III. Aus dem Laboratorium für chirurgische Pathologie und Therapie an der Kaiserlichen Universität Kiew.

Weiteres zur Immunitätsfrage und Blutserumtherapie gegen Cholerainfektion.²⁾

Von Prof. Dr. A. Pawlowsky und Stud. med. L. Buchstab.

II.

Zur weiteren Erforschung der immunisirenden und heilkräftigen Eigenschaften des Blutserums immuner Hunde haben wir eine Reihe neuer Versuche an Thieren gemacht.

Um unter anderem die Frage nach der Wirkung aufzuklären, welche das Choleragift ausübt einerseits auf kaltblütige Thiere

²⁾ Conf. Russkaja Medicina 1893 No. 8 und 9.

unter Bedingungen, die für ihre Infection, d. h. für die Vermehrung der Mikroben selbst in ihrem Organismus ungünstig sind, andererseits auf Thiere mit höherer Temperatur, als sie der Mensch besitzt, haben wir für unsere Versuche Frösche und Vögel gewählt.

Im Hinblick darauf, dass die Existenzbedingungen für die Choleraerkrankung im Organismus kaltblütiger Thiere äusserst ungünstige sind, und dass der Untergang eines mit einer Cholera-cultur inficirten Thieres sich jedesmal durch die Erscheinungen einer reinen Intoxication erklären liess, musste es besonders interessant erscheinen, hier die Methode der Immunisirung und Heilung durch Blutserum anzuwenden, wobei von letzterem hauptsächlich nur Neutralisirung des Giftes nicht eine Wirkung auf die Infection erwartet wurde. Vor allem musste die Wirkung der Cholera-culturen auf den Organismus der Frösche erforscht werden. Zu diesem Zweck wurden 1—2 ccm Cholera-cultur Fröschen unter die Haut gespritzt. Die Folge war, dass dieselben starben, jedoch nicht in gleich schnellem Tempo: der Tod trat entweder kurze Zeit nach der Einspritzung, unter den Erscheinungen einer Entkräftung und eines allmählichen Erlöschens der Reflexbewegungen ein, oder aber nach einem oder mehreren Tagen unter ähnlichen Erscheinungen. Die Schnelligkeit der Wirkung stand in einem gewissen Verhältniss zum Alter der Culturen, so dass in einzelnen Fällen der Tod des Frosches bei einer Dosis von 0,5 ccm in 10 bis 15 Minuten, von 0,1 ccm in 24 Stunden eintrat. Ebenso ergab sich aus den Versuchen, dass Frösche gegen Cholera-infection sowohl durch die allgemeine Anwendung der Methoden, als auch durch das Blutserum immunen Hunde immunisirt werden, welches letzteres sie ausserdem auch heilt. So widerstehen Frösche nach wiederholter Einführung von 1—2 ccm gekochter Culturen tödtlichen Dosen virulenter Culturen.

Die Einführung von 1,0 bis 0,1 ccm Blutserums immunen Hunde machte die Frösche gegen eine tödtliche Dosis Cholera-culturen immun, sodass sie später wiederholten Einspritzungen von Culturen widerstanden.

Ferner wurde nach der Heilung den Fröschen eine tödtliche Dosis Culturen von erhöhter Virulenz, und an derselben Stelle gleichzeitig oder nach einer $\frac{1}{3}$ —1 Stunde 1,0—0,1 ccm Blutserum subcutan eingespritzt. Die Kontrollfrösche gingen ein, die geheilten dagegen blieben am Leben und resistirten später, ebenso wie die durch Blutserum immun gemachten gegen Einführung wiederholter tödtlicher Dosen. Auf diese Weise neutralisirte im gegebenen Falle das Blutserum immunen Thiere das chemische Gift der Choleraerkrankung, die, wie gesagt, im Organismus kaltblütiger Thiere sich nicht vermehren konnten.²⁾

Nach Immunisirung und Heilung der Frösche wurde aus ihrem Herzen das Blut gesammelt, und mit Serum dieses Blutes wurden dann neue Frösche, Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben immun gemacht und geheilt, wobei sich erwies, dass auch dieses Serum in einer Dosis, von 0,3—1 ccm Frösche gegen eine tödtliche Dosis Cultur immun macht und in gleichem Maasse bei einer gewissen Mischung diese Dosis neutralisirt. Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben dagegen schützt und heilt es nicht von einer tödtlichen Infection. Das aus dem lymphatischen Säckchen unter der Haut des Rückens gewonnene Transsudat aber schützt auch die Frösche nicht, noch heilt es sie.

Im ganzen wurden an Fröschen 42 Versuche gemacht, und es ist dabei zu bemerken, dass wir bei diesen Immunisirungs- und Heilversuchen durch Blutserum keine so überraschenden Heilresultate erzielt haben, wie bei unseren Versuchen an warmblütigen Thieren, da ein gewisser kleiner Procentsatz behandelter und immun gemachter Frösche zugrunde ging, was im allgemeinen bei den Versuchen an höheren warmblütigen Thieren nicht der Fall war.

Somit ergaben unsere Versuche an kaltblütigen Thieren neue Hinweise darauf, dass das Wesen der Choleraerkrankung auf Intoxication durch Cholera-gift, und die Heilung der Cholera-intoxication auf Neutralisirung des Giftes zurückzuführen ist.

Mit Rücksicht auf diese Resultate war es besonders wichtig, zu verfolgen, welche Erscheinungen im Kampfe mit dem Cholera-gift sich im Organismus anderer, mit hoher Körpertemperatur versehener Thiere beobachten lassen, bei welchen sich der Cholera-mikrob, selbst im Blute, vorzüglich vermehrt, wie z. B. nach Dr. N. Tamalei's Beobachtungen im Blute der Taube. Hier lässt sich die Choleraerkrankung auf den ersten Blick nicht auf Vergiftung durch das chemische Gift, nicht auf Intoxication zurückführen, sondern auf reine Infection von Seiten der Choleraerkrankung im Organismus. Neutralisirt auch in diesem Falle das Antitoxin des Serums das Cholera-gift, oder führt der Parasitismus der Choleraerkrankung das Thier zum Tode, ungeachtet der Einführung

des Antitoxins? Zur Lösung dieser Frage wurden Versuche an Hühnern, Enten und Tauben gemacht. Diese Versuche zeigten, dass Hühner und Enten gegen Cholera-infection immun sind; sogar grosse Dosen von 10—20 ccm Bouillon-cultur erhöhter Virulenz tödten sie nicht. An Tauben aber haben wir bei ihrer Immunisirung und Heilung von der Cholera-infection durch das Blutserum immunen Hunde in hohem Grade belehrende Resultate erlangt.

Nachdem wir durch Kontrollversuche die tödtliche Dosis unserer Bouillon-culturen — 5 ccm für die Taube — festgestellt hatten, spritzten wir zuerst 5 ccm Cultur erhöhter Virulenz ein in einer Mischung mit 0,5—0,1 ccm Blutserum von immunen Hunden. Die Tauben wurden gesund, die Kontrolltauben gingen ein, wobei im Blute der letzteren stets Cholera-vibrionen vorhanden waren, die wir in gefärbten Präparaten und in Plattenculturen nachweisen konnten. Es ist klar, dass in diesem Falle die heilkräftige Substanz des Blutserums immunen Hunde ebenfalls das Toxin der Cholera-mikroben neutralisirte. Immun machten wir die Tauben, indem wir 24 Stunden vorher von 1,01 bis 1 ccm Blutserum unter die Haut einführten; eine solche vorbereitende Einspritzung schützte die Tauben vor tödtlichen Dosen Cholera-culturen, die ihnen am anderen Tage in die Peritonealhöhle eingeführt wurden. Ganz ebenso reichte bei Einführung von 5 ccm Cultur in die Peritonealhöhle der Taube schon eine unbedeutende Menge Blutserum (0,5—1,0), das unter die Haut gespritzt wurde, hin, um das Thier zu heilen.

Es ist bemerkenswerth, dass das Blutserum auf die beschriebene Weise immun gemachter Frösche sogar in einer Mischung mit Cholera-cultur die Taube nicht nur bei ihrer Heilung, sondern auch bei ihrer Immunisirung vor tödtlichen Dosen nicht gerettet hat. Im ganzen wurden an Tauben 25 Versuche angestellt.

Gehen wir nun zum zweiten Theil unserer Untersuchung über, die sich auf die Isolirung der gesuchten heilkräftigen Substanz bezieht, die im Blutserum immunen Thiere vorhanden ist.

Um diese Frage in ihrem ganzen Umfange zu bearbeiten, wählten wir die Methode der successiven Präcipitation der Grundbestandtheile des Blutserums. Da wir uns vor allem für die im Serum enthaltenen Eiweissstoffe interessirten, bemühten wir uns, dieselben niederschlagen und ihre immunmachenden und heilkräftigen Eigenschaften zu erproben; denn wir glaubten den Heilstoff des Serums im Eiweiss zu finden, von welchem so zu sagen eine Neutralisirung des Giftes verlangt wird, das seinerseits ebenfalls Eiweiss darstellt, wie solches die letzten Untersuchungen von Pfeiffer, Gruber, Wiener und Schall zeigen.

Indem wir zuvörderst die Eiweissstoffe des Blutserums mit schwefelsaurem Ammonium fällten, dialysirten wir unter Beobachtung aseptischer Bedingungen den Niederschlag einige Tage, dann liessen wir den Niederschlag unter dem Exsiccator trocknen, lösten ihn auf und versuchten dann die immunisierende und heilende Kraft dieses Gemisches von Globulinen, Albuminen und anderen Eiweissstoffen des Blutserums. Bei unseren Versuchen führten wir unter die Haut eine Lösung dieses trockenen Pulvers zu 0,06 g in 0,7 % NaCl ein, in die Peritonealhöhle 5 ccm Cultur erhöhter Virulenz, oder aber wir mischten diese Menge Cultur mit 0,06 g Eiweissstoffe in Lösung. Dieser Stoff in seiner Mischung mit der Cultur schützte die Taube vor ihrem Untergange; bei Einspritzung derselben unter die Haut und Einführung der Cultur in das Peritoneum ergab sich jedoch ein negatives Resultat.

Meerschweinchen wurden vor dem Untergang bewahrt durch eine Mischung von 2 ccm Cultur erhöhter Virulenz und 0,06 g des Stoffes; doch neutralisirt diese Quantität das Gift nicht immer, da manche Meerschweinchen bei diesen Versuchen umkamen. Das Heilverfahren von Meerschweinchen, das darin bestand, dass in die Peritonealhöhle 2 ccm Cultur erhöhter Virulenz (jetzt eine unbedeutende tödtliche Dosis unserer Culturen) und unter die Haut eine Lösung von 0,06 g unserer Eiweissstoffe eingespritzt wurden, hatte zur Folge, dass sie vor dem Tode geschützt blieben.

Versuche an Kaninchen ergaben weniger befriedigende Resultate. Eine Mischung von 5 ccm Cholera-cultur und 0,06 g des mittels schwefelsauren Ammoniums gefällten Stoffes tödtet das Kaninchen, ebenso 0,06 g Stoff, wenn er unter die Haut eingeführt wird. Indem wir zunächst bei der Frage nach dem Grunde dieser wenig befriedigenden Resultate Halt machten, mussten wir zunächst unser Augenmerk darauf richten, ob nicht der unbedeutende Gehalt von Antitoxin im Niederschlag von der andauernden Dialyse abhängt, und ob der heilkräftige Stoff nicht bei der Dialyse durch die animalische Membran hindurchgeht. Zur Lösung dieser Frage, die zu Betrachtungen über die Zugehörigkeit des Antitoxins zu einer bestimmten Classe von Eiweissstoffen führte, wurden Versuche angestellt, welche die Annahme bestätigten, dass das Choleraantitoxin durch die Membran des Dialysators hindurchgeht, und dass es im Niederschlag in unbedeutender Menge enthalten ist. So schützte das mehrere Tage hindurch

¹⁾ Wir schreiben freilich auch hier den Phagocyten eine gewisse Hülfsrolle zu, denen der Kampf mit den Cholera-mikroben im kaltblütigen Organismus verhältnissmässig leichter wird, als im warmblütigen.

dialysirte Serum eines immunen Thieres sogar in einer Dosis von 5 ccm das Kaninchen nicht vor der tödtlichen Dosis des Cholera-giftes. Dagegen schützte das Aussenwasser des Müncke'schen Filterdialysators, das 5 ccm immunen Serums dialysirte, das Kaninchen vor einer tödtlichen Dosis. Indem wir nun die Eiweissstoffe aus einer bestimmten Menge Blutserum immuner Hunde mit schwefelsaurem Ammonium ausschieden, sie auf einem sterilisirten Filter abseiheten, ferner die Salzkristalle vom Filter mit einem sterilisirten Instrument herausnahmen, dann den Niederschlag trockneten und ihn in demselben Umfange von 0,7 % NaCl auflösten; indem wir also auf diese Weise alle durch schwefelsaures Ammonium gefällten Eiweisstheile des Serums ohne Dialyse derselben erhielten: konnten wir uns durch Versuche überzeugen, dass es diese Eiweissstoffe sind, die in einer Mischung mit einer tödtlichen Dosis Cultur das in die Peritonealhöhle der Kaninchen und Tauben eingeführte Gift neutralisirten, obschon sie bei Einspritzung unter die Haut und bei Einführung der Cultur in die Peritonealhöhle diese Thiere nicht heilten.

Wir stellten uns sodann die Frage, ob der Heilstoff des Serums durch hohe Temperatur vernichtet wird. Wir erwärmten also eine halbe Stunde lang 5 ccm Serum auf 60° bis 68°, wobei sich ergab, dass diese Menge Serum 5 ccm Cultur erhöhter Virulenz neutralisirte und das Thier vor einer tödtlichen Dosis schützte. Aus unseren Versuchen ergab sich ferner, dass das Serum mit schwachen Lösungen Aetzkali gemischt, in welchen wir nicht selten die gefällten Stoffe lösen mussten, seine antitoxischen Eigenschaften nicht einbüsst. Die Thatsache der Dialysirung und die gemachten Erfahrungen bei deren Nichtvorhandensein, sowie auch die Erhaltung der antitoxischen Eigenschaften, wenn das Serum erwärmt wird, gaben uns noch deutlichere Fingerzeige für die Annahme, dass das Choleraantitoxin seinem Typus nach zu einer bestimmten Classe von Eiweissstoffen gehören muss.

Im Hinblick auf das Gesagte wünschten wir einerseits die Dialysirung zu vermeiden, andererseits das schwefelsaure Ammonium, das auf dem Filter und sogar auf der Haut des Dialysators in bedeutenden Mengen zurückgeblieben war, zu entfernen. Wir griffen daher bei unseren weiteren Versuchen zu einem anderen allgemeinen Niederschlagsmittel von Eiweissstoffen, nämlich zum absoluten Alkohol. Mittels Alkohols wurde das Serum immuner Hunde (50—100 ccm) gefüllt, und mit dem gewonnenen Niederschlag wurden Versuche an Fröschen, Tauben, Kaninchen und Meerschweinchen gemacht. Die Versuche zerfallen in drei Serien mit beständigen Controllversuchen. Zunächst wurde 1 g (0,06 g) des Niederschlages aufgelöst oder in neutrale Flüssigkeiten eingehängt, die, wie solches die Controllversuche zeigten, auf das Serum wirkungslos blieben, wenn sie unter die Haut der Thiere und am folgenden Tage in die Peritonealhöhle derselben eine Cultur in tödtlicher Dosis — für Tauben 5 ccm, für Kaninchen 5 ccm, für Meerschweinchen 2 ccm — eingespritzt wurde. Die Heilung der Thiere geschah durch gleichzeitige Einspritzung einer Lösung von 0,06 g Stoff unter die Haut und einer tödtlichen Dosis Cultur in die Peritonealhöhle. Die Neutralisirung des Cholera-giftes endlich bestand in einer Reaction von 5 ccm unserer Cholera-cultur und 0,06 g und mehr Eiweissstoffen.

Die Resultate waren folgende: Die an Fröschen, Meerschweinchen, Tauben und Kaninchen gemachten Versuche zeigen, dass der unter Einwirkung des Alkohols auf das Serum erhaltene Niederschlag eine wirksame Substanz in sich birgt, durch welche die immunisirende, heilende und neutralisirende Kraft des Serums bedingt wird; an Wirkungskraft jedoch steht dieser Niederschlag dem Blutserum bedeutend nach. So blieben bei allen unseren Versuchen mit diesem Niederschlag von den Thieren nur 50 % am Leben, während, wie zu bemerken, die Controllthiere auch bei diesen Versuchen stets umkamen. Die Unmöglichkeit der Anwendung dieses Niederschlages liegt darin begründet, dass er sich schwer auflöst. In der Lösung 0,7 % NaCl schwillt er bloss an und wird suspendirt, starke Lösungen von Aetzkali aber, welche letztere ihn am besten auflösen, lassen sich zu Einspritzungen unter die Haut nicht verwenden. Dabei ist zu bemerken, dass sich 0,12 g dieses Stoffes als durchaus fähig erwiesen, das Gift von 5 ccm Cholera-cultur zu neutralisiren, wie solches sich aus den an Kaninchen angestellten Versuchen ergab. Wir mussten also danach trachten, einerseits die Eiweissstoffe in lösbarem Zustande zu gewinnen, und andererseits die Eiweissstoffe des Serums nach Möglichkeit abzusondern, um herauszubekommen, mit welcher Classe von Eiweissstoffen die wirksame Substanz verknüpft ist. Wir suchten also die Globuline und Albumine aus dem Blutserum immuner Hunde getrennt zu erhalten, und mit den Lösungen dieser Stoffe stellten wir dann Versuche an.

Zur Gewinnung der Globuline wurde das Blutserum, zehnfach mit sterilisirtem Wasser verdünnt, in einem sterilisirten Kolben 48 Stunden lang der Wirkung eines langsamen Stromes durch-

spülender Kohlensäure (nach Emmerich) ausgesetzt. Der sich an Boden und Wänden des Kolbens ablagernde Flockenniederschlag, der aus Globulinen bestand, wurde filtrirt; das Filtrat aber, zuvor im Vacuum abgedampft, wurde durch Alkohol niedergeschlagen, wobei wir also einen Niederschlag aus Albuminen und anderen Eiweissstoffen des Blutserums erhielten. Um Wiederholungen zu vermeiden, sagen wir bloss, dass wir auch mit den Lösungen dieser Eiweissstoffe (besser lösten sie sich in salzigem 0,7 % Wasser als die durch Alkohol hervorgerufenen Niederschläge, besonders gut lösten sich die Globuline in 0,7 % NaCl) Immunisirungs- und Heilversuche an Thieren nebst Neutralisirung der Cholera-culturen anstellten, und zwar an allen unseren Versuchsthieren: Fröschen, Tauben, Meerschweinchen und Kaninchen. Zu diesem Zweck wurden jedesmal 0,06 g Globuline und Albumine genommen; sie lösten sich in 0,7 % NaCl, und auf dem schon oben angegebenen Wege wurden dann eine Reihe Versuche der Immunisirung, Heilung und Neutralisirung des Cholera-giftes unternommen. Wir müssen noch bemerken, dass die Absonderung der Globuline und Albumine auch in der Weise gelang, dass das durch Fällung mit schwefelsaurer Magnesia in neutraler Lösung des Blutserums gewonnene Filtrat der Globuline mit Essigsäure angesäuert wurde. Auch mit den auf diese Weise ausgeschiedenen Globulinen und Albuminen haben wir Versuche angestellt. Die Resultate waren folgende: Die Kaninchen erlangten fast ausnahmslos Immunität und Heilung bei 0,06 g Globuline; Albumine wirkten in diesen Dosen weniger sicher. Für Meerschweinchen ergeben sich weniger zuverlässige Heilungs- und Immunisirungsergebnisse: von den Versuchsthieren bleiben nur 75 % am Leben. Tauben und Frösche werden bei diesen Dosen der genannten Stoffe durchaus immun gegen tödtliche Dosen Cholera-cultur. Beispielsweise sei die Tagesliste für die Taube No. 8 angeführt. Diese Taube erhielt unter die Haut die Lösung von 0,06 g Globuline und am anderen Tage in die Peritonealhöhle 5 ccm Cholera-cultur: sie lebt bis jetzt, während die Controlltauben bei solcher Dosis rettungslos umkommen. Es bleibt zu bemerken, dass 0,06 g Albumin- oder Globulinstoff in Lösung 5 ccm Cholera-culturgift neutralisirten.

Aus diesen Versuchen ist sonach ersichtlich, dass in allen diesen Stoffen eine immunisirende und heilende Substanz enthalten ist, durch welche die Heilkraft des Blutserums immuner Thiere bedingt wird; aus ihnen ist aber auch ersichtlich, dass diese Stoffe eine geringere Wirksamkeit besitzen, als ihre natürliche Lösung — das Blutserum. Klar ist auch, dass wir es weder bei den Globulinen noch bei den Albuminen des Blutserums mit mehr oder weniger reinem Antitoxin zu thun haben. Eigen ist diesem wahrscheinlich, dass es sich zu einem Theil sowohl mit Globulinen wie mit Albuminen verbindet und dadurch die Heilkraft sogar kleiner Dosen dieser Eiweissstoffe bedingt. Seine wahre Natur jedoch ist eine andere. Die experimentelle Erforschung seiner Eigenschaften als eines zu einer bestimmten Klasse von Eiweissstoffen gehörigen und bereits in unseren Händen befindlichen Körpers wird den Gegenstand unseres dritten Berichtes bilden.

Es erübrigt mitzutheilen, dass wir auch zu bestimmen suchten, welcher Unterschied in den Eiweissstoffen des Blutes immuner und nichtimmuner Hunde besteht, die annähernd unter die gleichen Bedingungen gesetzt wurden. Zu diesem Zweck wurden die Globuline von den Albuminen im ersten wie im zweiten Fall abgesondert, wobei wir folgende Zahlen erhielten: Globuline ergaben sich aus 50 ccm Serum eines normalen Hundes 0,4940 g, Albumine und andere Eiweissstoffe aber 1,2780 g; aus dem Serum eines immunen Hundes hingegen Globuline 0,170 g, Albumine und andere Eiweissstoffe 1,5070 g. Es ergibt sich aus dieser Analyse, dass die Globulinmenge im immunen Serum bedeutend abnimmt gegenüber dem Niederschlag, der unter der Wirkung des Alkohols auf das Serum immuner Thiere erlangt wird, das mit Hilfe kohlensauren Gases von den Globulinen befreit worden. Auch dieses giebt uns Hinweise auf die Natur des Antitoxins.

Auch dürfen wir nicht über eine Thatsache schweigend hinweggehen, die von einer Immunitätsübertragung durch die Milch einer immunen Mutter zeugt. Zur Zeit der Versuche bekamen die Meerschweinchen jungen Zuwachs, der sich von der Milch ihrer künstlich immun gemachten Mutter nährte. Dem einen von diesen (6 wöchentlichen) Meerschweinchen wurden 2 ccm Cholera-cultur, d. i. eine tödtliche Dosis, eingespritzt, dem anderen 5 ccm: das erste blieb am Leben, das zweite aber ging ein.

Schliesslich sei hinzugefügt, dass junge Hunde verschiedener Gattung nicht gleichermaassen empfindlich gegen das Cholera-gift sind. Vierwöchentliche Möpfe gehen bei Einführung von 10 ccm in die Peritonealhöhle schnell zugrunde, 6—7 wöchentliche Hühndchen starben aber erst nach Einführung von 15 ccm in die Peritonealhöhle, und zwar jene wie diese unter den Erscheinungen von rasch sich entwickelndem Erbrechen, Durchfall (Gastroenteritis),

Erkaltung, starker Temperaturabnahme bis 34,9—34,4, Schwäche (sie liegen, stöhnen) und von Peritonitis diffusa.

Versuche, die sich auf diesen Bericht beziehen, haben wir angestellt: an 42 Fröschen, 25 Tauben, 6 Hühnern, 2 Enten, 18 Meerschweinchen, 36 Kaninchen und an 10 jungen Hunden, im ganzen 139 Versuche. Die Gesamtzahl unserer Versuche beträgt aber gegenwärtig schon weit über 200.

Wie die Immunisirung, so wurde auch die Heilung der cholerainficirten Thiere stets mit Blutserum erzielt, das aus dem Blute mehrerer immuner Hunde gewonnen war, bezw. mit aus diesem Serum dargestellten Eiweissstoffen. In dem zweimonatlichen Zeitraum, der seit dem Erscheinen unseres ersten Berichtes verflossen ist, hat sich die Immunität unserer Hunde bedeutend erhöht. Sie alle haben jetzt schon gegen 200 ccm Choleracultur erhalten. In dieser Zeit haben wir auch Gelegenheit gehabt, uns zu überzeugen, dass hinreichende Immunität schon im Verlauf eines Monats erzielt werden kann. So wurden einige frühere Hunde wegen der häufigen und reichlicher Blutentziehung nicht weiter zu Experimenten benutzt und an ihrer statt andere immun gemacht. So hat, wie aus den Tageslisten ersichtlich, ein Hund vom 25. März bis jetzt (28. April), d. i. in fünf Wochen gegen 200 ccm Culturen erhalten. Durch unsere Versuche ist ferner constatirt, dass ein grosser Hund, dem am 2. April 400 ccm und am 12. April weitere 250 ccm Blut entnommen worden, am 26. April bei der Entnahme seines gesammten Blutes noch mehr als 1000 ccm Blut mit 400 ccm Blutserum, d. h. eine sehr grosse Menge kostbarer heilkräftiger Flüssigkeit gegeben hat.

Wir erachten es als unsere Pflicht, nun auch das conservirende Mittel, welches das Serum von 3—5 Monate und länger steril erhält, bekannt zu geben. Es ist 1 % ige Boraxsäure, die den wirksamen Grundstoff des Serums nicht zerstört, sowie Kampher. Wir sind auch bereit, unser Heilserum aus unserem Laboratorium ärztlichen Collegen zuzusenden, die das für Menschen unschädliche Mittel zur Choleraheilung verwenden wollen.