Rolle, vielleicht sind auch die Sera selbst mehr oder weniger chronostabile.

Aus meinen Versuchen geht also folgendes hervor:

1. Für die Coliimmunagglutinine kann keine bestimmte Inaktivierungstemperatur festgestellt werden, die meßbare Inaktivierung verläuft vielmehr innerhalb einer Temperaturzone, die sich über viele Grade erstreckt; je niedriger die Temperatur ist, desto langsamer verläuft die Inaktivierung, je höher, desto schneller. Unter Inaktivierung verstehe ich in diesen Versuchen immer das Verschwinden des agglutinierenden Vermögens, nicht das Aufhören des bindenden Vermögens des Agglutinins.

2. Die Coliimmunagglutinine sind gegenüber Schwankungen der Temperatur so empfindlich, daß eine Differenz von $\frac{1}{2}$ Grad C innerhalb der Temperaturzone, in welcher man der Inaktivierungsgeschwindigkeit meßbar folgen kann, genügt, einen deutlich meßbaren Unterschied dieser Geschwindigkeit zu bewirken.

3. Die Coliimmunagglutinine werden in Sera von verschiedenen Tieren derselben Spezies mit verschiedener Geschwindigkeit inaktiviert. Die Unterschiede können so groß sein, daß Serum von einem Tiere bei 64° C schneller inaktiviert wird, als Serum von einem anderen bei 74° C.

¹ Cagnetto, Ref. im *Centralblatt für Bakteriologie*. 1907. Bd. XL.

4. Irgendeinen konstanten Artunterschied in dieser Beziehung zwischen Ziege und Kaninchen zeigen meine Versuche nicht. Im Gegenteil habe ich sowohl bei Ziege wie bei Kaninchen relativ thermostabile und relativ thermolabile Coliimmunagglutinine gefunden.

5. Durch Verdünnung des Serums mit physiologischer Kochsalzlösung wird die Inaktivierungsgeschwindigkeit in der Richtung verändert, daß sie um so langsamer wird, je größer die Verdünnung war. Bei geringen Variationen der Verdünnung, z. B. von 1:5 bis zu 1:10 sind die Veränderungen kaum bemerkbar außer in den Fällen, wo Hemmungszonen auftreten. In diesen Fällen konnte eine schnellere Abnahme des agglutinierenden Vermögens bei schwächerer Verdünnung beobachtet werden; meine Versuche weisen jedoch darauf hin, daß diese beschleunigte Inaktivierung nur eine scheinbare sei. Die Inaktivierung geht nicht parallel mit dem Auftreten der Eiweißkoagulation, doch scheint diese Koagulation bei dem Auftreten der Hemmungen mitzuwirken.

6. Das Coliimmunagglutinin wird in Sera von verschiedenen Tieren nach verschiedenen Typen α und β inaktiviert.

7. Bei einigen Tieren verläuft die Inaktivierung mit konstant abnehmender Geschwindigkeit. Diesen Inaktivierungstypus habe ich mit Typus α bezeichnet. Bei den meisten von mir untersuchten Tieren verläuft die Inaktivierung mit immer größer werdender Abnahme der Geschwindigkeit. Diesen Typus habe ich mit Typus β bezeichnet. Bei einigen Tieren ist der Typus β mehr ausgeprägt, bei anderen nähert sich diese Inaktivierungsart mehr dem Typus α .

8. In dieser Richtung ist kein Artunterschied vorhanden zwischen Coliimmunagglutininen von Kaninchen und denselben von Ziegen.

9. Da also das Agglutinin durch den Einfluß der Wärme bei verschiedenen Tieren nach verschiedenen Typen inaktiviert wird, kann ein Vergleich der Inaktivierungsgeschwindigkeit der verschiedenen Agglutinine nur unter der Bedingung stattfinden, daß dieser prinzipielle Unterschied des Inaktivierungsverlaufes beachtet wird.

10. Der eben erwähnte prinzipielle Unterschied des Inaktivierungsverlaufes kann nur dann wahrgenommen werden, wenn man mittels einer gleichartigen Bouillon als Indikator den Veränderungen quantitativ folgt, denen das agglutinierende Vermögen während längerer Zeit bei konstanter Temperatur unterworfen ist. Die Bouillon muß entweder dieselbe sein, oder ihre Empfindlichkeit muß vor dem Gebrauch durch Titrieren als ähnlich festgestellt werden. Auch muß die Reaktionsgeschwindigkeit der Bouillon in allen Versuchen dieselbe sein. Dabei scheint u. a. der Salzgehalt der Bouillon eine Rolle zu spielen; nur zwischen bestimmten Grenzen sind die Salzvariationen ohne Einwirkung. Sowohl über wie unter diesen

Grenzen haben sogar kleine Salzvariationen große Bedeutung. Dieselbe Einwirkung wie NaCl zeigen äquivalente Mengen KCl.

11. Alles, was von dem Coliimmunagglutinin gesagt worden ist, hat auch mutatis mutandis seine Gültigkeit betreffs der Typhusimmunagglutinine.

12. Coli- und Typhusimmunagglutinine desselben Kaninchens werden mit verschiedener Geschwindigkeit bei derselben Temperatur inaktiviert.

13. Bei einigen von mir gleichzeitig mit *B. coli* und *B. typhi* immunisierten Kaninchen zeigte sich das Typhusimmunagglutinin stabiler als das Coliimmunagglutinin, bei anderen als labiler; aber bei den Tieren, die mit demselben *B. coli*-Stamm und demselben *B. typhi*-Stamm immunisiert worden waren, war immer das Verhältnis zwischen den Anfangswerten der Inaktivierungsgeschwindigkeit beider Agglutinine ein konstantes, indem das Coliimmunagglutinin in allen den Kaninchensera, die durch Immunisierung mit *B. coli* Stamm I oder Stamm III gewonnen waren, weniger stabil als das Typhusimmunagglutinin war; in den Fällen wieder, wo *B. coli* Stamm II verwendet worden war, war das Verhältnis immer ein entgegengesetztes.

14. Ganz wie die Immunagglutinine können die Normalagglutinine untersucht werden und zeigen in verschiedenen Tieren derselben Spezies eine verschiedene Inaktivierungsgeschwindigkeit bei derselben Temperatur; doch habe ich nicht so große individuelle Verschiedenheiten wie zwischen den Immunagglutininen beobachtet. Wie die Immunagglutinine sind auch die Normalagglutinine schon gegen eine Temperaturdifferenz von 0.5°C so empfindlich, daß die dadurch verursachten Veränderungen der Inaktivierungsgeschwindigkeit ablesbar sind.

15. Normalagglutinin von demselben Tiere erwies sich immer gleich empfindlich gegenüber der Temperatur, wenn auch die untersuchten Serumproben nach längeren Zeitintervallen aus dem Tiere entnommen wurden.

16. In allen meinen Versuchen wurden Normalagglutinin gegen *B. coli* und Immunagglutinin gegen dasselbe Bakterium von demselben Tiere mit derselben Geschwindigkeit inaktiviert.

17. Die Untersuchungen über die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins unter den verschiedenen Phasen der Immunisierung wie unter verschiedenen mit freien Intervallen aufeinander folgender Immunisierungen ergaben keine größeren Veränderungen derselben, trotzdem die Agglutininmenge während der Immunisierung vielfach vergrößert wurde. Vielmehr zeigten sie dieselbe Inaktivierungsgeschwindigkeit, ganz abgesehen davon, ob

das Serum im Beginn der Immunisierung oder in dem Akme-Stadium derselben entnommen wurde, und ob das Serum schwach oder stark agglutinierte. Nur in der Periode, wo die Agglutinationsstärke, nachdem sie den Höhepunkt erreicht hatte, abzunehmen anfang, konnte an einigen Sera eine Beschleunigung der Inaktivierungsgeschwindigkeit beobachtet werden. Diese beschleunigte Abnahme der Agglutinationsstärke scheint jedoch ihren Grund im Auftreten von Hemmungspheänomenen zu haben. Die Sera, an denen Hemmungserscheinungen nicht auftraten, wurden auch in dieser dritten Periode der Immunisierung mit derselben Geschwindigkeit, wie in den beiden ersten inaktiviert. Auch habe ich feststellen können, daß die Inaktivierungsgeschwindigkeit jener Sera, die Hemmungszonen zeigten, eine unveränderte war, wenn ich durch Verdünnung mit Aqua dest. das Entstehen der Hemmungserscheinungen verhindert hatte.

18. Das Alkali NaOH inaktiviert das Coliagglutinin auch bei solchen Temperaturen, welche allein keine Wirkung ausüben, indem die Inaktivierung mit allmählich abnehmender Geschwindigkeit nach dem Typus β fortschreitet und schneller je höher die Temperatur ist.

19. Der Alkaligehalt der Flüssigkeit bestimmt nicht die Inaktivierungsgeschwindigkeit des Agglutinins, sondern diese ist von dem Verhältnis zwischen Alkali und Agglutinin abhängig in der Richtung, daß die von Alkali bewirkte Inaktivierung des Agglutinins um so schneller verläuft, je kleiner die Agglutininmenge ist, die dem Einfluß derselben Menge Alkali ausgesetzt ist.

20. Die Mengen NaOH, die einen meßbaren Einfluß auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit ausüben, sind nicht größer als die in den verschiedenen Sera normaliter vorkommenden Alkalivariationen.

21. Die normalen Alkalivariationen des Serums können jedoch nicht den großen Unterschied der Thermostabilität von Sera verschiedener Tiere erklären.

22. Den Salzgehalt des Serums innerhalb der Grenzen der im Serum normal vorkommenden Salzvariationen variierend habe ich die Inaktivierungsgeschwindigkeit weder des Coli- noch des Typhusimmunagglutinins bei einer gewissen Temperatur verändern können. Größere Salzkonzentrationen scheinen das Inaktivieren des Agglutinins zu verlangsamen, und ebenso scheint eine starke Abnahme des Salzgehalts durch Aufheben der Hemmungen eine Verlangsamung der Inaktivierungsgeschwindigkeit hervorzurufen.

23. Durch Verdünnung des Typhusimmunserums einer Ziege mittels Normalsera von anderen Ziegen oder von Pferden, Tauben, Meerschweinchen, Kaninchen oder mittels Hühnereiweiß habe

ich die Inaktivierungsgeschwindigkeit des in dem Immunserum enthaltenen Agglutinins nicht in so hohem Grade verändern können; daß die Verschiedenheit des Eiweißgehaltes die großen Unterschiede der Inaktivierungsgeschwindigkeit der Sera von verschiedenen Tieren hätte erklären können.

24. Die von mir beobachtete große Verschiedenheit der Inaktivierungsgeschwindigkeit von Agglutinin bei verschiedenen Tieren und ebenso die von mir festgestellte Konstanz der Inaktivierungsgeschwindigkeit von Agglutinin in Serum von demselben Tiere, obgleich die Agglutininmenge im Verlaufe der Immunisierung wechselte und der Salz- und Eiweißgehalt des Serums verändert wurde, können durch die Annahme von Verschiedenheit der Agglutinine selber erklärt werden.

25. Die verschiedenen Inaktivierungstypen des Agglutinins von verschiedenen Tieren können durch die Annahme erklärt werden, daß das Agglutinin nicht eine einzige homogene Substanz ist, sondern aus einer Reihe Partialagglutinine mit verschiedener Thermostabilität besteht, vielleicht auf die Weise, daß die ganze Serie Globulinfraktionen durch die Immunisierung agglutinierendes Vermögen erhält, die verschiedenen Fraktionen in verschiedenem Maß bei verschiedenen Tieren.

26. Auch der Umstand, daß das Immunagglutinin durch Einwirkung von Alkali nach dem Typus β inaktiviert wird, kann durch dieselbe Annahme der Existenz einer Reihe Partialagglutinine mit verschiedener Empfindlichkeit gegenüber der Alkaliwirkung erklärt werden.