XII.

Zur Frage des Selbstschutzes des thierischen Organismus gegen bakterielle Infectionen.*)

Von

Dr. A. J. Kondratieff

(St. Petersburg).

Je mehr die Frage über das Wesen der Unempfänglichkeit des thierischen Organismus gegen bakterielle Infectionen — die Immunität — erforscht wird, desto mehr erscheint es nothwendig, die natürlichen Eigenschaften des thierischen Organismus selbst einem Studium zu unterziehen, da der Grad der Widerstandsfähigkeit desselben einer Infection gegenüber, wie es scheint, hauptsächlich den Ausgang seines Kampfes mit dem Infectionserreger eben bestimmt. Worin das Wesen dieser Widerstandsfähigkeit besteht, ist bis jetzt noch wenig aufgeklärt, trotz vieler neuer, sehr interessanter Entdeckungen auf diesem Gebiete.

Die Theorie Metschnikoff's betrachtet die Phagocyten als das Hauptwerkzeug des Organismus im Kampfe gegen die Mikroben. Aber, indem sie die erworbene Immunität dadurch erklärt, dass die Phagocyten sich allmählich gewöhnen, die virulenten Mikroben in sich aufzunehmen und zu verdauen, ist sie wohl vollständig erschöpfend für den Fall einer Immunisirung gegen nachfolgende Infection des Organismus mit lebenden Bakterien, erklärt aber durchaus nicht denjenigen Process, welcher sich im Organismus abspielt bei der Immunisirung mit löslichen Substanzen und der hierdurch erworbenen Widerstandsfähigkeit gegenüber einer nachfolgenden Infection nicht nur durch die Mikroben selbst, sondern auch durch ihre Toxine. Das letztere ist aber durchaus möglich und ist auch zweifellos bewiesen für Tetanus und Diphtherie (Behring und dessen Mitarbeiter ¹⁾**), C. Fränkel ²⁾, Brieger und dessen Mitarbeiter ³⁾,

---

*) Vorläufige Mittheilung siehe Wratsch 1895. Nr. 15. S. 412 (russisch).

**) Die kleinen Zahlen beziehen sich auf das am Schlusse der Arbeit befindliche Literaturverzeichnis.

Tizzoni und Cattani⁴⁾, Vaillard⁵⁾, Kitasato⁶⁾, Ehrlich und dessen Mitarbeiter⁷⁾, Fedoroff⁸⁾, Abel⁹⁾ und theilweise für Typhus (Bitter¹⁰⁾, Stern¹¹⁾, Bruschettini¹²⁾, Beumer und Peiper¹³⁾, für Cholera (Klemperer G.^{14, 57)}, Pawlowsky und Buchstab¹⁵⁾, Ransom¹⁶⁾, für den Pneumococcus und die Mäusesepticämie (Klemperer G. und F.¹⁷⁾, für den *Proteus vulgaris* (Foà und Bonome¹⁸⁾, für *Streptococcus* (Marmarek¹⁹⁾, für Milzbrand (Marmier²⁰⁾ und Influenza (Bruschettini²¹⁾).

Der Verlauf des ganzen pathologischen Processes sowohl, als auch der Charakter der Immunität, die dabei erworben wird, unterscheiden sich in keiner Weise von dem Verlauf und Charakter der Infection mit lebenden Bacterien, und diese vollkommene Identität zwingt uns zu der Annahme, dass sowohl die Ursache der Erkrankung, als auch die Reaction seitens des Organismus in beiden Fällen ebenfalls identisch sind; nun haben aber die Phagocyten bei der Intoxication mit Bacteriengiften nichts zu zerstören und wenn nicht ihrerseits irgend eine chemische Beeinflussung der Toxine zugegeben werden soll, so muss man ihre Thätigkeit in diesem Falle wohl gleich Null setzen. Es ist also klar, dass gleichzeitig mit der Aufnahme der Bacterien durch die Phagocyten im inficirten Organismus ein chemischer Vorgang sich abspielt und zwar ist derselbe, wie auf Grund bereits vorhandener Angaben zu erwarten, ein sehr complicirter, dessen Resultat eben den Ausgang des Kampfes des erkrankten Organismus mit den in denselben eingedrungenen Mikroorganismen bestimmt.

Die hierbei in Betracht kommenden chemischen Einflüsse werden zum Theil hinreichend erklärt durch die Lehre von den bactericiden Eigenschaften des Blutes und anderer Körperflüssigkeiten und zwar nicht nur des immunisirten, sondern auch, wenn auch in geringerem Maasse, des für die Infection empfänglichen Organismus.

Diese von Fodor²²⁾ aufgebrachte und von Flüge²³⁾, Nuttall²⁴⁾, Nissen²⁵⁾ und besonders von Buchner²⁶⁾ und Hankin²⁷⁾ verarbeitete Lehre erfuhr in der letzten Zeit eine glänzende Bestätigung durch die Arbeiten von Pfeiffer²⁸⁾, Metschnikoff²⁹⁾ und ihren Mitarbeitern.*) Indem aber diese Theorie das Zugrunde-

*) Es ist bemerkenswerth, dass Buchner ebenso wie Hankin, die die bactericide Wirkung des Blutserums erforschten, zu dem Schlusse kamen, dass die antibacteriellen Stoffe, die von Buchner Alexine benannt wurden, zelligen (aus den Leukocyten) Ursprungs seien. Auch Pfeiffer und Metschnikoff nehmen einen zelligen Ursprung dieser Stoffe an. Diese Resultate rechtfertigen somit die von Buchner ausgesprochene Hoffnung einer möglichen Einigung der cellulären und humoralen Theorien der Immunität auf dieser Basis.

gehen der Mikroben selbst im normalen und im immunisirten Organismus erklärt, giebt sie keine Antwort auf die Frage über die Art und Weise des Kampfes des Körpers gegen die bacteriellen Gifte.

Die berühmte, hauptsächlich von Behring und seinen Mitarbeitern (1 u. 30) entwickelte Theorie von den Antitoxinen kommt der letzteren Frage näher. Auf die Bildung der Antitoxine im Blute der immunisirten Thiere führte eben Behring anfangs das Wesen der erworbenen Immunität zurück, aber es erwies sich recht bald, dass zwischen der antitoxischen Kraft des Serums und der Immunität des Thieres dem Gifte gegenüber kein Parallelismus besteht. So fand Behring^{30d)} selbst, dass die Thiere, welche ein stark antidiphtheritisches Serum zu liefern begonnen hatten, gleichzeitig selbst empfindlicher dem Diphtheriegifte gegenüber sind als normale Thiere (darin stimmen alle Forscher überein); andererseits aber, dass Pferde, welche im Laufe einer langen Zeit zur Darstellung des antidiphtheritischen Heilserums gebraucht wurden, ein Product mit einem minimen Antitoxingehalt zu liefern anfangen, selbst aber so immun wurden, dass es kein genügend starkes Gift gab, um bei ihnen irgend welche Reaction hervorzurufen.*)

Es ist bemerkenswerth, dass in dieser Periode die künstlich immunisirten Thiere sich der Infection gegenüber ebenso verhalten, wie die von Natur immunen: das Blut hat keine antitoxischen Eigenschaften und acquirirt nach einer neuen Infection keine solchen, und die Thiere bleiben dem Gifte gegenüber vollständig unempfindlich. Eine solche Immunität nennt Behring eine Gewebe-Immunität (histogene), zum Unterschiede von der Blut-Immunität (hämatogene). Also sind für das Eintreten einer echten, dauerhaften Immunität wiederholte Einführungen des Giftes in den Körper eines passiv immunisirten Thieres erforderlich, und zwar so lange, bis in den Zellen solche Veränderungen auftreten, welche sie unempfindlich gegen das Gift machen.**)

Somit zwingen beide humoralen Theorien — die der bactericiden und die der antitoxischen Wirkung des Blutes immunisirter Thiere logisch zu der Schlussfolgerung, dass die Zellenelemente des thierischen Organismus selbst als das wichtigste Element der Immunität angesehen werden müssen.

*) Auf das Nichtübereinstimmen der Antitoxität des Blutes mit der Immunität wiesen ebenso hin; für Tetanus Vaillard^{31b)}, für Schweinerothlauf Lorenz³¹⁾; für Cholera Pfeiffer^{28f, h)}, Ketscher³²⁾; für Tuberculose Bernheim³³⁾; für Rauschbrand Duenschmann³⁴⁾.

**) Dasselbe glaubt Centanni³⁵⁾ in Betreff der Hundswuth.

Directe Literaturangaben über die Schutzvorrichtungen des normalen Organismus sind bis jetzt ziemlich spärlich. Der grösste Theil derselben bezieht sich auf das Blut und das Blutserum, und nur wenige handeln von den Zellenelementen. Hericourt und Richet³⁶⁾ fanden, dass das Blut eines normalen Hundes, direct aus der A. carotis in die Bauchhöhle von Kaninchen transfundirt, die Entwicklung der Tuberculose bei ihnen hemmt. Dasselbe bestätigen Renan und Chenot³⁷⁾. Ogata und Jasuhara³⁸⁾ fanden (1890), dass das Blut natürlich immuner Thiere — des Hundes und des Frosches — Mäuse und Meerschweinchen gegen eine Infection mit Milzbrandbacillen schützt, und zwar bedarf es dazu nur sehr kleiner Quantitäten (etwa $\frac{1}{2}$ Tropfen Hundesblutes für eine Maus).

Von den meisten Autoren, die diese Versuche Ogata's wiederholten, werden aber seine Angaben widerlegt.*) Andere bemerkten nur eine gewisse, unbedeutende schützende Wirkung des Blutes von Natur immuner Thiere gegenüber einigen Infectionskrankheiten (Bonome⁴⁷⁾, Chenot und Pick⁴⁸⁾, Pansini⁴⁹⁾, Aronson⁵⁰⁾). Endlich erklären Metschnikoff und Roux⁵¹⁾ die hierbei beobachteten Erscheinungen durch die Phagocytose, Pane⁵²⁾ durch die Wirkung der Gase und die Alkalescentz des Blutes. Nur Hankin^{27b)} allein bestätigt Ogata's Angaben bezüglich des Rattenserums.

Viele Beobachtungen, besonders der letzten Zeit, sprechen aber für die Abwesenheit eines scharfen, principiellen Unterschiedes zwischen dem normalen Serum natürlich immuner Thiere und solcher, die demselben Mikroorganismus gegenüber empfänglich sind. Dies bezieht sich auf einige Krankheitsformen. So fand Abel⁹⁾ bei Wiederholung der Hankin'schen Versuche, dass auf den Milzbrand in gleicher Weise auch das Serum junger, für die Infection empfindlicher Ratten einwirkt. Bei der Diphtherie beobachtete ebenfalls Abel⁹⁾ die schützende Wirkung des Blutserums von Menschen, die an Diphtherie nie gelitten hatten, an Meerschweinchen (5 von 6 Thieren), was auch von Löffler⁵⁴⁾ auf dem Congress zu Budapest angegeben wurde. Wassermann⁵⁵⁾ fand dieselbe schützende Wirkung des normalen menschlichen Blutserums gegen die Diphtherie, die bei manchen Personen von der frühesten Kindheit beginnt und mit zunehmendem Alter immer öfter vorkommt. In Bezug auf Kinder bestätigt dies auch Orłowsky⁵⁶⁾. Bei der Cholera beobachteten die

*) Negative Resultate erhielten: Kitasato⁶⁾, Enderlen³⁹⁾, Petermann⁴⁰⁾, Serafini und Enriquez⁴¹⁾, Rudenko⁴²⁾, Lazarus und Weil⁴³⁾, Brandt⁴⁴⁾, Lorenz³¹⁾; der Letztere für den Schweinerothlauf; Roux und Vaillard⁴⁵⁾; für Tetanus, Kuprianoff⁴⁶⁾ für Diphtherie.

schützende Wirkung des normalen menschlichen Blutserums Klemperer^{14, 57)}, Lazarus⁵⁸⁾ und Issajeff^{28e)}. Metschnikoff⁵⁹⁾ meint, dass fast die Hälfte aller Europäer Blut mit gegen Cholera immunisirenden Eigenschaften besitzt. Pfeiffer und Issajeff^{28e)} beobachteten eine schützende Wirkung des Pferde-, Pfeiffer^{28b)} des Ziegenserums. Bei Typhus beobachteten Chantemesse und Vidal⁶⁰⁾ zuweilen eine prophylaktische und sogar eine heilende Wirkung normalen menschlichen Blutserums an Meerschweinchen. Dasselbe bestätigt Stern^{11, 61)}. Bei der Pneumokokkeninfection fand Foà⁶²⁾, dass normales Kaninchenserum oft eine schützende Wirkung auf Mäuse ausübt. Calmette⁶³⁾ fand unter 5 Hunden bei zweien ein Blutserum, welches das Gift der Cobra (*Naja tripudians*) neutralisirte.

Auf die Zellenelemente des Körpers, als die Quelle schützender Stoffe ist zum ersten Male von Wooldridge⁶⁴⁾ hingewiesen worden. Jeder wässerige Auszug irgend eines Organs (am besten der Thymus und des Hodens) stellt nach diesem Autor eine Lösung eines besonderen Eiweissstoffes — Gewebefibrinogen — dar. Wenn man auf derselben Milzbrandbacillen cultivirt*), so geht ihr Wachsthum sehr schwach von statten. Die filtrirte Cultur ist gar nicht virulent (die Bakterien selbst behalten ihre Virulenz) und bei Injection von 30 cem dieser filtrirten Flüssigkeit in die Vene eines Kaninchens wird eine Immunität gegen eine gleichzeitige Infection mit Milzbrand erreicht, die ungefähr 15 Monate anhält. Subcutane Injectionen führen nicht zum Ziel.

In der Voraussetzung, dass die Veränderungen im Gewebefibrinogen, welche durch die Mikroben hervorgerufen werden, im Organismus des Thieres auch ohne ihre Vermittelung entstehen können, versuchte der Verfasser Kaninchen direct vermittelt der gekochten Flüssigkeit zu immunisiren. Die wenigen von ihm angestellten Versuche zeigten nur eine Verzögerung des Todes Eintritts bei Milzbrand, aber dennoch gelang es ihm durch dieses Verfahren zwei Kaninchen zu schützen.

Wright⁶⁵⁾ wiederholte diese Versuche und erzielte für Anthrax in einigen Versuchen eine Lebensverlängerung, in anderen aber einen vollen Schutz des Organismus.

Indem Kitasato, Brieger und Wassermann⁶⁶⁾ in derselben Flüssigkeit die Mikroben von Tetanus, Cholera, Diphtherie, Typhus

*) Die Cultivirung muss auf der vorher gekochten Lösung geschehen, da sonst bei der intravenösen Injection eine Gerinnung des Blutes im ganzen Körper (bei Hunden nur in der Pfortader) erfolgt.

und Erysipelas züchteten, erhielten sie Resultate, die mit denjenigen von Wooldridge übereinstimmten. Bei den rein septicämischen Formen, wie Schweinerothlauf und Milzbrand, gelang die Immunisirung viel schwieriger; nach der schützenden Flüssigkeit musste das Thier anfangs mit einer kleinen, nicht tödtlichen Dosis der virulenten Cultur inficirt werden und erst danach wurde eine unbedingt tödtliche Dosis vertragen. Eine immunisirende Wirkung dieser Flüssigkeit an sich, ohne Züchtung irgend welcher Mikroorganismen, stellen sie vollkommen in Abrede.

Endlich erhielt Gramatschikoff⁶⁷⁾ bei der Wiederholung der Versuche von Wooldridge und Wright bei Milzbrand negative Resultate. Ebenso erfolglos war die Anwendung von frischen Säften, welche aus der zerriebenen Thymusdrüse und dem Hoden ausgepresst wurden.

Uspensky⁶⁸⁾ berichtete im Jahre 1892 über die schützende Wirkung der Brown-Séquard'schen Testikelemulsion bei Milzbrand, Rotz und sogar bei der Tuberculose. Sacharoff⁶⁹⁾ bestätigt, dass diese Emulsion zuweilen Schafe gegen Milzbrand schützt, bei Katzen aber gegen Rotz unwirksam ist.

Ferner wäre noch zu erwähnen, dass verschiedene schwächende Momente — Hunger, Müdigkeit u. s. w., die schon längst von den Klinikern als zu Infectionen prädisponirend angegeben sind, bereits eine experimentelle Bestätigung gefunden haben: Indem Charrin und Boger⁷⁰⁾ weisse Ratten durch eine 7stündige Bewegung in einem Eichhornrade ermüdeten, gelang ihnen eine Infection der Thiere mit Milz- und Rauschbrand sehr leicht. Canalis und Marpurge⁷¹⁾ fanden, dass Tauben und Hühner durch Hungern für die Milzbrandinfection empfänglich wurden, was auch Bacunin und Boccardi⁷²⁾ bestätigten. Nach Feser (citirt nach Metschnikoff)⁷³⁾ sind Ratten, die mit Brod ernährt werden, dem Milzbrand gegenüber empfindlicher, als diejenigen, die mit Fleisch gefüttert werden. Dies bestätigt Hankin^{27d)}. Das Eintauchen eines Huhnes, das mit Milzbrand inficirt in ein kaltes Bad (Pasteur), vernichtet seine Widerstandskraft (Wagner⁷⁴⁾). Jedwede Infection mit Mikroorganismen oder ihren Producten, auch eine solche, welche nicht tödtet, sondern zur Immunität führt, scheint ebenso den Vorrath des Körpers an gewissen Stoffen zu erschöpfen. So fanden Roux und Martin⁷⁵⁾, dass die gegen Cholera immunisirten Meerschweinchen gegenüber einer nachfolgenden Infection mit Tetanus empfindlicher sind als die normalen Thiere. Pfeiffer^{28h)} constatirte dasselbe bei der Immunisirung von Meerschweinchen, die an Pseudotuberculose litten, gegen Cholera.

Die angeführten Angaben weisen darauf hin, dass der normale Organismus gegenüber einer bakteriellen Infection in einem stärkeren oder schwächeren Grade Widerstand leisten kann, je nach seinem Kräftezustand — individuelle Immunität.

Eine solche Immunität kann natürlich sowohl von einer ungleichen Spannung der physiologischen Functionen der Körperzellen im Allgemeinen abhängig sein, als auch von einem verschiedenen Vorrath derselben an besonderen, speciell gegen Infectionen schützenden Stoffen. Im ersteren Falle müssen alle Substanzen, welche die physiologischen Functionen der Organe stimuliren, z. B. die Testikel-emulsionen, nach Uspensky⁶⁵⁾, das Sperminum Poehl⁷⁶⁾ u. A., die Widerstandsfähigkeit des Organismus erhöhen. Im zweiten Falle kann die Widerstandsfähigkeit wohl nur durch künstliche Einführung schützender Stoffe erhöht werden, die aber erst entdeckt und dargestellt werden müssen. Eine Lösung dieser Frage war nur durch directe Versuche möglich.

Indem ich mich der letzteren Hypothese anschloss, musste ich mich entscheiden, wo ich die schützenden Stoffe suchen wollte; in den Körperflüssigkeiten oder in den Körperorganen, und wenn in den letzteren — dann in welchen?

Von den Körperflüssigkeiten musste natürlich das Blut in den Vordergrund gestellt werden, dessen Untersuchung um so nothwendiger erschien, als die Antitoxine gerade im Blute vorgefunden wurden, und der schützende Stoff höchst wahrscheinlich zu ihnen in einer nahen chemischen Beziehung stehen muss. Andererseits sind alle Körperflüssigkeiten Producte der Zellen und müssen alle Stoffe, die von den letzten geliefert werden, in sich enthalten. In dem Falle, dass der schützende Stoff zelligen Ursprungs wäre, hätte man wohl hoffen können, einen nur geringen Theil desselben im Blute zu finden, nicht aber seine eigentliche Quelle, d. h. die ihn erzeugenden Organe zu bestimmen. Ausserdem ist es eine längst bekannte klinische Thatsache, dass die Immunität, die nach irgend einer Infectionskrankheit — Typhus, Scharlach, Masern, Pocken u. s. w. eintritt, Jahrzehnte lang, ja während des ganzen Lebens des Individuums, das die Krankheit überstanden hat, dauern kann. In diesem Falle kann man wohl schwerlich annehmen, dass die Quelle einer so lange andauernden Widerstandsfähigkeit ein so veränderliches Medium, wie das Blut, sein könnte. Auch die parenchymatösen Veränderungen in der Leber, der Milz, den Nieren, die sämmtlichen Infectionskrankheiten eigen sind, weisen darauf hin, dass bei allen Infectionen in diesen Organen vornehmlich vor anderen starke reactive Erscheinungen vor sich

gehen, in denen sich auch der Kampf des Körpers mit dem Infektionsstoff äussern kann.

Infolge dessen entschloss ich mich, die Erforschung der Frage mit einer Untersuchung der Organe und vor allen der Leber und der Milz*) zu beginnen, da die Veränderungen in den Nieren bei den Infektionskrankheiten ausschliesslich durch die Ausscheidung verschiedener giftiger Stoffe bedingt sein könnte. Zu diesen beiden erschien es zweckmässig auch die Organe mit unaufgeklärter Function, die Schilddrüse**) und die Nebennieren hinzuzufügen. Die letzteren namentlich in Anbetracht der anatomischen Veränderungen, die bei Diphtherie (Roux und Jersin⁸⁹), Behring^{1b}), Wassermann und Proskauer⁹⁰) und Milzbrand (Bardach⁸⁶) in ihnen gefunden wurden.***)

Die Testikel wurden in die Zahl der zu untersuchenden Organe in Anbetracht des Interesses aufgenommen, welches damals (1892) durch die Mittheilungen Brown-Séquard's erweckt war.†) Die Thymus wurde in den Kreis der Untersuchungen nicht hineingezogen, weil sie beim Menschen mit zunehmendem Alter atrophirt, die Widerstandsfähigkeit aber gegen die Mehrzahl der Infektionskrankheiten zunimmt, woraus wenigstens folgt, dass sie kein für die Immunisirung des Körpers nothwendiges Organ ist.

Da jegliche Angaben über die Natur der schützenden Stoffe fehlten, so musste ich die Darstellungsmethode gleichsam im Dunkeln

---

*) Gamaleïa⁷⁷) wies darauf hin, dass die Toxine des V. Metschnikoff mit der zerriebenen Milz eines von Natur immunen Thieres (Kaninchens) gemischt, bei Körpertemperatur in 2—4 Stunden zerstört werden. Das Blutserum wirkt ebenso, aber schwächer. Diese Eigenschaft besitzt nach Gamaleïa's Meinung nicht die Milz allein, sondern auch andere Organe. Thiere, denen die Milz extirpirt wurde, verhalten sich zum Infektionsstoff wie die normalen. Gegen den ausschliesslichen Einfluss der Milz auf die Immunität sprachen sich desgleichen aus: Kurloff⁷⁸), Foà und Scabia⁷⁹), Kanthak⁸⁰), Fizzoni und Cattani⁸¹), Orlandi⁸²), Righi⁸³), Tiktin⁸⁴), Benario⁸⁵), Bardach⁸⁶) und Lubarsch⁸⁷). Montuori⁸⁸) bestimmte nur die antibacteriellen Eigenschaften des Blutes milzloser Thiere.

**) In seinen Infektionsversuchen mit Milzbrand bemerkte Bardach⁸⁶) bei zu Grunde gehenden milzlosen Hunden unter Anderem eine Vergrösserung und Hyperämie der Schilddrüse.

***) Ausserdem berichteten später Brown-Séquard⁹¹), Abelous und Langlois⁹²), Charrin und Langlois⁹³), Abelous⁹⁴) über die antitoxische Wirkung der Nebennieren. Charrin und Langlois⁹⁵) beobachteten eine Hyperämie und eine Vergrösserung dieser Organe bei Meerschweinchen nach einer Infection mit *B. pyocyaneus*; Ransom¹⁶) bei Cholera, Sanarelli⁹⁶) bei Typhus.

†) Bald darauf erschienen auch die Mittheilungen von Uspensky⁹⁸) über die schützende Wirkung der Testikelemulsion bei Milzbrand und Rotz

tappend erforschen. Die einzige wahrscheinliche Vermuthung, die gemacht werden konnte, war die, dass diese Stoffe in naher chemischer Beziehung zu den Antitoxinen, folglich auch zu den Bacteriengiften stehen müssten. Man konnte infolge dessen hoffen, ein Resultat ungefähr mit Hilfe derselben Methoden zu erzielen, welche von verschiedenen Forschern zur Darstellung der Antitoxine und Toxine benutzt worden waren. Andererseits machte Buchner auf die sehr labile Structur der antibacteriellen Stoffe des Blutserums, der Alexine, die ihren Eigenschaften nach sich dem lebenden Protoplasma nähern, aufmerksam. Die Möglichkeit war nicht ausgeschlossen, dass auch die schützenden Stoffe ähnlichen labilen Eiweissstoffen angehören. Infolge dessen fasste ich den Entschluss, mit den aller-einfachsten und schonendsten Methoden der Darstellung zu beginnen und vor allem die Wirkung einer Emulsion aus verriebenen frischen Organen mit physiologischer Kochsalzlösung zu untersuchen.

Da als Charakteristik des muthmaasslichen schützenden Stoffes nur die sog. physiologische Reaction, d. h. der Schutz, den er dem inficirten Organismus bietet, gelten konnte, so musste ich einerseits die eine oder die andere Bacterienform als Indicator der Wirkung des Stoffes und andererseits die für ähnliche Untersuchungen passendste Thierart wählen.

Um allen Missverständnissen vorzubeugen, schien es am geeignetsten, solche Thiere zu nehmen, die am meisten für den betreffenden Infectionsstoff empfindlich sind, der seinerseits die Thiere ganz sicher tödtet, mit möglichst minimen individuellen Schwankungen. Diesen Anforderungen entsprechen weisse Mäuse, die ausserdem manche Bequemlichkeiten infolge des kleinen Körpervolumens und der Schnelligkeit der Vermehrung bieten, weshalb es möglich war stets eine genügende Anzahl von Individuen von demselben Körpergewichte zu haben. Von den bacteriellen Krankheitsformen wurde die Mäusesepsikämie, als Repräsentant der rein infectiösen Formen und der Tetanus, als eine reine Intoxicationsform, gewählt. Beide zeichnen sich durch eine sichere und starke Wirkung auf Mäuse aus und unterliegen am wenigsten individuellen Schwankungen.

Um Wiederholungen zu vermeiden, halte ich es für nöthig hier voranzuschicken, dass sämtliche weiter unten geschilderten Manipulationen sowohl mit den schützenden Flüssigkeiten, als auch mit den giftigen Culturen immer streng aseptisch ausgeführt wurden.

Zur Darstellung der Emulsionen wurden in den ersten Versuchsreihen die Organe derselben weissen oder grauen (wilden) Mäuse genommen. Die Thiere wurden durch Decapitation getödtet. Leber, Milz, Hoden,

Schilddrüse und Nebennieren wurden über einzelnen Bechergläsern in Stücke geschnitten und sofort mit einem Glasstab unter Hinzufügen einer 0,7 proc. Chlornatriumlösung in denselben verrieben. Filtriren durch Glaswolle. Die Emulsionen hatten Milchconsistenz und wurden vor der Injection auf 35° C. erwärmt.

Die Versuche wurden mit Mäuseseptikämie begonnen, deren Cultur ich erhielt, indem ich faulendes Ochsenblut Mäusen subcutan einimpfte. Nach dem zweiten Versuche gelang es, aus dem Herzblute einer an der Infection verendeten Maus eine reine Cultur der Mäuseseptikämie zu erhalten, die bekanntlich sehr charakteristisch auf Gelatine wächst. Zweitägige Bouillonculturen wurden mit Wasser sehr stark verdünnt und 12 Mäusen von ungefähr gleichem Körpergewicht (Differenz bis zu 1½ grm) unter die Haut der Brust zu je 0,1 cem injicirt. Gleich darauf wurde 1,0 cem der entsprechenden Emulsion unter die Haut des Rückens eingeführt. Für jede Emulsion wurden 2 Mäuse genommen und zwei blieben als Controllthiere. Die Injectionen wurden auch nach der Infection wiederholt, im ganzen bis 6mal, täglich morgens und abends bis zum Tode des Thieres.

Die Resultate fielen ganz negativ aus: die so behandelten Thiere starben gleichzeitig oder sogar vor den Controllthieren. Das Einzige, was bemerkt werden konnte, war eine relative Munterkeit der Mäuse, die die Nebennierenemulsion erhielten, welche erst wenige Stunden vor dem Tode des Thieres der für die Mäuseseptikämie gewöhnlichen Mattigkeit Platz machte. In einer Versuchsreihe überlebte eins von den Thieren, die eine Leberemulsion erhielten, die anderen um 10 Stunden, in den anderen Versuchen lebten diejenigen Thiere etwas länger, die eine Milzemulsion erhielten. Bei Anwendung der Schilddrüse und der Testikel starben sie im Gegentheil immer vor den Controllthieren.

Infolge des so misslungenen Anfangs beschloss ich bei der Fortsetzung der Untersuchungen mich des Tetanus zu bedienen in der Voraussetzung, dass die Bedingungen für die Infection hier einfacher sind — es handelt sich hier um eine reine Intoxication —, während die Dosirung genauer sein kann.

Aus äusseren Gründen konnten die Versuche erst Januar 1893 begonnen werden. Die eine Tetanuscultur erhielt ich von Kral aus Prag, die andere aus dem hiesigen Kais. Institut für Experimentalmedicin.*) Es wurden 5—9 tägige Bouillonculturen (mit 2 Proc. Zucker), die unter Wasserstoff gezüchtet waren, benutzt. Unter die Haut wurde immer eine

---

*) Diese letztere Cultur verdanke ich der Liebenswürdigkeit der Frau Dr. N. K. Schultz, der ich auch hiermit meinen tiefen Dank ausspreche.

sicher tödtliche Dosis injicirt, die eine jede weisse Maus von 20 g Gewicht in 3—5 Tagen (Behring) tödtet.*) Für die Prager Cultur betrug sie 0,0005 ccm, für diejenige aus dem Institut 0,0002 ccm. Die letztere wurde auch fast ausschliesslich benutzt. Da die giftige Cultur allmählich schwächer wird, sogar wenn das Glas fest verkorkt und im Eisschrank bei Ausschluss von Licht aufbewahrt wird, so musste vor einem jeden Versuche zuerst die Virulenz an Thieren geprüft werden. Diese mit einem grossen Aufwand von Zeit und Thieren verknüpfte Procedur wurde späterhin durch die Zubereitung des Infectionsmaterials nach dem Verfahren von Brieger und Ehrlich⁹⁷⁾ mit Erfolg vermieden: man impft die Bouillon in grossen Reagensgläsern, bis 100 ccm Capacität, die bis zur Hälfte gefüllt sind. Züchtung bei 36° unter Wasserstoff. Nach Lüftung des Korkens wird die Cultur sofort mit ungefähr gleichen Volumen Glycerin (bis zum Korken) übergossen, sorgfältig mit einem Glasstab gemischt, mit einem Pfropfen verkorkt, mit Guttaperchataffetas verbunden und in einen Eisschrank gestellt. Die Abschwächung der Virulenz ist nur in der ersten Woche bemerkbar, dann aber hält sie sich fast unverändert Monate lang. Es kam vor, dass ich mit einem und demselben Reagensglase fast 10 Monate arbeitete, wobei die Virulenz von 0,0005 auf 0,00065 ccm sank.

Die Bearbeitung der Organe wurde auch hier mit ihrer Emulgirung in physiologischer Kochsalzlösung begonnen. Dieselben wurden nur von gegen Tetanus empfindlichen Thieren genommen, hauptsächlich in Anbetracht der Behauptung Behring's^{1c, d)}, dass die empfindlichen Thiere leichter zu immunisiren sind und die Immunität von dem Grad der Reaction, die durch das Gift im Körper hervorgerufen wird, abhängig ist. Da die Aufgabe mehrere Organe auf ein Mal zu bearbeiten sehr complicirt ist, so war ich gezwungen, der Einfachheit wegen, mich blos auf die Leber, die Milz und die Nebennieren normaler Meerschweinchen zu beschränken. Das Thier wurde mittelst Durchschneidung der Medulla oblongata und darauf der Halsgefässe getödtet. Die Organe wurden, wie bereits oben angegeben, mit physiologischer Kochsalzlösung vermischt verrieben, die Emulsionen durch Glaswolle filtrirt, auf 35° C. erwärmt und sofort 1 ccm davon in die Bauchhöhle injicirt.**)

*) In der Arbeit von Behring und Frank^{30, 31)} wird als eine sicher tödtliche Dosis eine solche angesehen, die eine jede Maus in 3—4 Tagen tödtet, in einer späteren Arbeit von Behring und Knorr^{1d)} aber eine solche, die das Thier in 3—5 Tagen tödtet. Nun ist es aber eigentlich nicht ein und dasselbe. Die Differenz entspricht ungefähr 0,00001 ccm einer Bouilloncultur von gewöhnlicher Virulenz — eine sonst sehr unbedeutende Grösse, aber nicht für ein solches Gift, wie das Tetanustgift in Bezug auf Mäuse.

Es muss auch bemerkt werden, dass trotz des im Vergleich zu den anderen Giften kleinen individuellen Unterschiedes im Verhalten der Mäuse zum Tetanus, dennoch als eine seltene Ausnahme (2 von 1040 Thieren), besonders wenig empfängliche Individuen vorkommen, die nicht nur nicht zu Grunde gehen, sondern sogar bei solchen Dosen fast nicht erkranken, die für alle anderen Mäuse absolut letal sind.

**) Roger⁹⁸⁾ fand, dass die wässrigen Auszüge normaler Organe, bei Injection ins Blut von Kaninchen sich als giftig erwiesen (für die Leber 12—14 g

Tetanus geschah gleichzeitig mit der ersten Injection. Jede Gruppe bestand aus 2 Thieren, zur Controle wurden 4 Thiere genommen. Die Injectionen wurden je einmal täglich bis zum Tode des Thieres vorgenommen. Nach der Infection hat man für gewöhnlich nicht mehr als 3 Injectionen zu machen. Die Resultate fielen negativ aus. Bei Anwendung der Leberemulsion gingen die Thiere vor oder gleichzeitig mit den Controlthieren zu Grunde; bei Anwendung der Milz- und Nebennierenemulsion lebten einige etwas länger.

Ebenso erhielt ich negative Resultate bei Anwendung der Emulsionen aus den Organen weisser Mäuse und beim Inficiren nach 24 Stunden, d. h. gleichzeitig mit der zweiten Injection.

Bei denselben Emulsionen aus der Milz und den Nebennieren (die Leber wurde zum Zweck der Vereinfachung der Versuche bei Seite gelassen) zweimal 24 Stunden vor der Infection, d. h. gleichzeitig mit der dritten Injection erschien bereits eine schwache Andeutung einer schützenden Wirkung der Milz in der sechsten Versuchsreihe. Leider war hier infolge der Fehlerhaftigkeit der Berechnung der tödtlichen Dosis die Infection schwächer, als sie sein sollte, da eins von den 6 Controlthieren (17 Proc.) am Leben blieb. Von 8 Mäusen, die eine Milzemulsion erhalten hatten, blieben 4 (50 Proc.) am Leben. Sämmtliche 4 Thiere, die eine Nebennierenemulsion erhalten hatten, gingen zu Grunde.

In Anbetracht einer so schwachen, fast zweifelhaften Wirkung der Organe der kleinen Thiere, wurde die Milz und die Nebennieren sowohl, als auch das Blutserum des Pferdes untersucht.*) Die Injectionen wurden täglich zu 1 ccm in die Bauchhöhle gemacht. Die Infection geschah unter die Haut 1-, 2- und 3mal 24 Stunden nach Beginn der Injectionen. In allen folgenden Versuchen wurde entweder allen Controlthieren oder nur der Hälfte derselben in die Peritonealhöhle je 1 ccm sterilisirten Wassers injicirt, damit die Versuchsbedingungen gleich blieben. Es stellte sich dabei heraus, dass das Wasser, in die Bauchhöhle eingespritzt, ganz unschädlich ist; es wurde kein Unterschied in Bezug auf das Gift bei den Thieren, die das Wasser injicirt erhalten hatten, und den anderen Controlthieren beobachtet.

Die Emulsion und der Milzsaft, der aus dem auf einer Fleischhackmaschine verriebenen Organe ausgepresst wurde, erwies sich ganz unwirksam.

---

auf 1 kg Körpergewicht). Dies scheint sich aber nicht auf die intraperitonealen Injectionen zu beziehen. Nach der Berechnung kamen 50 g auf 1 Kilo Körpergewicht des Thieres; nun zeigten aber besondere Versuche, die zum Zweck einer Feststellung des Einflusses der Auszüge selbst angestellt wurden, dass sie unschädlich waren, wenigstens bestanden bei den Thieren gar keine Anzeichen einer Erkrankung weder sofort nach 7 Injectionen noch späterhin.

*) Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle dem Verwalter des St. Petersburger Pferde-Schlachthofes, Herrn Veterinärarzt N. P. Ssawwaitoff, meine tiefe Erkenntlichkeit auszusprechen, Dank dessen lebenswürdigem Entgegenkommen ich die Möglichkeit hatte, im Laufe von mehr als 2 Jahren die Organe von Pferden zu benutzen, die für mich unter möglichst aseptischen Cautelen aus der Leiche entfernt wurden.

Das Blutserum äusserte zuweilen gar keinen Einfluss, in einigen Versuchen aber bewirkte es eine unbedeutende Verzögerung des Todes-eintrittes bei den Thieren.

Der wässerige Auszug der Milz, welcher in der Weise erhalten wurde, dass die auf einer Fleischhackmaschine zerriebenen Organe mit Wasser infundirt im Laufe von 24 Stunden im Eisschrank blieben und darauf ausgepresst wurden, bewirkte schon öfter, wenn auch nicht immer, eine Verzögerung des Todeseintritts der Thiere.

Bei der überaus geringen Widerstandsfähigkeit der Mäuse*), dem Tetanusgift gegenüber, konnte eine solche Verzögerung des Todeseintritts schon als ein genügender Hinweis darauf gelten, dass es in den normalen Organen schützende Stoffe giebt. Es erübrigte dieselben zu isoliren oder zu concentriren, zu welchem Zwecke eine parallele Bearbeitung der Milz und der Nebennieren nach folgenden Methoden streng aseptisch unternommen wurde:

1. Die auf der Fleischhackmaschine zerkleinerte Milz (oder die Nebennieren) wurde mit Wasser bis zur Consistenz eines dünnen Breies gemischt, dann hierzu ungefähr $\frac{1}{3}$ Volumen der ganzen Masse Kalkwasser hinzugefügt, im Eisschrank auf 24 Stunden aufgestellt und dann dieses Infus ausgepresst. In diese Flüssigkeit wurde Kohlensäure bis zur Bildung eines starken Niederschlages hineingeleitet**), welcher abfiltrirt (sehr schwer), zwischen Filtrirpapier ausgepresst und durch kleine Mengen destillirten oder schwach alkalischen (kohlensaures Natron) Wassers, durch physiologische Kochsalzlösung oder Glycerin extrahirt wurde. Am wirksamsten erwies sich der mit destillirtem Wasser aus den Niederschlag gewonnene Auszug, welcher zuweilen Mäuse schon in 50 Proc. der Fälle (2 von 4) vor dem Tode schützte, obwohl das Resultat nicht genügend constant war. Es ist bemerkenswerth, dass wenn dieser Auszug im Laufe von 10 Minuten auf 60° C. erwärmt und von dem sich dabei bildenden Eiweissniederschlag durch Filtriren befreit wurde, er die Thiere besser schützte als der nicht erwärmte. Nach 15 Minuten langem Verbleiben in strömendem Wasserdampfe büsste der Auszug seine Eigenschaften nicht ganz ein, wenn er auch abgeschwächt wurde.

Hieraus muss man schliessen, dass der schützende Stoff aus den Lösungen mit dem Niederschlag mitgerissen wird, aber, wie die Untersuchungen des Filtrats von Kalkniederschlag ergaben, nicht vollständig. In der Mehrzahl der Fälle schützte dieses Filtrat sogar stärker, wodurch sich wahrscheinlich auch die Inconstanz in der Wirkung des Auszuges aus dem Kalkniederschlag erklärt, die von

*) Hinsichtlich der Empfänglichkeit dem Tetanus gegenüber nehmen Mäuse den zweiten Platz ein, ebenso wie die Ziege (Wladimiroff⁹⁹⁾). Empfindlicher als diese sind Meerschweinchen, worauf bereits Kitasato⁶²⁾ hingewiesen hatte. Wladimiroff hält die Meerschweinchen für 20mal empfindlicher als die Mäuse. Nach meinen (noch nicht abgeschlossenen) Versuchen ist ihre Empfindlichkeit nur $7\frac{1}{2}$ —8 mal grösser als diejenige der Mäuse.

**) Der mit Kalkwasser erhaltene Milzextract kann nicht direct verwandt werden, da er, offenbar infolge des Gehaltes an Kalksalzen, giftig ist.

der Menge des mit der ausfallenden Kreide mitgerissenen schützenden Stoffes abhängig ist.

Die weiteren Versuche zeigten, dass es am besten ist, die Milz mit destillirtem Wasser zu extrahiren mit einem nur geringen Zusatz von Kalkwasser ($\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$ Volumen der Masse), den Kalk mittelst Kohlensäure zu entfernen, die Flüssigkeit sofort im Laufe von 20 Minuten auf 55° zu erwärmen, den Kalk- und Eiweissniederschlag abzufiltriren und ungefähr 2 mal 24 Stunden in fliessendem Wasser zu dialysiren.

Der aus dem Kalkniederschlag mit 0,7 Proc. Kochsalzlösung hergestellte Auszug war unwirksam.

Der Glycerinauszug desselben Niederschlages wurde mittelst 5 Vol. 96° Alkohols ausgefällt, der Niederschlag in einem Strom trockener Luft bei Zimmertemperatur getrocknet und in einer geringen Menge Wasser gelöst. (Es löst sich nur ein Bruchtheil des Niederschlages.) Kein Resultat.

Der Versuch, eine grössere Menge des wirksamen Principes aus der Lösung zu fällen, indem ein stärkerer Niederschlag durch Zusatz von Kalkwasser zur Flüssigkeit während des Hineinleitens der Kohlensäure gebildet werden sollte, führte ebenfalls nicht zum Ziele, vielleicht infolge der damit verbundenen Vermehrung der Wassermasse, in welcher der schützende Stoff sich offenbar sehr leicht löst.

Der phosphorsaure Niederschlag, der durch Zusatz einer Lösung von phosphorsaurem Natron zum Kalkwasserauszug erhalten wurde, lieferte keinen schützenden Stoff bei Extrahirung mit schwach durch Essigsäure angesäuertem Wasser. Das letztere extrahirte auch aus dem Kreideniederschlag keine grössere Quantität davon, im Gegentheil, es wurde eine vollkommen unwirksame Flüssigkeit erhalten.

Der Kalkwasserauszug wurde mit Kohlensäure behandelt, vom Niederschlag getrennt und direct oder nach Condensirung im Vacuum bis zur Hälfte des ursprünglichen Volumens in eine fünffache Menge 96° Alkohol gebracht, in der Voraussetzung, dass der wirksame Stoff im Niederschlag oder Filtrat zu isoliren sei, aber statt einer Verstärkung resultirte eine abgeschwächte Wirkung. Bei Anwendung von Lösungen des Niederschlages blieben in den erfolgreichsten Versuchen blos 25 Proc. der Thiere am Leben. Das Filtrat war ganz unwirksam.*)

Etwas bessere Resultate werden scheinbar durch eine geringe Alkalinescenz des die Organe extrahirenden Wassers mittelst Natronlauge, mit nachfolgender Ausfällung durch Alkohol, erzielt. Jedoch wurde nach dieser Methode keine genügende Anzahl von Versuchen angestellt.

2. Die Organe wurden, wie auch früher, mit Wasser extrahirt, die ausgepresste Flüssigkeit mit einem Ueberschuss von Ammoniumsulfat behandelt, der Niederschlag abfiltrirt, in Filtrirpapier gepresst und in einer geringen Menge Wasser gelöst (nicht vollständig). Dialyse in fliessendem Wasser im Laufe von 3—7 Tagen (die letzten Spuren von Schwefelsäure

---

*) Das Ausfällen von Pferdeblutserum durch ein 5faches Volumen Alkohol lieferte einen starken Eiweissniederschlag, dessen wässriger Auszug (nach dem Austrocknen) vollkommen unwirksam war.

verschwinden sogar im Laufe dieser Frist nicht gänzlich). Zu dieser Zeit ist die Flüssigkeit schon dermaassen ungiftig, dass sie von den Thieren augenscheinlich gut vertragen wird, obwohl Spuren von Ammoniumsulfat sich doch bemerkbar machen, und zwar erwies sich eine solche dialysirte Flüssigkeit, die oft 25 Proc. Heilungen gab, zuweilen unwirksam. Wenn sie aber im letzteren Falle sehr vorsichtig, ohne Ueberschuss, mittelst einer schwachen Chlorbaryumlösung behandelt und nochmals im Laufe von 24 Stunden dialysirt wurde, so schützte sie die Mäuse. Hier wurde, höchst wahrscheinlich, die Wirkung durch das giftige Ammoniumsulfat maskirt.

Der Globulinniederschlag, welcher sich bei der Dialyse dieser Flüssigkeit bildet, wurde in 0,7 Proc. Kochsalzlösung gelöst und gleichzeitig geprüft. Derselbe erwies sich nichts weniger als wirksam — der Tod trat früher als bei den Controlthieren ein. Hier konnte theilweise das Chlornatrium die schädliche Wirkung ausüben, welches für Mäuse in einer concentrirten Lösung sehr giftig ist, aber, wie wir weiter unten sehen werden, auch in physiologischer Lösung bei täglicher Einführung eines Cubikcentimeters in die Bauchhöhle, nicht indifferent ist.

Die Lösung des durch Ammoniumsulfat erhaltenen Niederschlages wurde nach der Dialyse mittelst einer fünffachen Menge 96° Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde gepresst, getrocknet und in einer kleinen Menge Wasser gelöst. Oft zeigte er giftige Eigenschaften, im Allgemeinen war er unwirksam.

Weiterhin wurde die Methode der fractionirten Fällung der Eiweissstoffe versucht, die von Brieger und Cohn^{3b)} zur Darstellung des Tetanusantitoxins aus Milchserum angewandt wurde. Die zerkleinerte Milz oder die Nebennieren wurden im Eisschrank im Laufe von 24 Stunden mit destillirtem Wasser oder mit einem Gemisch von Wasser und Kalkwasser extrahirt. Pressen; Behandlung mit 30 Proc. Ammoniumsulfat. Der Niederschlag wurde filtrirt (sehr schwer), nach Möglichkeit zwischen Filtrirpapier gepresst, in Wasser gelöst und mit basisch essigsaurem Blei gefällt. Das Filtrat und das erste Spülwasser wurde durch einen Ueberschuss von Chlornatrium gefällt. Filtration; Fällung durch Ueberschuss von phosphorsaurem Natron. Filtration; Fällung durch Ueberschuss von Ammoniumsulfat. Sämmtliche drei Niederschläge wurden zwischen Filtrirpapier ausgepresst und in einer geringen Menge Wasser gelöst (in die Lösung geht nur ein Theil des Niederschlages, ausser dem letzteren durch Ueberschuss von Ammoniumsulfat entstanden, über). Die durchsichtigen, nur schwach gefärbten Lösungen wurden im Laufe von 24 Stunden dialysirt, abfiltrirt und zu Injectionen parallel mit der dialysirten Lösung des Niederschlages, der durch 30 Proc. Ammoniumsulfat gefällt war, gebraucht. Der letztere ist wenig wirksam. Fast indifferent erwies sich der Niederschlag durch Chlornatrium, besser — der phos-

phorsäure und am wirksamsten — der geringe Niederschlag, der durch Ueberschuss von Ammoniumsulfat gefällt war. *) In einigen Versuchen mit demselben erhielt ich 50 Proc. Genesungen. Seine Lösung zeigte keine einzige Reaction auf Eiweiss und auch nicht die Biuretprobe.

Im Allgemeinen ist aber dieses Verfahren in gegebenem Falle nicht gut anwendbar, da der schützende Stoff, wie es scheint, allmählich von allen Niederschlägen mitgerissen und auf diese Weise zerstreut wird und verloren geht. Die Versuche, das definitive Filtrat, welches nach Fällung durch einen Ueberschuss von Ammoniumsulfat rückständig bleibt, zu bearbeiten, stossen auf grosse Hindernisse, die durch die Menge von Salzen geboten werden, welche durch die Dialyse nicht genügend entfernt werden können. Versuche mit solchen Flüssigkeiten ergaben negative Resultate.

Modificirungen des Verfahrens in dem Sinne, dass der Wasserauszug direct einer fractionirten Fällung unterzogen wurde, angefangen mit essigsäurem Blei, und ebenso die fractionirte Fällung des mit einem gleichen Volumen Wasser verdünnten Glycerinauszuges der Organe, gaben keine besseren Resultate.

3. Die mit der Fleischhackmaschine zerkleinerten Organe wurden nach Hinzufügen einer unbedeutenden Menge Wassers (s. unten) mit einem gleichen Volumen Glycerin übergossen; die Masse wurde bei Zimmertemperatur 1—2 mal 24 Stunden lang infundirt, gepresst und durch Ueberschuss von Ammoniumsulfat gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt (sehr schwer), mittelst Filtrirpapier nach Möglichkeit ausgepresst, mit einer unbedeutenden Menge Wasser gemischt und dialysirt. Die letztere Procedur erfordert mehrere Tage, sonst ist die Flüssigkeit so giftig, dass sie die Thiere tödtet. Nach 7 Tagen tödtet sie die Mäuse schon nicht mehr, schützt sie aber schwach (nur zuweilen blieb eine Maus von vier am Leben).

Die nach der Dialyse abfiltrirte Flüssigkeit wurde direct oder nach vorausgegangener Condensirung im Vacuum in ein fünffaches Volumquantum 96° Alkohol gebracht. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mittelst Filtrirpapier ausgepresst, in einem Strom trockener Luft bei Zimmertemperatur vollständig getrocknet und in einer geringen Menge Wasser gelöst. In die Lösung geht nur ein Theil des Niederschlages über. Die filtrirte alkoholische Lösung wurde im Vacuum bis zur Trockne verdampft (bei einer Temperatur nicht über 30° C.) und ebenfalls in einer geringen (ein Viertel der ursprünglichen) Menge Wassers gelöst. Bei genügender Dauer der Dialyse schützte der Niederschlag in der grössten Anzahl der Versuche, wenn auch nicht mehr als in 25 Proc. Das Filtrat wirkte im Gegentheil gewöhnlich garnicht; die Entfaltung seiner Eigen-

---

*) Zuweilen ist der Niederschlag so gering, dass es kaum gelingt, etwas vom Filter zu sammeln.

schaften wurde offenbar durch die giftigen Beimischungen (Ammoniumsulfat?) gestört. So wurde das in einem Versuch unwirksame Filtrat aufs Neue 2 Tage lang dialysirt und erst dann offenbarte es seine schützenden Eigenschaften.

4. Am zuverlässigsten von allen bis jetzt geprüften Verfahren erwies sich das Extrahiren der Organe mittelst Glycerin und das Fällen der erhaltenen Flüssigkeit mittelst fünffachen Volumens 96° — noch besser absoluten — Alkohols. Hier stiessen wir auf folgende interessante Thatsache: die Flüssigkeit, die mittelst dieses Verfahrens zum ersten Male (September 1893) dargestellt wurde, erwies sich sehr wirksam. Die beiden Mäuse, die die Injection 3 Tage vor der Infection erhielten, blieben am Leben, von den 2 Mäusen, die die Injection 2 Tage vor der Infection erhielten, blieb eine am Leben und von den 2 Mäusen, die einen Tag vor der Infection, die Injection erhielten, ebenfalls eine. Die drei folgenden auf dieselbe Weise angestellten Versuche ergaben eine vollkommen unwirksame Flüssigkeit, so dass ich für einige Zeit dieses Verfahren aufgeben musste. Die Beobachtung aber, dass die Behandlung der Organe mit physiologischer Kochsalzlösung wenig befriedigende Resultate lieferte, ihr wässeriger Auszug aber ziemlich wirksam war, gab Veranlassung zu vermuthen, dass das Glycerin den wirksamen Stoff vielleicht nur in dem Falle extrahirt, wenn auf das Organ vorher oder gleichzeitig Wasser einwirkte, unter dessen Einflusse die Integrität der Zellen gestört wird, vielleicht aber löst sich der wirksame Stoff nur in wasserhaltigem und nicht in reinem Glycerin. Und in der That, wenn die Masse der zerkleinerten Organe vorher mittelst einer unbedeutenden Menge Wassers angefeuchtet und dann erst mit Glycerin übergossen wurde, so war die dargestellte Flüssigkeit immer mehr oder minder wirksam.

Zur Zeit wird die Darstellung auf folgende Weise vollführt: um von individuellen Verschiedenheiten der einzelnen Pferde unabhängig zu sein, nimmt man gleichzeitig die Milz von zwei oder drei Pferden, die aseptisch erhalten wird. Nachdem die Organe von Fett befreit sind, werden sie in Stücke zerschnitten und auf der Fleischhackmaschine zu einem Brei verrieben, welcher in grossen mit breiten angeschliffenen Stöpseln versehenen Gefässen gesammelt wird. Sofort wird etwas destillirtes Wasser hinzugefügt und die durchgeschüttelte dicke Masse mit gleichem Volumen Glycerin übergossen. Infundiren bei Zimmertemperatur im Laufe von 2mal 24 Stunden. Pressen. Die auf diese Weise erhaltene dunkelbraune Flüssigkeit wird in dünnem Strahl in eine fünffache Menge 96° Alkohol hineingegossen und sofort filtrirt. Der Niederschlag wird zwischen Filtrirpapierbogen ausgepresst und in einem Strom trockener Luft bei Zimmertemperatur getrocknet. Der vollständig trockene Niederschlag wird mit

10 Theilen Wasser gemischt. Zum Zweck einer vollständigen Quellung und Auflösung wird er in den Eisschrank auf 10—12 Stunden gebracht, dann die Flüssigkeit abfiltrirt. In die braune, ganz durchsichtige Lösung geht nur ein unbedeutender Theil des Niederschlages über. Wiederholtes Extrahiren mit Wasser des nicht gelösten Theiles liefert keinen wirksamen Stoff mehr. Ungeachtet der verschiedenen aseptischen Vorsichtsmaassregeln, kann die erhaltene Flüssigkeit dennoch zuweilen durch Microbien verunreinigt sein, welche sich in derselben ungehindert entwickeln und, wie es scheint, sehr rasch das wirksame Princip zerstören, was nicht selten die Ursache des Misslingens der Versuche war. Daher ist es nothwendig, die erhaltene Lösung zu sterilisiren, indem man sie in gewöhnlichen Probirgläsern im Laufe von 3 Tagen je 10 Minuten lang auf 55° C. erwärmt oder man erwärmt sie zum zweiten Male 6 Stunden und zum dritten Male 24 Stunden nach dem ersten Erwärmen. Das genügt vollkommen, um eine sterile Flüssigkeit zu erhalten. Die Lösung wird dabei etwas trübe. Weniger zuverlässig ist das Hinzufügen von Chloroform, wenn auch die schützenden Eigenschaften dadurch nicht beeinflusst werden.

Wird mit der Injection der auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeit 3 Tage vor der Infection begonnen und täglich zu 1 ccm injicirt, so werden hierdurch die Mäuse in der Hälfte der Fälle (50 Proc.) vor einer unbedingt tödtlichen Dosis von Tetanusgift in den meisten Versuchen geschützt. Es kam jedoch bis zur letzten Zeit, wenn auch immer seltener vor, dass mir die Extrahirung misslang. Die Ursache dafür bleibt unaufgeklärt.

Sehr zweckmässig erschien eine zweite Fällung der Flüssigkeit durch das fünffache Volumen absoluten Alkohols. Der mässige Niederschlag wird von Neuem getrocknet; in eine Lösung (4 Proc.) geht er fast vollständig über. Meist ist eine solche Lösung viel zuverlässiger, hinsichtlich ihrer Wirkung als die erste, aber in einigen wenigen Versuchen blieb der schützende Stoff zum grössten Theil in dem Alkoholfiltrat zurück. Wenn man dieses letztere im Vacuum bis zur Trockene verdampfte, so erhielt man einen gelblichen in Wasser leicht löslichen Rückstand, der die Mäuse in 50 Proc. der Fälle schützte.

Hieraus sieht man, dass das wirksame Princip durch Alkohol nicht vollständig gefällt wird. Bis jetzt ist es nicht gelungen, diesen Uebelstand bei der Darstellung zu beseitigen und es ist durchaus nothwendig, das erhaltene Product jedes Mal an Thieren (auf seine Wirksamkeit) zu prüfen.*)

Als Beispiel führe ich einen von den Versuchen (vgl. Tab. S. 210 u. 211) an, wo der schützende Stoff auf diese Weise extrahirt wurde.

*) Ausser dieser Methode, ist von den anderen am zuverlässigsten diejenige, nach der der schützende Stoff mit destillirtem Wasser mit Zusatz von Kalkwasser, wie ich bereits oben erwähnte, extrahirt wird.

Die überlebenden Mäuse Nr. 911, 913 und 916 wurden bis zum 13. April beobachtet, wo jegliche tonischen Contracturen fast gänzlich geschwunden waren. Sie wurden wieder in den Käfig gesetzt und leben bis jetzt. Wie aus der Tabelle ersichtlich, erhielt die Hälfte der Controlthiere Wasser in die Bauchhöhle injicirt, was auf den Ausgang der Erkrankung gar keinen Einfluss ausübte. Jede der zwei Gruppen der Thiere, die zum Experiment vorbereitet wurden, wurde ebenfalls in zwei Theile getheilt; die eine Hälfte erhielt Injectionen auch nach der Infection. Ein bemerkbarer Unterschied zwischen diesen Thieren und denjenigen, die nur 4 Injectionen erhalten hatten, war aber nicht vorhanden, ebenso wie in allen Versuchen, die nach demselben Plane ausgeführt wurden.

Das Incubationsstadium dauert in der Regel 24 Stunden. Zu Beginn des zweiten Tages ist eine deutliche Asymmetrie der hinteren Extremitäten wahrnehmbar (beim Aufheben der Thiere am Schwanz); die Erscheinungen des Tetanus entwickeln sich dann ziemlich rasch, die Thiere mit Schutzimpfung bleiben aber allmählich hinter den Controlthieren zurück, wenn auch bei ihnen die Vergiftungserscheinungen recht stark sind. Die Krankheit schreitet im Laufe von 6—7 Tagen fort, dann fangen im Genesungsfalle die Krämpfe an schwächer zu werden, obgleich die Erscheinungen des chronischen Tetanus, in Form von Contracturen der einen oder der anderen Extremität oder Verkrümmungen des Rückgrates recht lange — zuweilen bis zu drei Wochen — anhalten. *)

Da ich nun bei meinen Untersuchungen immer dieselbe oben geschilderte Erscheinung beobachten konnte, nämlich, dass der Organismus der Maus sich gegen die Infection zu schützen vermag, wenn das Thier eben die nach ganz bestimmten Methoden zubereiteten Flüssigkeiten erhält, während andere, ihren Bestandtheilen nach scheinbar den ersteren sehr ähnliche Flüssigkeiten, die aus denselben Organen, aber auf eine andere Weise dargestellt waren, vollkommen wirkungslos blieben, so konnte für mich weiter kein Zweifel bestehen, dass es sich hierbei um einen besonderen, speciellen Stoff handelt, der die Fähigkeit besitzt, den normalen Thierkörper gegen

---

*) Ich halte es für nothwendig, noch einmal darauf hinzuweisen, dass wenn die Versuche erfolgreich sein sollen, eine äusserst genaue Dosirung der minimalen sicher tödtlichen Dosis erforderlich ist. Bei der ungeheuer starken Wirkung des Tetanusgiftes auf Mäuse, kann der geringste Ueberschuss (bis zu 0,00001 ccm einer Bouilloncultur) den Tod aller Thiere zur Folge haben; eine Verkleinerung der Dosis innerhalb derselben Grenze kann das eine oder andere Controlthier am Leben erhalten.

22. März 12 h 40 m Nachm.	906 = 20,0 907 = 28,5 je 1,0 cem Wasser in die Bauchhöhle.	908 = 21,0 909 = 20,5	910 = 19,0 911 = 20,0 je 1,0 cem Flüssigkeit in die Bauchhöhle.	912 = 20,5 913 = 20,0	914 = 19,5 915 = 20,5 je 1,0 cem Flüssigkeit in die Bauchhöhle.	916 = 21,0 917 = 23,5
23. März 12 h 45 m Nachm.	906 = 20,5 907 = 17,5 Geburt je 1,0 cem Wasser in die Bauchhöhle.	908 = 21,0 909 = 21,0	910 = 19,0 911 = 20,0 je 1,0 cem Flüssigkeit in die Bauchhöhle.	912 = 21,5 913 = 20,0	914 = 20,0 915 = 19,5 je 1,0 cem Flüssigkeit in die Bauchhöhle.	916 = 22,0 917 = 25,0
24. März	Nr. 907 todt vorgefunden um 7 h Morgens. Gewicht = 16,5. 906 = 19,5	908 = 20,5 909 = 20,0	910 = 19,5 911 = 19,5	912 = 21,0 913 = 20,0	914 = 20,0 915 = 19,0	916 = 21,5 917 = 25,5
25. März	906 = 18,0 Nr. 908 verendet um 10 h 10 m Mor- gens. Gewicht = 18,0.	909 = 18,0	910 = 19,0 911 = 18,5	912 = 20,5 913 = 19,0	914 = 18,5 915 = 18,0	916 = 20,0 917 = 25,0
26. März	Nr. 906 u. 909 todt vorgefunden um 6 h Morgens. Gewicht Nr. 906 = 15,5 909 = 16,5		910 = 16,0 911 = 18,0	912 = 20,0 913 = 19,0	914 = 17,5 915 = 15,5	916 = 19,5 917 = 23,5
27. März	.....	.....	910 = 14,5 911 = 16,5	912 = 19,0 913 = 18,5	914 = 16,0 915 = 14,0	916 = 19,0 917 = 16,5 Geburt.
28. März	.....	.....			Nr. 915 todt vorgefunden um 4 h 30 m Nachmittags. Gewicht = 13,5.	
29. März	.....	.....	Nr. 910 todt vorgefunden um 7 h Abends. Gewicht = 14,0.		Nr. 914 todt vorgefunden um 7 h Abends. Gewicht = 15,0.	
	.....	.....	911 = 16,5	912 = 17,0 913 = 18,5	Nr. 917 todt vorgefunden um 10 h 50 m Abends. Gewicht = 16,0.	
	.....	.....	Nr. 912 todt vorgefunden um 7 h Abends. Gewicht = 15,5.		916 = 18,5	
	.....	.....	911 = 16,5	913 = 18,0	916 = 18,0	

1) Nr. 907 gravid.

2) Nr. 917 gravid.

das Tetanustoxin zu schützen, sei es dadurch, dass er auf das Toxin irgend eine Reaction ausübt, indem er dasselbe neutralisirt, sei es dadurch, was wahrscheinlicher ist, dass er die Reaction der Körperzellen verstärkt, deren sie unter normalen Bedingungen in einem geringeren Grade fähig sind, der nicht immer für einen erfolgreichen Kampf gegen das Virus genügt.

Dennoch waren hierzu zwei Einwände möglich:

Erstens fand Issajeff, dass nicht nur das Blutserum von gegen Cholera immunisirten Meerschweinchen, sondern auch das Serum von gesunden und an verschiedenen Krankheiten leidenden Menschen, Harn, Bouillon und andere Flüssigkeiten bei Injection in die Bauchhöhle den Meerschweinchen eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegen Cholera verleihen. Da bei meinen Versuchen die schützende Wirkung ebenfalls bei Injection von Flüssigkeit in die Bauchhöhle sich offenbarte, so konnte der Zweifel auftauchen, ob diese Erscheinung bei Tetanus nicht der von Issajeff bei Cholera beobachteten analog sei.

Um mir Klarheit in der Sache zu verschaffen, stellte ich parallele Untersuchungen über folgende Flüssigkeiten an, die täglich zu je 1,0 ccm in die Bauchhöhle injicirt wurden, wobei für eine jede Flüssigkeit 2 Thiere genommen wurden: Wasser, 0,7 Proc. Kochsalzlösung, Peptonbouillon, frisch gelassener Menschenharn*), Pferdeblutserum. Es erwies sich, dass diejenigen Thiere, die Wasser erhalten hatten, gegen Ende des 5. Tages starben, die mit Kochsalzlösung Behandelten — etwas früher und die mit Bouillon Behandelten 1—2 Tage früher zu Grunde gingen. Der Harn bewirkte, ebenso wie das Blutserum, eine Verzögerung des Todeseintritts um einen Tag.

Zweitens sprach Pöhl⁷⁶⁾ die Vermuthung aus, dass das Wesen des Selbstschutzes des Organismus bei Infectionen in einer Verstärkung der innerhalb der Gewebe stattfindenden Oxydation durch Spermin sei, wobei die Toxine stärker oxydirt und dadurch unschädlich gemacht wurden.

Die Richtigkeit dieser Theorie findet scheinbar eine Bestätigung in den Versuchen von Loewy und Richter¹⁰²⁾, die eine Heilung der mit Pneumokokken infectirten Kaninchen bei intravenöser Spermininjection beobachteten. Somit war die Vermuthung möglich, dass ich aus den Organen nichts Anderes als das Spermin extrahirt hätte, das eben die Mäuse gegen den Tetanus schützte.

Auf meinen Vorschlag hin, die in der Medicin gebräuchliche 2 proc. Lösung des salzsauren Spermin parallel mit der von mir dargestellten Flüssigkeit zu prüfen, stellte Prof. A. Pöhl mir in liebenswürdiger Weise nicht nur die erforderliche Menge seines Präparates zur Verfügung, sondern erbot sich auch, die Spermin-Reaction an Proben der von mir hergestellten Flüssigkeiten sowohl der wirksamen wie der unwirksamen,

---

*) Von der absoluten Unschädlichkeit der intraperitonealen Harninjectionen hatten sich, ausser Issajeff, Jawein¹⁰⁰⁾ an Kaninchen und Tuffier¹⁰¹⁾ an Hunden und Meerschweinchen überzeugt.

vorzunehmen. Ich benutzte hiermit die Gelegenheit, dem verehrten Professor meinen tiefsten Dank auszusprechen.

Für die empfindlichste Spermin-Reaction hält Pöhl die Oxydation des metallischen Magnium in einer Mischung der Sperminlösung mit Goldchlorid (die Mischung schäumt stark, einen Geruch nach Samen verbreitend). Diese Reaction wurde auch von ihm selbst in seinem Laboratorium in meiner Gegenwart am 28. Mai 1895 an mehreren von mir zugestellten Proben vorgenommen. Es ergaben sich folgende Resultate:

Methode der Darstellung der Substanz aus der Milz	Physiologische Wirkung	Sperminreaction
1. Glycerin-Alkohol; secundärer Niederschlag (den 27. Febr. 1895 erhalten)	Schwache Schutzwirkung	Viel Spermin
2. Kalkwasserauszug, nicht gefällt durch Kohlensäure. — Ammoniumsulfat (11. und 23. März 1895)	Schwache Schutzwirkung	Sehr viel Spermin
3. Glycerin-Alkohol; secundärer Niederschlag (11. März 1895)	Keine Wirkung	Viel Spermin
4. Extrahirung mit Kalkwasser, Fällung durch Alkohol. Filtrat (23. März 1895)	Keine Wirkung	Viel Spermin
5. Glycerin-Alkohol; erste Extrahirung des primären Niederschlags mit Wasser (13. Mai 1895)	Starke Schutzwirkung	Sehr viel Spermin
6. Derselbe Niederschlag zum zweiten Mal mit Wasser extrahirt (13. März 1895)	Keine Wirkung	Sehr viel Spermin
7. Glycerin-Alkohol; secundärer Niederschlag (13. Mai 1895)	Starke Schutzwirkung	Sehr wenig Spermin
8. Glycerin-Alkohol; secundäres Filtrat (13. Mai 1895)	Keine Wirkung	Sehr viel Spermin

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen erstens, dass die Spermin-Reaction fast in allen Flüssigkeiten scharf ausgesprochen war, mit alleiniger Ausnahme von Nr. 7, wo nur sehr wenig davon vorhanden war, und zwar war das gerade in dem Falle, wo die Schutzwirkung stark ausgesprochen war. Von den 4 Flüssigkeiten vom 13. Mai hatten 2 keine Wirkung und enthielten viel Spermin, die beiden anderen hatten eine starke Wirkung, die eine enthielt sehr viel Spermin, die andere — sehr wenig. Hieraus glaube ich den Schluss ziehen zu dürfen, dass das Spermin bei Tetanus gar keine schützenden Eigenschaften besitzt und nur eine wirkungslose Beimengung der Flüssigkeiten bildet.

Dieser Schluss wird auch durch drei Versuchsreihen bestätigt, die gleichzeitig mit dem Spermin und den schützenden Flüssigkeiten nach dem oben erwähnten Plan angestellt wurden. Eine 2proc. Lösung salzsauren Spermins wurde täglich zu je 1,0 cem in die Bauchhöhle injicirt, indem mit den Injectionen 3 Tage vor der Tetanusintoxication begonnen wurde. In den beiden ersten Versuchsreihen wurden je 4 Thiere zur Spermininjection verwandt, in der letzten Reihe nur 3 (und 4 Controlthiere). Alle mit Spermin behandelten Thiere starben gleichzeitig und einige von ihnen etwas früher als die Controlthiere (letzteres vielleicht unter dem Einfluss des Kochsalzes — das Spermin wird in physiologischer Kochsalzlösung gelöst).

Somit können weder die verschiedenen von Issa jeff angeführten Flüssigkeiten, noch das Spermin Pöhl's die Mäuse gegen Tetanus so schützen, wie die von mir dargestellte Substanz und daher muss man anerkennen, dass sie ganz specifisch und keinem der bisher bekannten Stoffe ähnlich ist.

Gegenwärtig ein Urtheil über die Natur des schützenden Stoffes zu fällen, ist sehr schwer, da, abgesehen von den anderen Flüssigkeiten, sogar der secundäre Alkoholniederschlag des Glycerinextractes der Milz, der, in Wasser leicht löslich, hierbei eine braune Flüssigkeit bildet, offenbar ein Gemenge von verschiedenen Substanzen — darunter auch Eiweissstoffen — ist, während der durch fractionirte Fällung, nach Bearbeitung mit Ammoniumsulfat erhaltene spärliche Niederschlag, der eine grosse physiologische Wirkung besitzt, sich in eine durchsichtige farblose Flüssigkeit auflöste, die nicht nur keine einzige Eiweissreaction, sondern auch keine Biuretreaction ergab.

Die Vermuthungen inbetreff der Eigenschaften des Stoffes lassen sich etwa folgendermaassen formuliren:

1. Der Stoff ist ein Bestandtheil der Organzellen und lässt sich wahrscheinlich erst nach Zerstörung der Integrität derselben durch das Wasser extrahiren. In den Organsäften ist derselbe fast gar nicht enthalten. Im Pferdeblutserum findet er sich in einer unbedeutenden Menge, die nur eine Verzögerung des Todeseintrittes der mit Tetanus inficirten Thiere zur Folge hat.

2. Der Stoff gehört nicht zu den Eiweissstoffen.

3. Eine Beimengung der letzteren — Albumine und Globuline — scheint sogar die Entfaltung der schützenden Eigenschaften zu beeinträchtigen.

4. Der Stoff verträgt eine wiederholte (3—4 malige) Erwärmung auf 55° und sogar 60° C. im Laufe von 10 Minuten. Eine 15 Minuten lange Erwärmung im Apparat mit strömendem Wasserdampf verringert die Wirksamkeit unbedeutend.

5. Er lässt sich nur sehr langsam dialysiren.

6. Der Stoff wird zum Theil, bei Weitem nicht vollständig, aus den Lösungen mit den Niederschlägen mechanisch mit fortgerissen.

7. Der Stoff ist leicht löslich in Wasser und in wasserhaltigem Glycerin. Durch wasserfreien Alkohol wird er gefällt. Von Chloroform wird er nicht beeinflusst, durch sehr schwache Alkalien nicht verändert, hingegen durch Säuren stark geschädigt, sogar wenn die Lösungen sehr schwach sind.

Ich wiederhole, dass die angegebenen Eigenschaften nur ver-

muthungsweise angeführt werden und nicht als endgültig festgestellt zu betrachten sind.

Aber nicht nur die chemische Natur, sondern auch die Methoden der Darstellung des schützenden Stoffes, ebenso wie seine Vertheilung in den verschiedenen Organen*) der für Tetanus empfänglichen und unempfindlichen Thiere, seine physiologischen Eigenschaften und seine Bedeutung in der Frage über die Immunität sind in der vorliegenden Arbeit nur berührt, und ein weiteres Studium derselben erfordert einen solchen Aufwand von Zeit und Mühe, dass die Kräfte eines einzelnen Menschen dazu nicht ausreichen. Dieser Umstand veranlasste mich auch zum grossen Theil meine, fürs Erste bescheidenen, Resultate zu veröffentlichen.

Meine ferneren Bestrebungen sind auf das Studium der Methoden, mit deren Hilfe eine möglichst vollständige Extrahirung und Concentrirung dieses Stoffes zu erlangen wäre, sowie auf die Erforschung seines Verhaltens anderen Krankheiten gegenüber, sowohl Intoxicationen wie die Diphtherie, wie reinen Infectionen, gerichtet. Bis jetzt sind in dieser Richtung nur drei Versuche mit Diphtherie an Meerschweinchen gemacht. Leider war die Infection bei allen Thieren eine zu starke, da die minimale sicher tödtliche Dosis nicht genau genug festgestellt worden war: die Controlthiere verendeten im Laufe von 30, 42 und 55 Stunden, was von der Dosis abhängig sein kann, die die kleinste tödtliche Dosis, welche Meerschweinchen in 4—5 Tagen tödtet (Behring 103, Theil 2, S. 14), mehrfach übertraf. Bei den mit dem schützenden Stoff behandelten Thieren wurde der Todeseintritt bei diesen Versuchen um 17 Tage 18 Stunden, 13 Tage 10 Stunden und 17 Tage 18 Stunden verzögert.

Vorliegende Arbeit ist im klinischen Laboratorium bei dem Lazareth des 1. Kadettencorps ausgeführt worden.

Literaturverzeichniss.

1. a) Behring und Kitasato, Deutsche med. Wochenschr. 1890. Nr. 49; b) Behring, Ebenda. Nr. 50; c) Derselbe, Die Blutserumtherapie. 1892. I. u. II. Leipzig; d) Behring und Knorr, Zeitschr. f. Hygiene. 1893. Bd. XIII. S. 407; e) Behring, Boer und Kossel, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 17 u. 18. —
2. Fraenkel, C., Berliner klin. Wochenschr. 1890. Nr. 49. — 3. a) Brieger, L. und Fraenkel, C., Ebenda. S. 241; b) Brieger, L. und Cohn, G., Zeitschr. f. Hygiene. 1893. Bd. XV. S. 1 u. 439; c) Brieger, L., Ebenda. 1895. Bd. XIX. S. 101. — 4. Tizzoni, G. und Cattani, J., a) Centralbl. f. Bacteriologie. 1891. Bd. IX. S. 189; b) Riforma med. 1891. S. 385 und 397. — 5. Vaillard, L., a) Comptes rendus de la soc. de biol. 1891. Vol. III. Sér. 9. p. 147 u. 462; b) Annales de l'Inst. Pasteur. 1892. p. 224 u. 385. — 6. Kitasato, a) Zeitschr. f. Hygiene. 1891. Bd. X. S. 267; b) Derselbe, Ebenda. 1892. Bd. XII. S. 256. — 7. a) Ehrlich, P. und Wassermann, Zeitschrift für Hygiene. 1894. Bd. XVIII. S. 239; b) Ehrlich, Kossel und Wassermann, Deutsche med. Wochenschr. 1894. S. 353. — 8. Fedoroff, S., Centralbl. f. Bacteriologie. 1894. Bd. XVI. S. 484. — 9. Abel, R., Ebenda. 1895. Bd. XVII. S. 36. — 10. Bitter, H., Zeit-

*) Ein besonderes Interesse muss hierbei die Leber bieten.

- schrift f. Hygiene. 1892. Bd. XII. S. 298. — 11. Stern, R., *a)* Deutsche med. Wochenschrift. 1892. S. 827; *b)* Zeitschrift f. Hygiene. 1894. Bd. XVI. S. 458. — 12. Bruschetti, A., *Riforma med.* 1892. No. 181. — 13. Beumer, O. und Peiper, E., *Zeitschr. f. klin. Medicin.* 1895. Bd. XXVIII. — 14. Klemperer, G., *Berliner klin. Wochenschr.* 1892. Nr. 32 u. 39. — 15. Pawlowsky und Buchstab, *Russkaja Medicina.* 1893. No. 8, 9, 18 u. 25; *Deutsche med. Wochenschr.* 1893. Nr. 22, 27 u. 31. — 16. Ransom, *Deutsche med. Wochenschr.* 1895. S. 457. — 17. Klemperer, G. und F., *a)* *Berliner klin. Wochenschr.* 1891. Nr. 39; 1892. Nr. 18; *b)* Klemperer, F., *Ebenda.* 1892. Nr. 13. — 18. Foà, P. und Bonome, A., *Zeitschr. f. Hygiene.* 1889. Bd. V. S. 415. — 19. Marmorek, A., *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1895. S. 593. — 20. Marmier, L., *Ebenda.* S. 533. — 21. Bruschetti, A., *Deutsche med. Wochenschr.* 1893. S. 790; *Riforma med.* 1893. S. 163. — 22. Fodor, J., *a)* *Archiv f. Hygiene.* 1886. Bd. IV. S. 129; *b)* *Centralbl. f. Bacteriologie.* 1890. Bd. VII. S. 753. — 23. Flügge, C., *Zeitschr. f. Hygiene.* 1888. Bd. IV. S. 208. — 24. Nuttall, G., *Ebenda.* S. 353. — 25. Nissen, F., *Ebenda.* 1889. Bd. VI. S. 488. — 26. *a)* Buchner, H., *Archiv f. Hygiene.* 1890. Bd. X. S. 84; *b)* Buchner u. Voit, Fr., *Ebenda.* S. 101; *c)* Buchner und Sittmann, *Ebenda.* S. 121; *d)* Buchner und Orthenberger, *Ebenda.* S. 149; *e)* Buchner, *Ebenda.* 1893. Bd. XVII; *f)* Derselbe, *Centralblatt für Bacteriologie.* 1891. Bd. X. S. 699; 709, 727. 1892. Bd. XII. S. 855; *g)* Derselbe, *Münchener med. Wochenschr.* 1891. Nr. 25 u. 26; 1892. Nr. 8; *h)* Derselbe, *Berliner klin. Wochenschr.* 1892. Nr. 19. — 27. Hankin, E. H., *a)* *Proceedings of the Royal society of London.* 1890. Vol. XLVIII; *b)* *The british med. Journal.* 1890. p. 65; 1891. Febr. 28; *c)* *Centralbl. f. Bacteriologie.* 1891. Bd. IX. Nr. 10 und 11; Bd. X. Nr. 11 u. 12; *d)* *Ebenda.* 1892. Bd. XI. Nr. 23; Bd. XII. Nr. 22 und 23; *e)* *Ebenda.* 1893. Bd. XIV. Nr. 25. — 28. *a)* Pfeiffer, R. und Wassermann, *Zeitschr. f. Hygiene.* 1893. Bd. XIV. S. 46; *b)* Wassermann, A., *Ebenda.* S. 35; *c)* Pfeiffer und Issajeff, *Ebenda.* 1894. Bd. XVII. S. 355; *d)* Pfeiffer, R., *Ebenda.* Bd. XVIII. S. 1; *e)* Issajeff, *Ebenda.* Bd. XVI. S. 258; *f)* Pfeiffer, R., *Ebenda.* S. 268; *g)* Derselbe, *Ebenda.* 1895. Bd. XIX. S. 75; *h)* Derselbe; *Ebenda.* Bd. XX. S. 198; *i)* Pfeiffer, R., *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. S. 898. — 29. Metchnikoff, E., *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895. p. 433; Bordet, J., *Ebenda.* S. 462. — 30. *a)* Behring und Frank; *Deutsche med. Wochenschr.* 1892. Nr. 16; *b)* Behring und Wernicke, *Zeitschrift f. Hygiene.* 1892. Bd. XII. S. 10; *c)* Behring, *Ebenda.* S. 1 u. 45; *d)* Derselbe, *Deutsche med. Wochenschr.* 1893. Nr. 48; *e)* Behring und Boer, O., *Ebenda.* 1894. Nr. 21. — 31. Lorenz, *Centralbl. f. Bacteriologie.* 1893. Bd. XIII. S. 357. — 32. Ketscher, Botkin's *Bohnitschnaja Gaseta.* 1894. No. 2, 3 u. 4 (russisch). — 33. Bernheim, S., *Centralbl. f. Bacteriologie.* 1894. Bd. XV. S. 654. — 34. Duenschmann, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. p. 403. — 35. Centanni, E., *Deutsche med. Wochenschr.* 1893. Nr. 44 u. 45. — 36. Hericourt, J. und Richet, Ch., *Comptes rendus de la soc. de biologie.* 1889. Vol. I. Sér. 9. p. 157; 1890. Vol. II. Sér. 9. p. 325; 1891. Vol. III. Sér. 9. 335; 1895. Vol. II. Sér. 10. p. 13. — 37. Renon und Chenot, *ibidem.* 1895. Vol. II. Sér. 10. p. 493. — 38. Ogata und Jasuhara, *Centralbl. f. Bacteriologie.* 1891. Bd. IX. S. 25 u. 597. — 39. Enderlen, *Münchener med. Wochenschr.* 1891. S. 320. — 40. Petermann, *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1891. p. 506. — 41. Serafini u. Enriquez, *Annali dell' Instituto d'Igiene speriment.* della R. Università di Roma. Nuova serie. 1891. Vol. I. — 42. Roudenko, *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1891. p. 515. — 43. Lazarus, A. und Weyl, Th., *Berliner klin. Wochenschr.* 1892. S. 1129. — 44. Brandt, O., *Inaug. Diss. Greifswald.* 1891. — 45. Roux, E. und Vaillard, L., *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1893. p. 65. — 46. Kuprianoff, *Centralblatt f. Bacteriologie.* 1894. Bd. XVI. S. 415. — 47. Bonome, *Riforma med.* 1891. p. 577. — 48. Chenot und Pick, *Comptes rendus de la soc. de biologie.* 1892. Vol. IV. Sér. 9. *Memoires.* p. 91. — 49. Pansini, S., *Beiträge z. pathol. Anatomie u. allg. Pathologie.* Bd. XII. S. 372. — 50. Aronson, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. Nr. 25 u. 26. — 51. Metchnikoff und Roux, *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1891. p. 479. — 52. Pane, N., *Rivista clin. e terap.* 1891. Vol. XIII. p. 481. — 53. Abel, *Deutsche med. Wochenschr.* 1894. *Vereins-Beilage.* Nr. 19. S. 151. — 54. Loeffler, *Centralblatt f. Bacteriologie.* 1894. Bd. XVI. S. 908. — 55. Wassermann, A., *Zeitschrift für Hygiene.* 1895. Bd. XIX. S. 408. —

56. Orłowsky, W., Deutsche med. Wochenschr. 1895. S. 400. — 57. Klemperer, G., Berl. klin. Wochenschr. 1892. Nr. 50; Ztschr. f. klin. Med. 1894. Bd. XXV. — 58. Lazarus, A., Berl. klin. Wochenschr. 1892. Nr. 43 u. 44. — 59. Metchnikoff, Annales de l'Inst. Pasteur. 1893. p. 403. — 60. Chantemesse u. Vidal, Ibidem. 1892. p. 755. — 61. Stern, Centralbl. f. Bacteriologie. 1894. Bd. XV. S. 335. — 62. Foà, P., Zeitschr. f. Hygiene. 1893. Bd. XV. S. 369. — 63. Calmette, A., Annales de l'Inst. Pasteur. 1895. p. 225. — 64. Wooldridge, L. C., Proceedings of the Royal society of London. 1887. Vol. XLII. p. 312; Archiv für Anatomie u. Physiologie. 1888. Physiol. Abth. S. 527. — 65. Wright, A., British med. Journal. 1891. p. 641. — 66. Kitasato, S., Brieger, L. und Wassermann, A., Zeitschrift für Hygiene. 1892. Bd. XII. S. 137; Wassermann, A., Deutsche med. Wochenschr. 1892. S. 369. — 67. Gramatchikoff, A., Annales de l'Inst. Pasteur. 1893. p. 812. — 68. Uspensky, Die heilenden Eigenschaften der Thierorgane. 1894. St. Petersburg (russisch). — 69. Sacharoff, P., Wratsch. 1893. No. 25 u. 26 (russisch). — 70. Charrin und Roger, Comptes rendus de la Société de biologie. 1890. Vol. II. Sér. 9. p. 34. — 71. Canalis u. Marpurgo, Centralbl. f. Bacteriologie. 1891. Bd. IX. S. 12. — 72. Bakunin und Boccardi, Riforma med. 1891. p. 445. — 73. Metchnikoff, E., Annales de l'Inst. Pasteur. 1890. p. 193. — 74. Wagner, K., Ibidem. p. 570. — 75. Roux und Martin, Ibidem. 1894. p. 609. — 76. Poehl, A., Wratsch. 1894. p. 1344 (russisch); Deutsche med. Wochenschr. 1895. Nr. 6 u. 30. — 77. Gamaleia, Comptes rendus de la Société de biologie. 1890. Vol. II. Sér. 9. p. 694; Le Bulletin méd. 1890. p. 1108. — 78. Kurlow, M., Wratsch. 1888. No. 45 u. 47 (russisch); Archiv f. Hygiene. 1889. Bd. IX. S. 450. — 79. Foà und Scabia, Gazzetta med. di Torino. 1892. No. 13, 14 u. 15. — 80. Kanthack, A., Centralbl. f. Bacteriologie. 1892. Bd. XII. S. 227. — 81. Tizzoni, G. und Cattani, J., Riforma med. 1893. p. 189; Deutsche med. Wochenschr. 1894. S. 134. — 82. Orlandi, E., Riforma med. 1893. p. 92. — 83. Righi, J., Ibidem. 1893. p. 170; 1894. No. 253. — 84. Tietin, J., Centralblatt f. Bacteriologie. 1894. Bd. XV. S. 840. — 85. Benario, Deutsche medic. Wochenschr. 1894. S. 8. — 86. Bardach, Annales de l'Inst. Pasteur. 1889. p. 577; 1891. p. 40. — 87. Lubarsch, O., Zeitschr. f. klin. Medic. 1891. Bd. XVIII. — 88. Montuori, A., Estratto dal Rend. della R. Accad. delle Scienze Fis. e Mat. 1892. Fasc. 7. — 89. Roux und Yersin, Annales de l'Inst. Pasteur. 1889. p. 273. — 90. Wassermann und Proskauer, Deutsche med. Wochenschr. 1891. S. 584. — 91. Brown-Séquard, Comptes rendus de la Société de biologie. 1892. Vol. IV. Sér. 9. p. 410. — 92. Abeloos, E. und Langlois, P., Ibidem. p. 165. — 93. Charrin und Langlois, Ibidem. 1894. Vol. I. Sér. 10. p. 411. — 94. Abeloos, J., Ibidem. 1895. Vol. II. Sér. 10. p. 458. — 95. Langlois und Charrin, Ibidem. 1893. Vol. V. Sér. 9. p. 812. — 96. Sanarelli, J., Annales de l'Institut Pasteur. 1892. p. 721; 1894. p. 193. — 97. Brieger u. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschrift. 1892. Nr. 18; Zeitschrift für Hygiene. 1893. Bd. XIII. S. 336. — 98. Roger, Comptes rendus de la Société de biologie. 1891. Vol. III. Sér. 9. p. 727. — 99. Wladimiroff, A., Zeitschr. f. Hygiene. 1894. S. 405. — 100. Javein, G., Wratsch. 1893. No. 7 u. 8 (russisch). — 110. Tuffier, La Semaine méd. 1890. No. 12 u. 26. — 102. Loewy, A. und Richter, P. F., Deutsche med. Wochenschr. 1895. S. 240. — 103. Behring, Gesammelte Abhandlungen. Bd. I. 1893 Leipzig.