VII.

Aus dem k. k. serotherapeutischen Institut zu Wien.

Untersuchungen über Diphtherie-Antitoxin und dessen Beziehungen zum Toxin.

Von

Priv.-Doc. Dr. **E. P. Pick** und Dr. **J. Schwoner**.

Die häufige Beobachtung, dass Pferde auf Injection von Diphtherietoxin unter Production von hochwerthigen Seren reagiren, während andere unter sonst gleichen Bedingungen selbst auf ganz colossale Dosen desselben Giftes keines oder nur minderwerthiges Antitoxin erzeugen, hat uns die Frage nahegelegt, ob sich nicht die zwei Arten von Immunseren von einander auch qualitativ unterscheiden. Es war voraussichtlich, dass ein Unterschied nur in feineren, sei es physikalischen oder chemischen Eigenschaften gelegen sein konnte, da nach allen bisherigen Erfahrungen in der Wirkungsweise beider Sera ein Anhaltspunkt für irgend ein Unterscheidungsmerkmal nicht vorlag. Wir hatten, angeregt durch unseren Chef, Herrn Professor Paltauf, vor kurzem auf ein merkwürdiges, unterschiedliches Verhalten hoch- und minderwerthiger Sera hingewiesen (1); dasselbe besteht darin, dass gerade die minderwerthigen Sera sich vielfach als beständig zeigen, während die hochwerthigen unmittelbar nach dem Aderlasse sehr beträchtliche Rückgänge aufweisen. Auf Grund dieser Beobachtung untersuchten wir nun, ob sich nicht Bedingungen auffinden lassen, unter denen ein exacterer Nachweis eines Unterschiedes dieser beiden Immunsерumarten zu führen wäre, als es die wohl nicht gut überschaubaren Verhältnisse einer kürzeren oder längeren Lagerung boten. Man musste da zunächst daran denken, ob nicht die Beziehungen beider Sera zum Toxin verschieden sich gestalten würden und es wurde dementsprechend versucht, in möglichst empfindlicher Versuchsanordnung das Verhalten verschiedener Diphtherieimmunsera gegenüber dem Diphtherietoxin zu studiren. Die Beziehungen des Toxins zum Antitoxin sind ja gerade in der letzten Zeit durch Ehrlich (2) und seine Schüler Morgenroth (3), v. Dungern (4), sowie H. Sachs (5), durch Gruber und Pirquet (6a), Bordet (6b), Arrhenius und Madsen (7), Eisenberg (8), Grassberger und Schattenfroh (9) vielfach erörtert worden.

Bei all diesen Untersuchungen mag es auffallen, dass hauptsächlich die Zusammensetzung des Toxins in Discussion stand und dass die zahlreichen zur Beobachtung gelangten Phänomene nahezu ausschliesslich von diesem Gesichtspunkt aus einer Beurtheilung unterzogen worden waren. Dieselbe war verschieden, je nachdem sich die Autoren für die Annahme einer einheitlichen oder complexen Natur des Toxins entschieden; das Antitoxin wurde dabei als constante Grösse eingeführt. Es scheint uns aus den vorliegenden Untersuchungen hervorzugehen, dass dieser Standpunkt nicht vollkommen berechtigt ist, zumal ja die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Antitoxins wohl berechtigen, dem letzteren eine viel complicirtere Zusammensetzung beizumessen, als dem Toxin. Denn alle bisherigen Erfahrungen weisen darauf hin, dass die Gifte bacteriellen Ursprungs eine bedeutend geringere Molekulargrösse besitzen, als die Antitoxine, deren inniger Zusammenhang mit den Globulinen des Blutserums aus zahlreichen Untersuchungen hervorgeht. Für die kleinere Molekulargrösse der Toxine sprechen nicht allein die Filtrationsversuche durch gelatinirte Chamberlandkerzen von Martin und Cherry (10), von Cobbett (11) und die Diffusionsversuche von Arrhenius und Madsen und neuerdings von v. Calcar (12), sondern auch die Isolirungsversuche, wie sie Brieger (13) am Tetanusgift, Jacoby (14) an dem den Bacteriengiften nahestehenden Ricin und vor allem in jüngster Zeit Faust (15) an dem Sepsin durchgeführt haben.

Ist man gezwungen, zahlreichen dieser Körper von relativ geringer Molekulargrösse eine bedeutende Labilität und wie Ehrlich vom Diphtheriegift meint, eine zum leichten Zerfall hinneigende Complexität zuzuerkennen, so wird es nicht überraschen, wenn auch der bedeutend grössere Molekularecomplex des Antitoxins unter Umständen Veränderungen aufweist, die uns erst durch eine Aenderung seiner Reactionsfähigkeit mit dem Toxin erkennbar werden. Wir untersuchten daher, ob sich nicht verschiedene Immunsera bei ihrer Absättigung durch ein und dasselbe Toxin verschieden verhalten und hoffen auf Grund derartiger Studien, die wir weiter zu führen beabsichtigen, einige neue Thatsachen zur Beurtheilung der Beziehungen des Toxins zum Antitoxin beizubringen und mittelbar zu einem besseren Verständniss der chemischen Natur des Antitoxins zu gelangen.

I. Versuchstechnik.

Die Auswerthung der Immunsera, der Toxine und der Gemenge erfolgte nach den von Ehrlich gegebenen Vorschriften. Als Toxine wurden zwei carbolisirte Gifte verwendet, welche beide Testgifte des Institutes darstellten und, wie zahlreiche Controlbestimmungen zeigten, während der ganzen Versuchsdauer ihre Wirksamkeit nicht wesentlich änderten. Ihre Constitution geht aus folgenden Daten hervor:

Toxin M: Dosis let. simpl. 0,008 cem, Dos L_0 0,40 cem, Dos L_+ 0,45 cem,
Toxin B: Dosis let. simpl. 0,017 cem, Dos L_0 0,70 cem, Dos L_+ 0,74 cem.

Die Ermittlung dieser Daten erfolgte mit Hülfe eines Testserums,

das dem hiesigen Institute von dem Kgl. preussischen Institute für experimentelle Therapie in Frankfurt freundlichst überlassen worden war. Die Auswerthung der Immunsera geschah in bekannter Weise mittels der L_{+} -Dosis, und zwar derart, dass nach der im hiesigen Institute gepflogenen Uebung nicht der eben vor dem Tode schützende Werth, sondern der Glattwerth als Grenzwert angenommen worden war. Die Auswerthung der Gemenge ist aus den Protokollen zu ersehen; in manchen Fällen konnte auf die genauere Ermittlung des Glattwerthes verzichtet werden, da bereits die Bestimmung der Grenzwerthe genügende Anhaltspunkte für die Abschätzung der Antitoxinmenge und der relativen Grösse des Unterschieds in den Gemengen einer und derselben Versuchsreihe bot. Als Versuchsthiere dienten Meerschweinchen im Gewichte von 240—260 g.

Die Herstellung der Gemenge erfolgte in der Weise, dass die berechnete Toxinmenge und zwar des Toxins M zu dem im sterilen Kölbchen mit fein graduirten Pipetten abgefüllten Antitoxin zugesetzt worden war. Diese Mischungen wurden dann durch Zusatz von gewöhnlicher steriler Bouillon auf gleiches Volumen gebracht, sodass die Concentration der Lösungen derselben Versuchsreihe eine gleiche war. Die beschickten Kölbchen blieben in den ersten Versuchen 24—48 Stunden und länger im Brutschrank; später, als sich ergeben hatte, dass die Dauer der gegenseitigen Einwirkung für den Endzustand der Mischung nicht von sonderlicher Bedeutung sei, gelangten die Gemenge unmittelbar nach ihrer Herstellung oder nach $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen bei Zimmertemperatur zur Untersuchung.

Die Immunsera waren durchaus solche, welche nach dem Aderlasse mindestens $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Jahre, zumeist jedoch bedeutend länger aufbewahrt worden waren, sodass ein sprungweiser Rückgang des Antitoxinwerthes, wie er unmittelbar nach dem Aderlasse zuweilen vorkommt, nicht zu befürchten war. Es braucht nicht hervorgehoben zu werden, dass natürlich der Titer der Ausgangsimmunsera während und auch nach Ablauf der Versuchszeit genau controlirt wurde.

Benutzt wurden Immunsera der verschiedenartigsten Werthigkeit, die alle von dem hiesigen Institute bezogen waren und Pferden entstammten, die durchaus gleichartiger Behandlung unterworfen waren. Doch ist die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass sich dennoch gewisse Unterschiede, die uns vorläufig unbekannt sind und daher bislang unbeachtet blieben in dem Verhalten der Versuchsthiere ergeben könnten.

Dem Versuchsplane entsprechend kamen für uns zunächst solche Toxin-Antitoxingemenge in Betracht, bei denen die Antitoxincomponente im Ueberschusse vorhanden war, also sogenannte übercompensirte Gemenge. Dabei wurden in den hier durchgeführten Versuchen stets relativ grosse Toxin- und Antitoxinmengen verwendet. Die in den Gemischen zur Anwendung gebrachten Antitoxinmengen schwankten zwischen 150, 400—500 und 1200 AE; in einem Versuche betrugen sie 1300 AE. Die partielle Absättigung mit Toxin erfolgte derart, dass entweder die Hälfte oder ein Achtel bis ein Zehntel der berechneten Antitoxinmenge an Toxineinheiten zugefügt wurden, so dass im ersteren Falle die doppelte Antitoxinmenge (einfach übercompensirte Gemenge), im letzteren

Fälle die acht-, neun- und zehnfache Antitoxinmenge (mehrfach übercompensirte Gemenge) mit dem Toxin in Reaktion kam.

Das Verhältniss der Toxinmenge zur Antitoxinmenge blieb in ein und derselben Versuchsreihe ein ungefähr gleiches. Den Versuchen mit übercompensirten Mischungen schliessen sich endlich solche mit neutralen Mischungen an. Es erhellt aus der skizzirten Versuchsanordnung, dass dieselbe in der verschiedensten Weise variirt werden kann. Die Ursache, dass dies in der wünschenswerthen Weise bisher von uns nicht geschehen ist, liegt in dem zu den Versuchen erforderlichen grossen Thiermateriale.

II. Versuche.

A. Versuche mit übercompensirten Gemengen. .

1. Versuchsreihe.

Einfach übercompensirte Gemenge: Verhältniss von JE : TE wie 2 : 1, bei einer Antitoxinmenge von 400 -495 JE von 150-, 300- und 400 fachen Immunseren.

Am 19. Januar 1904 werden folgende drei Mischungen angelegt:

- 1) Mischung I enthält 450 JE eines 150 fachen Serums α und 122 L₊-Dosen des Toxins M in 103 cem.

Tabelle I.

Versuchsnummer	Nummer der Mischung	Verwendete Menge der Mischung i. cem	Toxin	Gewicht des Versuchstieres in g	Resultat der Prüfung
1	I.	1	—	250	Bleibt glatt.
2	I.	1	L ₊ des Toxins B	240	do.
3	I.	0,5	do.	260	Kleines Infiltrat, das sich in 2 Tagen völlig resorbirt, Gewichtszunahme.
4	I.	0,5	do.	250	Bleibt glatt.
5	II.	1	—	250	do.
6	II.	1	—	250	do.
7	II.	1	Dos. let. simpl. des Toxins M (0,008)	250	do.
8	II.	1	10 f. D. l. s. des Toxins M (0,08)	250	do.
9	II.	1	L ₊ des Toxins B	240	Tod am 2. Tage.
10	II.	2	do.	240	Infiltrat mit Nekrose. Tod am 6. Tg.
11	II.	3	do.	250	do.
12	II.	3	L ₊ des Toxins M	240	Grosses Infiltrat, Tod am 3. Tage.
13	II.	4	L ₊ des Toxins B	260	Infiltrat, das sich ohne Nekrose resorbirt, nach 17 Tagen tritt Lähmung ein, nach weiteren 7 Tg. Tod.
14	III.	1	—	240	Bleibt glatt.
15	III.	1	—	250	do.
16	III.	2	—	260	do.
17	III.	1	Dos. let. s. des Toxins M (0,008)	240	do.
18	III.	1	L ₊ des Toxins B	250	Tod am 2. Tage.
19	III.	2	do.	250	Infiltrat mit schwerer Nekrose.
20	III.	3	do.	250	Infiltrat m. Nekrose. Tod am 16. Tage.
21	III.	3	L ₊ des Toxins M	250	Grosses Infiltrat mit nach 21 Tagen folgender Lähmung.
22	III.	4	L ₊ des Toxins B	240	Grosses Infiltrat, nach 3 Wochen Lähmung, 1 Woche später Tod.

2) Mischung II enthält 495 JE eines 300 fachen Serums α und 222 L₊-Dosen des Toxins M in 101,65 cem.

3) Mischung III enthält 400 JE eines 400 fachen Serums α und 222 L₊-Dosen des Toxins M in 101 cem.

Alle 3 Mischungen bleiben 2 Tage im Brutschrank und werden hierauf in der Dunkelkammer bei Zimmertemperatur gehalten. Die Resultate der Prüfung sind aus den Daten der Tabelle I zu entnehmen:

Der besseren Uebersicht wegen seien die aus den vorliegenden Thierversuchen berechneten Resultate nachfolgend zusammengestellt:

Tabelle II.

No.	Werthigkeit des verwendeten Antitoxins	Nummer der Mischung	Berechnete Antitoxin- menge	Gefundene Antitoxinmenge
1	150 f. Serum α	M I.	228	Mindestens 206
2	300 f. „ α	M II.	273	Weniger als 25
3	400 f. „ α	M III.	178	Weniger als 25

2. Versuchsreihe.

Mehrfach übercompensirte Gemenge: Verhältniss von JE:TE wie 9:1, bei einer Antitoxinmenge von 450 JE, von 150—250 fachen Diphtherieimmunsereen.

Am 26. März und 14. April 1904 wurden nachfolgende Gemenge hergestellt:

- 1) Mischung IV aus 450 JE des in der 1. Versuchsreihe verwendeten 150 fachen Serums α und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 25,5 cem.
- 2) Mischung V aus 450 JE des 150 fachen Serums β und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 25,5 cem.
- 3) Mischung VI aus 450 JE eines 200 fachen Serums α und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 25 cem.
- 4) Mischung VII aus 450 JE eines 250 fachen Serums α und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 24,5 cem.

Tabelle III.

No.	Mischung	Menge der Mischung	Toxin	Gewicht d. Versuchs- thiere g	Resultat der Prüfung
1	IV.	0,1275	L ₊ Dosis des Toxins B	250	Bleibt glatt.
2	IV.	0,0841	do.	250	Dito.
3	IV.	0,0637	do.	250	Hartes Infiltrat, das sich resorbiert. nach 8 Wochen tritt leichte Lähmung ein.
4	V.	0,064	do.	250	Kleines Infiltrat, das sich nach einigen Tagen resorbiert.
5	VI.	0,084	do.	250	Bleibt glatt.
6	VI.	0,064	do.	250	Grosses Infiltrat, das sich ohne Nekrose resorbiert.
7	VII.	0,084	do.	250	Bleibt glatt.
8	VII.	0,064	do.	250	Infiltrat, das in einen Strang über- geht.

Die Lösungen wurden sofort der Prüfung unterzogen.

Die aus den Gemengen auf Grund der Mischungsverhältnisse berechneten Grenzwerte für die einer Immunitätseinheit oder einer L₊-Dosis entsprechenden Mengen müssten betragen:

für Mischung IV und V . . . 0,0637 cm
 " " VI 0,0625 "
 " " VII 0,061 "

Die durch die Versuche ermittelten Grenzwerte zeigen in der That eine genügend gute Uebereinstimmung mit den geforderten Zahlen, wie aus nachfolgender Tabelle hervorgeht:

Tabelle IV.

No.	Werthigkeit des verwendeten Antitoxins	Mischung	Berechnete freie Antitoxinmenge der Mischung	Gefundene freie Antitoxinmenge der Mischung
1	150 f. Ser. α	IV	400	nahezu 400
2	150 f. Ser. β	V	400	do.
3	200 f. Ser. α	VI	400	ca. 390
4	250 f. Ser. α	VII	400	ca. 382

3. Versuchsreihe.

Mehrfach übercompensirte Gemenge: Verhältniss von JE:TE wie 10:1, bei einer Antitoxinmenge von 400—500 JE von 300 und 400 fachen Immunseren.

Mischungen vom 20. April 1904. Dieselben waren folgendermaassen zusammengesetzt:

- 1) Mischung VIII bestand aus 500 JE des 300 fachen Serums β und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 24,15 cm.
- 2) Mischung IX bestand aus 500 JE des 400 fachen Serums β und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 23,75 cm.

Tabelle V.

No.	Mischung	Menge der Mischung in cm	Toxin	Gewicht des Versuchstieres in g	Resultat der Prüfung
1	VIII	0,11	L ₊ Dosis des Toxins B	260	Bleibt glatt.
2	VIII	0,1	do.	260	do.
3	VIII	0,097	do.	250	Grosses Infiltrat, das sich demarkirt und resorbirt; nach 3 Wochen Lähmung.
4	VIII	0,094	do.	250	Toxintod am 2. Tage.
5	VIII	0,064	do.	240	do.
6	IX	0,064	do.	240	Infiltrat, das sich resorbirt
7	X	0,094	do.	250	Grosses Infiltrat mit nachfolgender Nekrose.
8	X	0,064	do.	240	Tod am 2. Tage
9	XI	0,11	do.	260	Bleibt glatt.
10	XI	0,10	do.	250	Grosses Infiltrat mit nachfolgender Nekrose.
11	XI	0,094	do.	260	Toxintod am 2. Tage.
12	XI	0,064	do.	240	do.

Die aus den Gemengen auf Grund der Mischungsverhältnisse berechneten Grenzwerte für die einer Immunitätseinheit oder einer L ₊ -Dosis entsprechenden Mengen würden sich stellen		Die gefundenen Werthe betragen dagegen
für Mischung VIII	0,053 cem	0,097—0,1 cem
" " IX	0,052 "	0,064 cem
" " X	0,052 "	höher als 0,094 cem
" " XI	0,0671 "	" " 0,1 cem

3) Mischung X bestand aus 500 JE des 400 fachen Serums γ und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 23,75 cem.

4) Mischung XI bestand aus 400 JE des 400 fachen Serums δ und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 23,5 cem.

Die Prüfung der Mischungen erfolgte sofort nach ihrer Herstellung. Es ergeben sich somit Werthe, wie sie aus nachstehender Tabelle ersichtlich sind.

Tabelle VI.

No.	Werthigkeit des verwendeten Antitoxins	Nummer der Mischung	Berechnete freie Antitoxinmenge der Mischung	Gefundene freie Antitoxinmenge der Mischung
1	300 f. Serum β	VIII	450	237
2	400 f. Serum β	IX	450	371
3	400 f. Serum γ	X	450	weniger als 252
4	400 f. Serum δ	XI	350	235

4. Versuchsreihe.

Mehrfach übercompensirte Gemenge: Verhältniss von JE:TE wie 10:1 bei einer Antitoxinmenge von 500 JE von 150-, 550-, 1200- und 1300fachen Immunseren.

Mischungen vom 31. Mai 1904:

1) Mischung XII bestand aus 500 JE des 150fachen Serums ϵ und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 25,8 cem.

2) Mischung XIII bestand aus 500 JE des 550fachen Serums α und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 23,4 cem.

3) Mischung XIV bestand aus 500 JE eines 1200fachen Serums α und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 22,92 cem.

4) Mischung XV bestand aus 400 JE eines 1300fachen Serums α und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 22,88 cem.

Neben diesen 4 Gemengen wurden gleichzeitig 4 andere angelegt, welche die gleiche Zusammensetzung hatten, wie die eben beschriebenen mit dem Unterschiede, dass vor dem Toxinzusatz dem Antitoxin aus später zu erörternden Gründen je 5 cem Glycerin zugesetzt worden waren, so dass sich die Mischungen folgendermaassen darstellen:

- 5) Mischung XIIa enthielt 500 JE des 150fachen Serums ϵ , 5 cem Glycerin und 50 L₊Dosen des Toxins M in 30,8 cem.
 6) Mischung XIIIa: 500 JE des 550fachen Serums α , 5 cem Glycerin und 50 L₊Dosen des Toxins M in 28,4 cem.
 7) Mischung XIVa: 500 JE des 1200fachen Serums α , 5 cem Glycerin und 50 L₊Dosen des Toxins M in 27,92 cem.
 8) Mischung XVa: 500 JE des 1300fachen Serums α , 5 cem Glycerin und 50 L₊Dosen des Toxins M in 27,88 cem.

Die Prüfung aller Mischungen erfolgte kurze Zeit nach ihrer Herstellung und ergab folgendes:

Tabelle VII.

No.	Nummer der Mischung	Menge der Mischung	Toxin	Gewicht d. Versuchstieres g	Resultat der Prüfung
1	XII	0,055	L ₊ Dosis des Toxins B	260	Bleibt glatt.
2	XIIa	0,066	Dito.	250	Strang, dann glatt.
3	XIII	0,1	Dito.	250	Am 2. Tage Toxintod.
4	XIIIa	0,1	Dito.	250	Dito.
5	XIV	0,1	Dito.	260	Bleibt glatt.
6	XIVa	0,1	Dito.	250	Grosses Infiltrat, das sich demarkirt und nach mehreren Tagen ohne Nekrose resorbiert.
7	XV	0,1	Dito.	250	Infiltrat, das nach einigen Tagen ohne Nekrose resorbiert wird.
8	XVa	0,1	Dito.	250	Am 2. Tage typischer Toxintod.

Tabelle VIII.

Auf Grund der Berechnung würde einer L ₊ Dosis entsprechen			Aus den Versuchen gefundene Werthe	
In Mischung XII	0,057 cem		0,055 cem	
" " XIIa	0,068 "		0,066 "	
" " XIII	0,052 "	mehr als 0,1	" "	
" " XIIIa	0,063 "	" "	0,1 "	
" " XIV	0,051 "	ca. 0,1	" "	
" " XIVa	0,062 "	0,1	" "	
" " XV	0,051 "	0,1	" "	
" " XVa	0,062 "	mehr als 0,1	" "	

Es würden sich somit folgende Zahlenreihen für den Antitoxingehalt der Mischungen ergeben:

Tabelle IX.

No.	Werthigkeit des verwendeten Antitoxins	Mischung	Berechnete freie Antitoxinmenge	Gefundene freie Antitoxinmenge
1	150 f. Serum ϵ	XII u. XIIa	450	469—466
2	550 f. " α	XIII u. XIIIa	450	weniger als 234
3	1200 f. " α	XIV u. XIVa	450	ca. 279
4	1300 f. " α	XV u. XVa	450	229

5. Versuchsreihe.

Mehrfach übercompensirte Gemenge: Verhältniss von JE:TE wie 10:1 bei einer Antitoxinmenge von ca. 1200 JE von 150-, 550-, 1200fachen Immunsereen.

Mischungen vom 7. Juni 1904:

- 1) Mischung XVI enthält 1125 JE des 150fachen Serums δ und 120 L₊Dosen des Toxins M in 61,5 ccm.
- 2) Mischung XVII 1200 JE des 550fachen Serums α und 120 L₊Dosen des Toxins M in 61,5 ccm.
- 3) Mischung XVIII 1200 JE des 1200fachen Serums α und 120 L₊Dosen des Toxins M in 61,5 ccm.

Die Auswerthung der Mischungen kurz nach ihrer Herstellung ergab:

Tabelle X.

No.	Mischung	Menge der Mischung	Toxin	Gewicht d. Versuchstieres g	Resultat der Prüfung
1	XVI	0,06	L ₊ Dosis des Toxins B	260	Infiltrat, das sich unter Gewichtsverlust demarkirt.
2	XVI	0,06	Dito.	260	Infiltrat, später Nekrose, Tod nach 10 Tagen.
3	XVII	0,095	Dito.	250	Toxintod am 2. Tage.
4	XVII	0,1	Dito.	250	Grosses Infiltrat, das sich demarkirt und Tod am 9. Tage.
5	XVIII	0,095	Dito.	250	Toxintod am 3. Tage.
6	XVIII	0,1	Dito.	260	Infiltrat, das in Nekrose übergeht.

Es lassen sich daher nach der Mischung folgende Antitoxinwerthe feststellen:

Tabelle XI.

No.	Werthigkeit des verwendeten Antitoxins	Mischung	Berechnete freie Antitoxinmenge	Gefundene freie Antitoxinmenge
1	150 f. Serum δ	XVI	ca. 1005	etwas weniger als 1025
2	550 f. „ α	XVII	ca. 1080	weniger als 615
3	1200 f. „ α	XVIII	ca. 1080	ca. 615

6. Versuchsreihe.

Mehrfach übercompensirte Gemenge: Das Verhältniss von JE:TE wie 10:1 bei einer Antitoxinmenge von 150 JE eines 150-, 400-, 550- und 1000fachen Serums.

Gemenge vom 5. Juli 1904:

- 1) Mischung XIX bestand aus 150 JE des 150fachen Serums γ + 15 L₊Dosen des Toxins M in 9,7 ccm.
- 2) Mischung XX 150 JE des 400fachen Serums ϵ + 15 L₊Dosen des Toxins M in 9,7 ccm.

- 3) Mischung XXI 150 JE des 550fachen Serums α + 15 L₊Dosen des Toxins M in 9,7 cem.
 4) Mischung XXII 150 JE des 1000fachen Serums α + 15 L₊Dosen des Toxins M in 9,7 cem.
 5) Mischung XXIII 150 JE des 1000fachen Serums β + 15 L₊Dosen des Toxins M in 9,7 cem.

Die Prüfung ergab unmittelbar nach Zusammenstellung der Proben nachfolgende Verhältnisse:

Tabelle XII.

No.	Mischung	Menge der Mischung	Toxin	Gewicht d. Versuchstieres g	Resultat der Prüfung
1	XIX	0,074	L ₊ Dosis des Toxins B	250	Kleines Infiltrat, das sich rasch resorbiert.
2	XX	0,11	Dito.	240	Grosses Infiltrat mit Nekrose. Tod am 10. Tage.
3	XX	0,14	Dito.	250	Bleibt glatt.
4	XXI	0,11	Dito.	240	Toxintod am 2. Tage.
5	XXI	0,14	Dito.	250	Infiltrat, das sich resorbiert.
6	XXII	0,11	Dito.	240	Toxintod am 2. Tage.
7	XXII	0,14	Dito.	250	Mittelgrosses Infiltrat, das sich resorbiert.
8	XXIII	0,11	Dito.	240	Am 2. Tage Toxintod.
9	XXIII	0,14	Dito.	250	Infiltrat, das sich resorbiert.

Die dieser Versuchsreihe zu entnehmenden Zahlen würden sich somit darstellen lassen wie folgt:

Tabelle XIII.

No.	Werthigkeit des verwendeten Antitoxins	Mischung	Berechnete freie Antitoxinmenge	Gefundene freie Antitoxinmenge
1	150 f. Serum γ	XIX	135 JE	131
2	400 f. „ ϵ	XX	135	ca. 80
3	550 f. „ α	XXI	135	„ 70
4	1000 f. „ α	XXII	135	„ 70
5	1000 f. „ β	XXIII	135	„ 70

In nachfolgender Uebersichtstabelle finden sich die in den 6 Versuchsreihen gewonnenen Zahlen entsprechend der Werthigkeit und der Menge des verwendeten Antitoxins zusammengestellt.

Die Versuche bieten in verschiedener Richtung ein Interesse. Ueberblickt man die zuletzt angeführte Tabelle, so ist vor Allem auffallend, dass Sera, die sich bei ihrer Auswerthung als rund 150-fach, 200 fach und 250 fach erwiesen haben, bei der Reaction mit einem und demselben Toxin ein vollkommen differentes Verhalten aufweisen gegenüber Immunseren höherer Werthigkeit. Die erstgenannten Immunsera, insbesondere die 150 fachen zeigten bei fractionirtem Toxin-

Tabelle XIV.

No.	Verwendetes Antitoxin	No. des Gemenges	Das Gemenge enthält		Gesamtvolumen in ccm	Wieder-gefundene Antitoxin-Einheiten	Verlust an Antitoxineinh.			
			JE	L ₊ -Dosen			in absoluter Menge	In p ₁ %, der berechneten freien Antitoxinmenge	In p ₂ %, d. gesamten verwendeten Antitoxinmenge	
1	150 f. Ser. γ	XIX	150	15	9,7	131	—	—	—	
2	150 f. „ α	IV	450	50	25,5	nahezu 400	—	—	—	
3	150 f. „ β	V	450	50	25,5	nahezu 400	—	—	—	
4	150 f. „ α	I	450	222	103,0	mehr als 206	—	—	—	
5	150 f. „ ε	XII	500	50	25,8	469	—	—	—	
6	150 f. „ ε	XIIa	500	50	30,8	466	—	—	—	
7	150 f. „ δ	XVI	1125	120	61,8	ca. 1025	—	—	—	
8	200 f. „ α	VI	450	50	25	ca. 390	10	2,5	2,8	
9	250 f. „ α	VII	450	50	24,5	ca. 382	18	4,5	4	
10	300 f. „ β	VIII	500	50	24,15	237	213	47,33	42,6	
11	300 f. „ α	II	495	222	101,65	weniger als 25	mehr als 248	ca. 90,84	50,10	
12	400 f. „ ε	XX	150	15	9,7	ca. 80	ca. 55	ca. 40,74	36,66	
13	400 f. „ δ	XI	400	50	23,5	235	115	32,85	28,75	
14	400 f. „ α	III	400	222	101	weniger als 25	mehr als 153	mehr als 85,93	38,25	
15	400 f. „ β	IX	500	50	23,75	371	79	17,55	15,8	
16	400 f. „ γ	X	500	50	23,75	weniger als 252	mehr als 198	mehr als 44	39,6	
17	550 f. „ α	XXI	150	15	9,7	ca. 70	ca. 65	ca. 48,14	e. 43,33	
18	550 f. „ α	XIII	500	50	23,4	weniger als 234	mehr als 216	mehr als 48	43,2	
19	550 f. „ α	XVII	1200	120	61,5	weniger als 615	mehr als 465	mehr als 43	38,75	
20	1000 f. „ α	XXII	150	15	9,7	ca. 70	ca. 65	ca. 48,14	43,33	
21	1000 f. „ β	XXIII	150	15	9,7	ca. 70	ca. 65	ca. 48,14	43,33	
22	1200 f. „ α	XIV	500	50	22,92	ca. 279	171	38	32,2	
23	1200 f. „ α	XVIII	1200	120	61,5	ca. 615	ca. 465	ca. 43	e. 38,75	
24	1300 f. „ α	XV	500	50	22,88	229	221	49,1	44,2	

zusatz und zwar, soweit bisher hervorgeht, ohne Rücksicht auf die absolute Menge des verwendeten Antitoxins — die in den Versuchen angewendeten Antitoxinmengen schwanken zwischen 150 und 1125 — und auch anscheinend unabhängig von dem relativen Verhältniss Toxin: Antitoxin ausschliesslich nur jenen Verlust an Immunitätseinheiten, wie er entsprechend der Menge der zugesetzten L₊-Dosen erwartet werden konnte. Wir nennen solche Antitoxine *toxostabil*. Man ersieht aus den Protokollen, dass — soweit die Auswerthungsmethode dies überhaupt zulässt — ausnahmslos nahezu die volle Anzahl der nach der Berechnung als frei zu erwartenden Immunitätseinheiten nachzuweisen war. Dabei ist hervorzuheben, dass die Absättigung beinahe unmittelbar nach dem Toxinzusatz die gleiche war, wie nach mehrtägigem Stehen der Gemenge bei Bruttemperatur und dass sie sich auch nicht änderte, wenn die Mischungen, wie das in eigens angestellten Versuchen beobachtet

worden war, noch nachträglich wochenlang bei Zimmertemperatur belassen worden waren.

Die Thatsache der raschen Absättigung, wie sie sich aus unseren Versuchen ergibt, steht in Uebereinstimmung mit den früheren Annahmen Ehrlich's, dass die Vereinigung von Diphtherietoxin und Antitoxin sehr schnell verläuft; Ehrlich's Schüler nehmen dagegen neuerdings einen anderen Standpunkt ein, welcher der Auffassung von Arrhenius-Madsen, Gruber und von Pirquet, dass Toxin und Antitoxin miteinander nach Art von Stoffen mit schwachen gegenseitigen Affinitäten reagieren, näher kommt. v. Dungern schliesst aus seinen letzten Versuchen, dass die feste Bindung zwischen Antitoxin und den weniger aviden Bestandtheilen des Diphtheriegiftes nicht sofort, sondern allmählig zu Stande kommt und Morgenroth gelangt aus anderweitigen Versuchen ebenfalls zu dem Schlusse, dass die Bindung von Toxin und Antitoxin einen langsamen Verlauf nimmt.

Ob gewisse Versuchsbedingungen (Concentrationsverhältnisse) in unseren Versuchen den raschen Reactionsverlauf herbeigeführt haben, erscheint fraglich, da die schnelle Vereinigung beider reagirender Componenten regelmässig kurz nach Herstellung der Gemenge zu beobachten war.

Die Beobachtung toxostabiler Antitoxine scheint deswegen bemerkenswerth, weil sie zeigt, dass auch bei fractionirtem Zusatze von Toxin zu Antitoxin die Vereinigung derart erfolgt, wie wenn die gleiche Toxinmenge auf einmal in Action träte. Die Absättigung eines derartigen Antitoxins durch allmählig ansteigende Toxindosen wird dann durch eine Gerade repräsentirt, welche das Verhältnis der frei nachweisbaren Antitoxineinheiten zur reagirenden Toxinmenge angiebt, sofern die Toxin- und Antitoxinmengen als Abscisse und Ordinate verzeichnet werden. Die Versuche mit den Mischungen I (Versuchsreihe 1) und IV (Versuchsreihe 2) ergeben auf diese Weise Punkte einer Geraden.

Vor zwei Jahren hatte Danysz (16) die Beobachtung gemacht, dass in Ricin- Antiricin-, Diphtherietoxin- Antitoxingemengen der L_{+} -Werth mit einem kleinen Giftzusatz schneller zu erreichen ist, wenn zur Immunitätseinheit in zwei zeitig getrennten Portionen das Gift zugesetzt wird, als wenn die Absättigung auf einmal erfolgt.

v. Dungern (4) hat neuerdings dieses Phänomen in grösseren Versuchsreihen für Diphtherietoxin- Antitoxingemische bestätigt gefunden und Sachs (5) hat in jüngster Zeit für eine grosse Reihe von Giften, so für das Tetanolysin, Staphylolysin, Arachnolysin und für Lab und deren Gegenkörper ähnliche Verhältnisse feststellen können. Eine einzige bisher beobachtete Ausnahme bot dem letzteren Autor (16a) das Cobragift, bei dem es gleichgültig ist, ob der Zusatz des Giftes zu dem Antivenin auf einmal oder in Absätzen erfolgt, vorausgesetzt, dass die Toxicitätsbestimmung der Gemische mit einem reichlichen Lecithinzusatz geschieht. Unsere Befunde über toxostabile Sera schliessen sich zunächst dem Verhalten des Antivenins an und zeigen, dass es wohl gelingen kann auch mit einem Diphtherietoxin, das nach seiner Constitutionsbestimmung auf Grund der Annahme Ehrlich's Toxoide und Toxone ent-

hält, Antitoxin proportional dem zugesetzten Toxin abzusättigen. In welcher Weise die Deutung des Phänomens von Danysz, welches von den vorhergenannten für die Erforschung der complexen Constitution verschiedener Gifte herangezogen war, durch vorliegende Thatsachen beeinflusst wird, muss hier vorläufig zum mindestens offen bleiben.

Denn es muss betont werden, dass sowohl die Versuche von Danysz, wie jene von Dungenes mit geringen Toxin- Antitoxindosen angestellt sind, welche sich innerhalb einer L_{+} -Dosis und einer Immunitätseinheit — demgemäss also stets in der Grenzzone (Toxon-Toxinzone) der beginnenden Giftwirkung — bewegen, während in unseren Versuchen relativ grosse Mengen beider Stoffe in Action traten, stets aber derart, dass Ueberserumgemische resultirten.

Es ist wohl möglich, dass dadurch der Ausfall der Versuche in unserem Falle modificirt wurde und wir beabsichtigen daher mit toxostabilen Seren den Versuch von Danysz zu wiederholen.

Die mit dem 200- und 250fachen Serum hergestellten Gemische lassen geringe Verluste an Antitoxineinheiten erkennen, doch scheinen dieselben immer noch in den Rahmen der Versuchsfehler zu fallen, so dass auch diese beiden Sera wahrscheinlich als toxostabil anzusprechen wären.

Ein durchaus verschiedenes Bild zeigt sich bei Betrachtung der Gemenge, welchen höherwerthige Sera als die bisherigen zu Grunde liegen. Man findet hier, dass das gleiche Toxin unter den gleichen Verhältnissen auf das Antitoxin derart einzuwirken vermag, dass hier ein grosser Bruchtheil des Antitoxingehaltes nicht mehr nachgewiesen werden kann. Wir nennen solche Immunsera, bei denen unter den gegebenen Bedingungen nach fractionirtem Toxinzusatz weniger Antitoxin nachgewiesen werden kann, als der zugesetzten Toxinmenge entspricht, toxolabile Immunsera.

Ein Blick auf die Tabelle lehrt, dass der Verlust an Antitoxin ein ganz bedeutender ist. Derselbe schwankt in unseren Fällen von 15,8 pCt. bis zu 50,1 pCt., wobei jedoch in der Mehrzahl der Mischungen der Verlust ca. 40 pCt. des gesammten Antitoxingehaltes beträgt. Die Grösse des Verlustes steigert sich im Allgemeinen nicht bei Anwendung höherwerthiger Sera, denn sie ist in den meisten Fällen nahezu gleich gross und, wie die Versuchsreihen 4, 5 und 6 zeigen, unabhängig davon, ob ein 550-, 1000-, 1200- oder 1300faches Serum zur Anwendung kommt. Es lässt sich, soweit die bisherigen Versuche darthun, auch keine Abhängigkeit des procentualen Verlustes von der absoluten Menge der reagirenden Componenten oder deren relativem Verhältniss zu einander nachweisen. Ein Vergleich der Mischungen III und XVIII (Tabelle XIV), in denen das eine Mal 400 JE gegenüber 222 L_{+} , das andere Mal 1200 JE gegenüber 120 L_{+} reagiren, zeigt, dass in beiden Fällen nahezu der gleiche Procentsatz des gesammten Antitoxins dem Nachweise entgangen ist. Die Absättigung eines derartigen toxolabilen Serums wird dann nicht mehr durch eine Gerade dargestellt werden können, sondern verläuft in Form einer Curve.

Aus dem angeführten Coordinatensystem ist die Abweichung von der sich als Gerade darstellenden Absättigungslinie toxostabiler Antitoxine zu ersehen, welche bei Absättigung toxolabiler Sera eintritt.

Die Zahlen sind der Absättigung des 400fachen Immunserums α

entnommen, welchem in dem einen Falle 50, im anderen 222 L_+ Dosen zugesetzt worden waren.

Die als frei gefundene Antitoxinmenge betrug nach Zusatz von 50 L_+ Dosen 196 JE statt der zu erwartenden 350, nach Zusatz von 222 L_+ Dosen statt 178 JE weniger als 25. —¹⁾

Die beiden toxolabilen Diphtherieimmunseren erhobenen Befunde drängen zu einem Vergleich mit dem früher erwähnten Phänomen von Danysz (16) und dem von v. Dungern (4) beigebrachten reichen Zahlenmateriale, aus

dem sich ebenfalls ergibt, dass bereits auf Zusatz relativ geringer Giftmengen ein grosser Theil des Antitoxins dem Nachweise entzogen bleibt.

Das Maximum der Antitoxinwegnahme wird bei v. Dungern bereits durch ein Drittel der L_0 Dosis erreicht; während jedoch in unseren Versuchen ein Zusatz des Toxins, der $\frac{1}{10}$ des Antitoxingehaltes beträgt, schon den gleichen Verlust herbeiführt, wie die Toxinmenge, welche der Hälfte des gesammten Antitoxingehaltes gleichkommt, ist dies bei den Versuchen v. Dungern's nicht der Fall. Denn es nimmt bei seinen Versuchen ein Zusatz von 0,2 ccm Gift soviel Antitoxin weg, als sonst die Wirkung von 0,19 ccm Gift zu neutralisiren vermag und eine dreimal so grosse Giftmenge ($0,6 = L_0$) setzt die L_+ Dose nur um 0,11 ccm herab. Es muss auch hier vorläufig offen bleiben, ob die beiden Versuchsanordnungen den sich derart darstellenden Unterschied genügend begründen oder ob es sich in beiden Fällen (bei dem von Danysz und von v. Dungern einerseits und bei den von uns andererseits) beobachteten Antitoxinverlusten um durchaus verschieden zu deutende Phänomene handelt. Einen in jeder Beziehung günstigeren Vergleich dagegen bieten die ausgedehnten

1) Anm. während der Correctur: Durch Ausführung vollständigerer Versuchsreihen konnte weiterhin eine grössere Zahl von Punkten festgestellt werden, deren Eintragung in das Koordinatensystem eine regelmässige Kurve ergibt, welche den rasch zunehmenden Abfall der freien Antitoxinmenge bei wachsendem Toxinzusatz schön illustriert.

Untersuchungsreihen von Grassberger und Schattenfroh (9), welche die Beziehungen zwischen Gift und Gegengift an dem Toxin und Antitoxin des von ihnen studirten Rauschbrandbacillus erforscht haben. Aus den ähnlich wie von uns angestellten Versuchen mit Ueberserumgemischen lässt sich entnehmen, dass auch da ganz bedeutende Abweichungen von der zu erwartenden freien Antitoxinmenge eingetreten sind. So stellt sich in einem Versuche (Versuch XXIII Ueberserumgemisch „Isch“), in dem eine ca. vierfache Antitoxinmenge gegenüber der einfachen Toxinmenge reagierte, nach 24 stündigem Lagern der Verlust auf ca. 80 pCt. der berechneten freien und auf ca. 58 pCt. der gesammten verwendeten Antitoxinmenge, in einem anderen Versuche (Versuch XXX, Ueberserumgemisch „Ischl“), in welchem das Verhältniss Toxin-Antitoxin ein analoges war, der Verlust bei sofortiger Titration auf 23,3 pCt. der zu erwartenden freien, resp. 17 pCt. der gesammten Antitoxinmenge und eine Stunde später, auf 62 pCt. der als frei berechneten, resp. 45 pCt. der gesammten Antitoxinmenge. In einem dritten Versuche (Versuch XXXIII, in dem ein zehnfaches Ueberserumgemisch vorlag, war etwas weniger als die Hälfte der gesammten Antitoxinmenge verloren gegangen. Man ersieht, dass die Verluste den von uns beobachteten nahe stehen, wenn auch der Dauer der gegenseitigen Einwirkung bei der Reaction von Rauschbrandtoxin und -Antitoxin eine grössere Rolle zuzukommen scheint, als nach unseren Versuchen bei der Verbindung von Diphtherietoxin und -Antitoxin in Ueberserumgemischen. Es hat sich nämlich in nahezu allen Versuchen mit toxisch labilen Seren, ähnlich wie bei den toxisch stabilen, gezeigt, dass der Reactionsverlauf ein sehr rascher ist und dass der in den ersten Stunden nach Herstellung der Mischung eingetretene Antitoxinverlust sich auch nach 3 wöchentlichem Stehen bei Zimmertemperatur nicht wesentlich ändert. (Siehe Versuch mit Mischung XXIX.)

Die Thatsache, dass alle angeführten Versuche mit Zuhilfenahme eines und desselben Toxins (Tox. M.) durchgeführt worden sind, lässt die angestellten Beobachtungen noch in anderer Hinsicht beachtenswerth erscheinen. Uebersieht man die einzelnen Versuchsreihen, so findet man, dass völlig unabhängig von der Zahl der Immunitätseinheiten und von der Concentration, in welcher das Toxin auf das Antitoxin zur Wirkung kommt, das gleiche Toxin ein Mal nur die „äquivalente“ Menge Antitoxin abzusättigen im Stande ist, das andere Mal unter den gleichen Bedingungen eine ungleich grössere Anzahl von Immunitätseinheiten. Es kann sonach die gleiche Anzahl Immunitätseinheiten verschiedener Immunsera vollständig verschiedenwerthige Mischungen ergeben. Man wird wohl hier zu dem zwingenden Schlusse gedrängt, dass einzig und allein die verschiedenartige Beschaffenheit des Immunserums die Ursache dieses Verhaltens sein kann, dass eben die toxisch stabilen und die toxisch labilen Sera in ihrem Gefüge anders zusammengesetzt sind und dass dieser verschiedenartige Aufbau erst bei der Einwirkung des Toxins auf das überschüssige Immunserum zur auffälligen Geltung kommt. Es würde somit hier zum ersten Male der Beweis geliefert, dass nicht alle durch ein und dasselbe Toxin hergestellten Immunsera in qualitativer Hinsicht einander gleich sind, sondern dass bedeutende Unterschiede in ihrem Bau bei

sonst gleichen specifischen Eigenschaften bestehen können. Es ist ja schon aus unseren Versuchen ersichtlich, dass, wiewohl die meisten toxolabilen Sera bedeutende Verluste aufweisen, darunter auch hochwerthige Sera sich befinden (so das 400 fache Ser. γ des Versuches IX), die relativ geringe Verluste erlitten haben. Es steht demnach nichts im Wege anzunehmen, dass auch hochwerthige Sera sich als völlig toxostabil erweisen, Uebergänge zwischen den beiden extremen Typen vorkommen können. Trotzdem drängt sich die Annahme auf, dass das Phänomen der Toxolabilität mit der Bildung hochwerthiger Immunsera in innigem Zusammenhang steht. Die Thatsache, dass es uns bisher nicht gelungen ist, unter den minderwerthigen Seren toxolabile aufzufinden, mag da bei der relativ geringen Anzahl (7) der von uns verwendeten minderwerthigen Immunsera weniger ins Gewicht fallen, als vielmehr die eingangs erwähnte Beobachtung Paltauf's des raschen Rückganges hochwerthiger Sera kurz nach dem Aderlasse und der geringen Haltbarkeit derselben im Vergleich zu den minderwerthigen Seren.

In welcher Weise im Thierkörper die Bildung hochwerthiger Sera vor sich geht, ist uns ebenso dunkel, wie die Bildung der Immunsera überhaupt und es ist demnach bisher unmöglich, eine exacte Vorstellung darüber zu entwickeln, worin der Unterschied zwischen einem hoch- und minderwerthigen Serum besteht. Die vorliegenden Versuche lassen eine Deutung in dem Sinne als möglich erscheinen, dass der Unterschied nicht nur ein quantitativer, sondern vielmehr auch ein qualitativer sei. Der Umstand, dass mit Zunahme der Werthigkeit keineswegs die Toxolabilität sich steigert, sondern innerhalb gewisser Grenzen — so zwischen 400 fachen bis 1300 fachen Immunseren — nur relativ kleinen Schwankungen ausgesetzt ist, würde dann dafür sprechen, dass die Ursache der Erscheinung nicht in dem giftneutralisirenden Antheil des wirksamen Körpers zu suchen wäre, sondern in irgend einem anderen Bestandtheile, der bei der Bildung hochwerthiger Antitoxine im Immunserum mitentsteht, gleichgiltig ob im Zusammenhange mit dem giftbindenden Bestandtheil oder als Körper *sui generis*. Dieser Complex würde durch die Anlagerung des Toxins an das Antitoxin derart beeinflusst werden, dass er das Entstehen einer Art Polymerisation oder einer andersartigen Umlagerung, durch welche giftbindende Gruppen unwirksam werden, begünstigt. Bei den bisher vielfach noch dürftigen Kenntnissen, die wir von der Gesetzmässigkeit gegenseitiger Einwirkung colloidalen Stoffe aufeinander besitzen, wäre es nicht ausgeschlossen, dass die beobachtete Toxolabilität unter den gegebenen Verhältnissen nur der Ausdruck einer eigenartigen Complexbildung wäre.

Dass durch die Anlagerung eines colloiden Complexes an einen anderen bedeutende Veränderungen in einem der beiden entstehen können, welche das chemische und biologische Verhalten völlig ändern, geht unter Andern eclatant aus einem Befunde von Landsteiner und Jagić (17) hervor, demgemäss die colloidale Kieselsäure durch Combination mit activem Serum hämolytische Wirkung erlangen kann. Auch die bei den Niederschlägen präcipitirender Immunsera eintretende allmähliche Veränderung in dem Sinne, dass die anfänglich löslichen Niederschläge unlöslich

werden — eine Beobachtung v. Dungern's (18), die nach den Erfahrungen des einen von uns (Pick) bestätigt werden kann — wäre hier anzuführen. Nicht minder, wie der für die Toxin-Antitoxinbindung angestellte Vergleich von Nernst (17), dem zufolge nach Adsorption des Farbstoffs seitens der Faser der erstere eine Umwandlung erfährt, durch die er unlöslich wird.

Es wäre ungemein naheliegend, die angeführten Versuche in der Weise zu deuten, dass es sich um Verbindungen (Molekularverbindungen) von Toxin und Antitoxin in variablen Proportionen handelt, wie dies Bordet und Gruber annehmen, und dem Gesetz der „constanten Proportionen“ nur eine beschränkte Gültigkeit einzuräumen. Wie wir später bei Betrachtung neutraler Gemische toxolabiler Sera sehen werden, scheint jedoch hier das Gesetz seine volle Gültigkeit zu besitzen und wir wären daher geneigt, die Abweichung in den Uebersetzungsgemischen als eine nur scheinbare anzusehen, herbeigeführt durch eine secundäre Umlagerung.

Die Erscheinung, dass die gleiche Anzahl L_+ -Dosen eines und desselben Toxins sich bei fractionirtem Zusatz unter sonst gleichen Bedingungen ganz verschieden verhalten kann, dürfte wenigstens für unsere Versuche kaum in der Annahme einer grösseren Zahl von Giftcomponenten mit bindenden Gruppen verschiedener Avidität ihre Erklärung finden können, da ja stets ein und dasselbe Gift benutzt worden war, das gleichzeitig und nebeneinander in dem einen Falle äquivalente Mengen Antitoxins neutralisirte, im anderen dagegen viel mehr Antitoxin zu binden im Stande war. Es hätte gewissermassen in dem einen Fall als einheitliches Gift wirken müssen, in dem andern als complexes, eine Vorstellung, die anzunehmen vorläufig kein Grund vorliegt. Es sprach auch gegen eine solche Annahme die in einzelnen ad hoc angestellten Versuchen nachgewiesene volle Uebereinstimmung der gefundenen Werthe, gleichgültig mit welchem der beiden von einander in der Constitution verschiedenen Gifte (M und B) die Titration stattfand, und sie läßt es vielmehr nicht unmöglich erscheinen, die entgegengesetzten Untersuchungsergebnisse der einzelnen Autoren durch die verschiedene Natur des jeweilig verwendeten Antitoxins zu erklären.

Es lehrt gerade das scheinbar differente Verhalten des Toxins, welches grosse Vorsicht die Deutung derartiger Phänomene für die Constitution complicirter colloider Körper erheischt¹⁾.

B. Versuche über Beeinflussung der Toxolabilität.

a) Einfluss des erhitzten Toxins.

Es lag uns zunächst daran sicherzustellen, ob die Erscheinung der Toxolabilität thatsächlich durch das Toxin und nicht etwa durch andere der Bouillon beigemengte Bestandtheile hervorgerufen wird. Zu diesem Behufe wurden mit dem in der ersten Versuchsreihe verwendeten

1) Vor Kurzem konnte Biltz (19) an dem Beispiele der Einwirkung arseniger Säure auf frisch gefälltes Eisenhydroxyd zeigen, „dass auch für ein unzweifelhaft einheitliches anorganisches Gift die für die Toxin-Antitoxinverbindung charakteristische Ungleichheit besteht.“

400 fachen Serum α am 15. Februar 1904 folgende 2 Mischungen hergestellt:

1. Mischung XXV enthielt 400 JE und 50 L₊-Dosen des Toxins M in 23,5 ccm.
2. Mischung XXVI als Controlmischung enthielt 400 JE und die gleiche Menge Toxin wie bei 1), das jedoch 5 Minuten lang unmittelbar vor dem Zusatz gekocht worden war. Das Gesamtvolumen betrug ebenfalls 23,5 ccm.

Die Prüfung beider Gemenge erfolgte unmittelbar nach ihrer Herstellung und ergab:

Tabelle XV.

No.	Nummer der Mischung	Menge d. Mischung cm	Toxin	Gewicht d. Versuchstieres g	Resultat der Prüfung
1	XXV	1,00	L ₊ des Toxins M	240	Bleibt glatt.
2	XXV	0,15	do. B	250	do.
3	XXV	0,12	do. B	270	do.
4	XXV	0,11	do. B	250	Infiltrat, das sich resorbiert, nach 3 Wochen Lähmung.
5	XXV	0,1	do. B	240	Grosses Infiltrat, das sich demarkirt, unter Gewichtsabnahme Strangbildung, Tod nach 3 Wochen.
6	XXVI	1,00	do. M	240	Bleibt glatt.
7	XXVI	0,073	do. B	250	do.
8	XXVI	0,067	do. B	270	do.
9	XXVI	0,05885	do. B	250	Grosses Infiltrat, mit nachfolgender Nekrose u. Lähmung. Tod nach 18 Tagen.

Die Berechnung der Resultate ergibt folgende Werthe:

Tabelle XVI.

Werthigkeit des verwendeten Serums	Mischung	Berechnete freie Antitoxinmenge	Gefundene freie Antitoxinmenge	Verlust an Antitoxineinheiten		
				in absol. Menge	in pCt. der freien berechneten Menge	in pCt. der gesamten Antitoxinmenge
400 fach. Ser. α	XXV	350	196	154	44	385
do.	XXVI	400	400	Kein Verlust		

Es geht aus diesem Versuche hervor, dass nach Zerstörung des Toxins durch 5 Minuten langes Kochen das Phänomen der Toxolabilität nicht eintritt, dass daher an dessen Auslösung nicht thermostabile Substanzen der Bouillon, auch nicht thermostabile Bestandtheile des Toxins betheiligt sein können, sondern höchstwahrscheinlich das Gift selbst.

b) Einfluss von Gelatine und Glycerin.

Auf Grund der Annahme, dass die Toxolabilität mit einer Aenderung des colloidalen Lösungszustandes unter dem Einflusse des Toxins einhergeht, wurde entsprechend der Erfahrung (Lobry de Bruyn u. A. [20]), dass

Zusatz von Gelatine das Verharren zahlreicher Körper in colloidalen Lösungen begünstigt, vor dem Toxinzusatz zu dem Antitoxin Gelatine zugesetzt und zwar derart, dass nach Zusatz des Toxins die Mischung ca. 0,5 pCt. an Gelatine enthält.

Diese ebenfalls mit dem 400 fachen Serum α in der Mischung (XXVII) 400 JE $\div$ 1 cem 10 proc. Gelatine $\div$ 50 L₊-Dosen des Toxins M = 24,5 cem durchgeführten Versuche ergaben, dass die Gelatine in der benutzten Menge keinen Einfluss auf die Hemmung der Toxolabilität auszuüben vermag. Als Controlmischung diente die gleiche Mischung, in welcher Gelatine durch die gleiche Menge Bouillon vertreten war (Mischung XXVIII).

Tabelle XVII.

No.	Nummer der Mischung	Menge d. Mischung cem	Toxin	Gewicht d. Versuchstieres g	Resultat der Prüfung
1	XXVII	0,084	L ₊ Dosis des Toxins M	280	Tod am 2. Tage.
2	XXVII	0,094	do.	260	Grosses Infiltrat, Tod am 6. Tage.
3	XXVIII	0,11	do.	260	Infiltrat, Tod am 7. Tage.
4	XXVIII	0,084	do.	280	Tod am 2. Tage.
5	XXVIII	0,094	do.	260	do.
6	XXVIII	0,11	do.	260	Infiltrat, Tod am Abend des 4. Tages.

Einige andere mit geringeren Gelatinemengen angestellten Versuche blieben ebenfalls ohne Erfolg. Aus gleichem Grunde wie mit der Gelatine stellten wir analoge Versuche mit Glycerin an. Dieselben sind aus der Versuchsreihe 4 zu entnehmen und zeigen, dass auch durch Glycerinzusatz die Toxolabilität gänzlich unbeeinflusst blieb.

c) Einfluss des Toxinzusatzes.

(Verhalten toxolabiler Sera nach theilweiser Absättigung mit Toxin.)

Bereits aus dem Umstande, dass die Grösse der Verluste keineswegs proportional ist der Werthigkeit toxolabiler Sera, scheint hervorzugehen, dass es sich bei dem Phänomen der Toxolabilität um eine Erscheinung handelt, die nicht direct mit der Function der Giftbindung zusammenhängt, sondern einen von ihr zwar abhängigen, aber secundär verlaufenden Process darstellt. Der vorliegende Versuch bringt eine weitere Stütze für diese Annahme. Würde es sich bei der Erscheinung der Toxolabilität um ein Phänomen handeln, das mit der Neutralisation des Antitoxins gleichen Schritt hält, so müsste man erwarten, dass nach partieller Absättigung des Antitoxins ein Rest zurückbleibt, der sich bei einem neuerlichen Giftzusatz völlig in gleicher Weise verhält, wie der ursprüngliche Antitoxinanteil. Zu diesem Zwecke wurde ein hochwerthiges, bereits früher (Versuch XV) als toxolabil erwiesenes Serum in dieser Weise einer partiellen Absättigung unterzogen.

Die Mischung XXIX wird am 7. Juni 1904 folgendermassen hergestellt: 1300 JE des 1300 fachen Serums α $\div$ 130 TE des Toxins M

in 61,5 cem. — Die sofort nach der Mischung vorgenommene Auswerthung ergibt.

Tabelle XVIII.

No.	Nummer der Mischung	Menge der Mischung in cm	Toxin	Gewicht d. Versuchstieres in g	Resultat der Prüfung
1	XXIX	0,095	L ₊ -Dosis des Toxins B	280	Toxintod am 2. Tage.
2	XXIX	0,1	do.	260	do.
3	XXIX	0,12	do.	260	Infiltrat mit anschliessender Nekrose.

Es wurden somit nach Zusatz von 50 L₊Dosen statt der berechneten Menge von 1170 JE höchstens 513 JE wirklich gefunden. Es beträgt daher der Verlust, auf die freie Antitoxinmenge berechnet, ca. 56,15 pCt. — Diese Mischung bleibt 3 Wochen bei Zimmertemperatur stehen und wird sodann neuerlich mit Toxin in folgendem Verhältniss versetzt. 58,5 cem, die ca. 480—490 JE enthalten, sollten demnach, den gleichen Verlust wie nach dem ersten Zusatze vorausgesetzt, wiederum 56,15 pCt. ihres als frei zu erwartenden Antitoxingehaltes einbüßen, also nach Zusatz von 50 L₊Dosen einen Antitoxingehalt von ca. 190 JE aufweisen.

Es werden 58,5 cem der Mischung XXIX mit 50 L₊Dosen in 87,5 cem neuerdings versetzt und diese Mischung kurz nach ihrer Herstellung titirt.

Tabelle XIX.

Menge der neuerlichen Mischung	Toxin	Gewicht des Versuchstieres	Resultat der Prüfung
0,2 cm	L ₊ -Dosis des Toxins B	260	Infiltrat, das sich ohne Nekrose resorbirt.

Es ergibt sich somit, dass in der gesammten Mischung ca. 430 bis 440 Antitoxineinheiten enthalten waren, also nahezu genau so viel als nach Abzug der 50 L₊Dosen als frei zu erwarten waren. Es verhielt sich somit der nach dem Zusatz der ersten Giftfraction zurückgebliebene Rest des toxischen Antitoxins nunmehr vollkommen wie ein toxisches Antitoxin. Dieser Versuch scheint den Beweis zu erbringen, dass in der That unter dem Einflusse der Giftbindung in dem Antitoxin secundär Veränderungen stattfinden, die relativ rasch eintreten und stabile Zustandsänderungen herbeiführen. Gerade aus dem Umstande, dass der neuerliche Giftzusatz ganz andere Wirkungen hervorbringt, als der erste, dürfte hervorgehen, dass bei der Einwirkung von Toxin auf Antitoxin nicht einfache Gleichgewichtszustände in Frage kommen, die auf Grund des Massenwirkungsgesetzes einer elementaren mathematischen Behandlung zugänglich sind. Die Schwierigkeiten der Anwendung des Massenwirkungsgesetzes auf Verbindungen nach Art des Toxin-Antitoxins sind vor allem darauf zurückzuführen, dass in Folge unserer geringen Einsicht in die Einzelheiten des Reactionsprocesses jener Antheil der reagierenden Com-

ponenten noch nicht festgestellt ist, der als active Masse in Rechnung zu ziehen wäre.

Geht aus Vorstehendem ohne Weiteres hervor, dass das Phänomen der Toxolabilität erst durch Bindung des Toxins an das Antitoxin zur Auslösung kommt und mit der Bildung insbesondere hochwerthiger Immunsera im Zusammenhange steht, so bleibt es vorläufig unbekannt, ob die Entstehung dieser Immunkörperart durch bestimmte Stoffwechselvorgänge besonders beeinflusst werden kann.

In welcher Weise noch andere Processe als die Toxinbindung die Toxolabilität beeinflussen können, muss vorläufig offen bleiben; es würde sich mit unseren Vorstellungen von dem Ablauf des Processes durchaus vereinigen lassen, dass auch andere specifische Processe, wie Agglutination oder Präcipitation eine Umlagerung in einem toxolabilen Serum herbeiführen können und dass auch in anderen Immunseren ähnliche Umlagerungen unter gleichen Verhältnissen stattfinden. So wäre es wohl auch denkbar, dass die von verschiedenen Autoren beobachteten Verluste bei der sogenannten electiven Ausfällung verschiedener Körper aus einem und demselben hochwerthigen Serum [Pick (21), Kraus und Pirquet (22) bei den Agglutininen und Coagulinen nichts anderes zur Ursache haben, als die durch die eine oder andere stattgefundene Bindung ausgelöste Umlagerung des labilen Immunserums. Nicht unerwähnt möge hier auch der Umstand bleiben, dass bei den sonst völlig indifferenten Aussalzungsmethoden gerade hochwerthige Immunsera leicht Verluste aufweisen, die zum Theil unerklärt bleiben und es wäre die Annahme naheliegend, dass auch durch Fällung mit Neutralsalzen derartige Umlagerungen in hochwerthigen toxolabilen Seren ausgelöst würden, welche gewisse Verluste in den Ausbeuten bei der Wiedergewinnung derartiger Producte verständlich machen. Es leuchtet ohne Weiteres ein, dass der Nachweis qualitativ verschiedenartiger Immunsera auch von einiger praktischer Bedeutung ist und man sollte auch von vornherein erwarten, dass ähnlich, wie in vitro auch im Thierkörper die beiden Serumgattungen verschiedene Effecte in Bezug auf ihr Toxinbindungsvermögen herbeiführen werden; in welcher Weise diese Voraussetzung zutrifft, sollen weitere Versuche lehren. Es wäre endlich möglich, dass uns in dem Nachweise der Toxostabilität oder -Labilität ein bequemes Kriterium für die zu erwartende Haltbarkeit eines Serums zu Gebote stünde und wir beabsichtigen, nach dem Vorschlag des Herrn Prof. Paltauf auch in dieser Richtung unsere Untersuchungen weiter zu verfolgen.

C. Versuche mit neutralen Gemengen toxolabiler Sera.

Aus den bisher angeführten Versuchen mit übercompensirten Gemengen geht hervor, dass bei den toxostabilen Seren das Antitoxin proportional dem Toxinzusatz abgesättigt wird, bei den toxolabilen Seren dagegen nicht. Bei dem acuten Interesse, das augenblicklich die Frage der Bindung von Toxin und Antitoxin in Anspruch nimmt, war es natürlich, dass wir versuchten, ob die gleichen Verhältnisse auch bei den neutralen Gemischen toxolabiler Sera vorwalten. Die Verbindung zwischen Toxin und Antitoxin war, seitdem Ehrlich (24) 1897 am Ricin und

seinem Gegengift die chemische Bindung beider Componenten erwiesen hatte, in vielfachen Experimenten untersucht worden; trotzdem fand die Frage, wie der von namhaften Autoren eingenommene entgegengesetzte Standpunkt beweist, keine endgültige Lösung. Insbesondere wurde öfters versucht, eine Trennung der neutralen Verbindung zu erzielen, wie sie ja auch thatsächlich Calmette (25) für das Schlangengift, Wassermann (26) für das Pyocyaneustoxin, Löwenstein (27) für das Tetanustoxin und Grasberger und Schattenfroh für das Rauschbrandtoxin- und -Antitoxin gelungen zu sein scheint. Die Trennungsmethoden waren dabei, ausser jener von Löwenstein angewandten, die auf der Zerstörung des Tetanustoxins durch H_2O_2 beruhte, rein physikalische, so Trennung durch Erhitzen, wobei entweder das Gift oder das Antitoxin zerstört wurde [Calmette, Wassermann, Martin und Cherry (10), Cobbett (11), Dzierzowski (28), Marengi (29), Grassberger und Schattenfroh], oder durch Dialyse, wobei das Toxin das Filter passirt, das Antitoxin dagegen nicht (Martin und Cherry, Cobbett, Madsen und Walbum). Beim Diphtheriegift gelingt es nicht, durch die genannten Mittel eine Trennung zu erzielen, vorausgesetzt, dass die Toxin-Antitoxinverbindung einige Zeit stehen gelassen worden war.

Von besonderem Interesse ist ein Versuch von Danysz, der eine Trennung eines neutralen Gemisches von Ricin und Antiricin durch Pepsin-Salzsäureverdauung, bei welcher das Antiricin zerstört wird, während das Ricin wirksam bleibt, herbeiführte. Da das Misslingen einer Trennung der beiden Körper (Diphtherie-Toxin-Antitoxin) gerade durch die früher erwähnten¹⁾ Methoden nicht die Möglichkeit einer Trennung auf anderem Wege ausschliesst, versuchte schon vor mehreren Jahren der eine (Piek) von uns, auf dem Wege des Aussalzungsverfahrens eine Trennung zu erreichen.

a) Versuche der Trennung durch Aussalzung.

Es hatte bereits Nikanorow (30) den Versuch gemacht, durch chemische Mittel eine Trennung des Toxins vom Antitoxin herbeizuführen, und zwar derart, dass er aus einer Mischung mit 1proc. Kupferacetatlösung das Diphtherieantitoxin ausfällte, während das Toxin in Lösung blieb. Es ist nicht bekannt, wie lange Toxin und Antitoxin aufeinander vor der Fällung mit Kupferacetat einwirkten und es wäre daher wohl möglich, dass die Trennung nur durch die kurze Einwirkung beider Componenten aufeinander ermöglicht worden ist.

Bei den hier anzuführenden Versuchen wurde ein anderer Weg eingeschlagen. Wird eine Diphtherietoxinbouillon mit gleichem Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt, so ist nur ein Theil der Giftwirkung im Niederschlag enthalten, ein grosser Theil des Giftes kann aus dem Filtrate der Halbsättigung durch volle Sättigung gewonnen werden. Da andererseits jedoch das Antitoxin bereits durch Halbsättigung aus seinen Lösungen ausgefällt werden kann, lag es nahe, mit Hilfe des Aussalzungsverfahrens eine Trennung des Toxins vom Antitoxin aus neutralen

1) Siehe Oppenheimer, Toxine und Antitoxine. S. 29.

Gemischen zu versuchen. Es ist jedoch niemals gelungen, trotz verschiedenartig variirter Versuchsanordnung, eine Trennung auf diesem Wege herbeizuführen.

b) Versuch der Trennung durch Fällung mit Immunpräcipitin.

Gelegentlich ihrer Studien über passive Immunisirung beobachteten Kraus und Joachim (31), dass mit dem Auftreten spezifischer Niederschläge in Diphtheriepferdeseren eine geringe Abnahme des Antitoxinwerthes einhergeht, da ein Theil des in Lösung befindlichen Antitoxins von dem entstandenen Niederschlage mitgerissen wird. Dehne und Hamburger (23) geben an, dass Tetanuspferdeantitoxin durch Pferdeimmunserumpräcipitin seiner präcipitablen Substanz und seines Antitoxins restlos oder fast restlos beraubt wird und sind geneigt, das Gleiche auch für das Diphtheriepferdeantitoxin anzunehmen.

Wir haben versucht, ein neutrales Gemenge von Pferdediphtherieantitoxin und Toxin mittelst eines Pferdeimmunserumpräcipitins, gewonnen an Kaninchen, zu fällen. Die Ausgangsmischung hat folgende Zusammensetzung: 50 JE des 400fachen Serums α und 50 L₊Dosen des Toxins M in 24 ccm; 1 ccm derselben erzeugt bei einem Meerschweinchen von 260 g Gewicht ein kleines Infiltrat, das sich resorbiert. 1 ccm dieser Mischung wird mit 1 ccm hochwerthigen Präcipitins versetzt; es entsteht rasch eine Trübung und ein massiger Niederschlag, nach 24stündigem Stehen wird die überstehende, klare Flüssigkeit abgehoben und zur Injection verwendet. Zur Controle wird gleichzeitig 1 ccm der neutralen Mischung mit 1 ccm normalen Kaninchenserums versetzt und ebenfalls nach 24stündigem Stehen geprüft.

Tabelle XX.

No.	Mischung	Menge der Mischung	Gewicht d. Versuchstieres	Resultat der Prüfung
1	Filtrat des Präcipitats	2 ccm	250 g	Infiltrat, das sich nach 3 Tagen glatt resorbiert.
2	Controlmischung	2 „	250 g	Infiltrat mit nachfolgender Nekrose.

Es geht aus dem Versuche hervor, dass es auch durch Erzeugung eines spezifischen Präcipitates nicht gelingt, das neutrale Gemenge eines toxischen Serums mit Toxin zu zerlegen. Es muss hier bemerkt werden, dass natürlich nur dem positiven Ausfall des Versuches einige Beweiskraft zugesprochen werden könnte und dass der negative Ausfall weder für noch gegen das Bestehen einer Bindung irgend etwas bezeugt.

c) Versuche der Trennung durch Lagerung.

Schon durch die Thatsache allein, dass es überhaupt gelingt, auf Grund der Feststellung des L₀Werthes eines toxischen Serums neutrale Mischungen in beliebigen Multiplis herzustellen, tritt der bedeutende

Unterschied zwischen dem Verhalten der Ueberserumgemische und der neutralen Gemenge zu Tage. Denn wir haben bei den ersteren bemerkt, dass nahezu sofort oder mindestens sehr rasch nach der Mischung bereits ein bedeutender Verlust an freien, der Berechnung nach zu erwartenden Antitoxineinheiten eintritt. Es dürfte, wenn auch bei neutralen Gemischen Aehnliches zu beobachten wäre, kaum möglich sein, auf Grund der Bestimmung des L_0 Werthes grössere Mengen Antitoxins mit Toxin zu neutralisiren, oder mit anderen Worten, das Gesetz der multiplen Proportionen hätte bei toxolabilen Seren seine Gültigkeit eingebüsst. Dies ist nun keineswegs der Fall. Es gelingt stets ohne Weiteres, auch mit toxolabilen Seren auf Grund des Gesetzes der constanten Proportionen grössere Serummengen mit entsprechenden Toxinmengen zu neutralisiren. Es lag daher nur die Frage vor, ob diese neutralen Gemenge thatsächlich auch bei längerem Stehenbleiben, sei es bei Zimmer- oder Bruttemperatur, sich derart verändern, dass ein Theil ihres Antitoxingehaltes in Verlust geräth und die neutralen Mischungen daher toxisch werden. Es war a priori bei toxolabilen Seren ein solches Verhalten wohl möglich und es hätte ein empfindliches Reagens dafür geliefert, dass entweder eine Bindung zwischen Toxin und Antitoxin nicht stattfindet oder eine Trennung zwischen beiden auf diesem Wege möglich ist.

Es wurden zu diesem Behufe folgende Mischungen toxolabiler Sera in der Weise hergestellt, dass 50 JE zu 50 L_0 Dosen des Toxins M zugesetzt worden waren:

Mischung XXX: 50 JE des 300fachen Serums $\alpha + 50 L_0$ Dosen in 22,665 cem.

Mischung XXXI: 50 JE des 350fachen Serums $\alpha + 50 L_0$ Dosen in 22,6425 cem.

Mischung XXXII: 50 JE des 400fachen Serums $\alpha + 50 L_0$ Dosen in 22,625 cem.

Prüfung unmittelbar nach der Mischung:

No.	Nummer der Mischung	Menge der Mischung	Gewicht des Versuchstieres	Befund
1	XXX	1 cm	250 g	Glatt.
2	XXXI	1 „	250 g	do.
3	XXXII	1 „	260 g	Kleines Infiltrat, das sich resorbiert.

Prüfung nach 4 tägigem Stehen bei Zimmertemperatur.

4	XXX	1 cm	240 g	Bleibt glatt.
5	XXXI	1 „	240 g	do.

Prüfung nach 7 wöchentlichem Stehen bei Brut- und Zimmertemperatur.

6	XXXII	1 cm	250 g	Infiltrat, das sich glatt resorbiert.
---	-------	------	-------	---------------------------------------

Es zeigt sich, dass kein einziges neutrales Gemenge in der Weise seine Eigenschaften geändert hatte, dass eine Giftigkeit i. e. ein Antitoxinverlust nachzuweisen gewesen wäre. Man ist demnach wohl be-

rechtigt, auch die neutralen Mischungen toxolabiler Sera als stabile Systeme aufzufassen.

Es könnte die Frage aufgeworfen werden, weshalb nicht in neutralen Gemischen toxolabiler Sera ein Verlust an Antitoxineinheiten eintritt, da ja in gleicher Weise, wie bei den Ueberserumgemischen, die stattgefundene Bindung eine Umlagerung herbeiführen sollte. Der merkwürdige Gegensatz zwischen dem Verhalten toxolabiler Sera in Ueberserumgemischen und neutralen Gemischen scheint uns in der That kein principieller zu sein und wir würden bis auf Weiteres daher auch daran festhalten, dass in beiden Fällen die Vereinigung von Toxin und Antitoxin nicht nach variablen, sondern nach constanten Proportionen statt hat. Denn das scheinbar gegensätzliche Verhalten in beiden Fällen erklärt sich uns am einfachsten damit, dass die durch Anlagerung des Toxins herbeigeführten secundären Veränderungen sowohl in neutralen, als auch in Ueberserumgemischen in gleicher Weise vor sich gehen; wir haben jedoch nur in den Ueberserumgemischen die Möglichkeit, eine solche Umlagerung physiologisch nachzuweisen und sie drückt sich eben in einem Verluste von Antitoxineinheiten aus; es ist wohl denkbar, ja sogar nicht unwahrscheinlich, dass dabei gleichzeitig noch andere uns bisher unbekannte Aenderungen physiologisch wirksamer Substanzen Platz greifen. In dem neutralisirten Gemische mögen sich die Verhältnisse vollkommen analog verhalten, es fehlen hier bloss, da eben alle Antitoxineinheiten schon von vorn herein durch das Toxin besetzt worden waren, die Merkmale, an denen die stattgefundenen Umlagerungen von uns erkannt würden. Es ist durchaus möglich, dass gerade die gleichzeitige Veränderung anderer Immunkörper, so der Agglutinine und Präcipitine während der Bildung neutraler Gemenge von Diphtherie-Toxin-Antitoxin den Nachweis der in letzteren vor sich gegangenen Umlagerung erleichtern würde.

Die wichtigsten Resultate vorliegender Untersuchungen lassen sich nachfolgend zusammenfassen.

1. Bei fractionirter Absättigung verschiedener Diphtherie-immunsera mit einem und demselben Toxin erfolgt die Absättigung bei den einen streng proportional der Menge des Toxinzusatzes (toxostabile Antitoxine), bei anderen disproportional (toxolabile Antitoxine), sodass die Absättigung in dem einen Falle eine Gerade, in dem anderen eine Curve darstellt.

2. Die verschiedene Art dieser Absättigung ist unabhängig von der Constitution des Toxins; sie ist abhängig von der Beschaffenheit der Immunsera.

3. Toxolabile Immunsera stellen nach partieller Absättigung mit Toxin toxostabile Antitoxine dar.

4. Neutrale, in Multiplen hergestellte Mischungen von Toxin und toxolabilem Antitoxin sind stabil.

Wien im October 1904.

Literatur-Verzeichniss.

1. Pick u. Schwoner, Beiträge zur Kenntniss des Diphtherieantitoxins und seiner Beziehungen zum Toxin. Wiener klin. Wochenschr. No. 40. 1904.
2. Ehrlich, P., Toxin und Antitoxin. Münchener med. Wochenschr. No. 33, 34 u. 52. 1903. — Derselbe, Ueber Giftcomponenten des Diphtherietoxins. Berl. klin. Wochenschr. No. 35—37. 1903. — Derselbe, Vorläufige Bemerkung zur Mittheilung von Arrhenius. Ebendas. No. 9. 1904.
3. Morgenroth, Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin, zugleich ein Beitrag zur Kenntniss der Constitution des Diphtheriegiftes. Zeitschr. f. Hygiene u. Infectiouskrankh. Bd. 48. Heft 2. 1904.
4. v. Dungern, Beitrag zur Kenntniss der Bindungsverhältnisse bei der Vereinigung von Diphtheriegift und Antiserum. Deutsche med. Wochenschr. No. 8/9. 1904.
5. H. Sachs, Ueber die Constitution des Tetanolymins. Berl. klin. Wochenschr. No. 16. 1904. — Derselbe, Ueber die Bedeutung des Danysz-Dungern'schen Kriteriums nebst Bemerkungen über Prototoxide. Centralbl. f. Bacteriol. etc. I. Abth. Orig. Bd. 37. Heft 2. 1904.
- 6a. Gruber u. v. Pirquet, Toxin und Antitoxin. Münch. med. Wochenschr. No. 28 u. 29. — Gruber, Wirkungsweise und Ursprung der activen Stoffe in den präventiven und den antitoxischen Seris. Wien. klin. Wochenschr. No. 40. 1903. Ferner: Toxin und Antitoxin. Münch. med. Wochenschr. No. 42 u. 52.
- 6b. Bordet, Sur le mode d'action des antitoxines sur les toxines. Annal. de l'Inst. Pasteur. Mars. No. 3. 1903. — Derselbe, Referat erstattet am hygien. Congress. Brüssel 1903.
7. Arrhenius u. Madsen, Anwendung der physik. Chemie auf das Studium der Toxine und Antitoxine. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 44. H. 1. Ferner: Centralbl. f. Bacteriol. Bd. 37. H. 1. Abth. I. Orig. — Madsen, Centralbl. f. Bacteriol. Bd. 34. 7. 1903. — Madsen u. Walbum, Toxines et antitoxines. De la ricine et de l'antiricine. Ebendas. Bd. 36. No. 2. 1904. Abth. I. Orig.
8. Eisenberg, Ueber die Bindungsverhältnisse zwischen Toxin und Antitoxin. Bull. de l'académie des sciences de Cracovie. Mai 1903.
9. Grassberger u. Schattenfroh, Ueber Rauschbrandgift und ein antitoxisches Serum. Leipzig-Wien. 1904. — Dieselben, Ueber die Beziehungen von Toxin und Antitoxin. Ebendas. 1904.
10. Martin u. Cherry, Proc. Roy. Soc. London 1898. Vol. 63. p. 420.
11. L. Cobbet, The nature of the action of antitoxins. The journal of pathology and bacteriology. Vol. 6. 1900. p. 193.
12. v. Calcar, Berliner klin. Wochenschr. No. 39. 1904.
13. Brieger, Weitere Erfahrungen über Bacteriengift. Zeitschr. f. Hygiene u. Infectiouskrankh. Bd. 19.
14. Jacoby, Ueber die chemische Natur des Ricins. Archiv für experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 46.
15. Faust, Ueber das Fäulnisgift Sepsin. Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 1904.
16. Danysz, Contribution à l'étude des propriétés et de la nature des melanges des toxines avec leurs antitoxines. Annales de l'Institut Pasteur. Tome XVI. No. 5. 1902.
- 16a. Siehe auch Kyes, Cobragift und Antitoxin. Berliner klin. Wochenschr. No. 19. 1904.
17. Landsteiner u. Jagic, Ueber Reactionen anorganischer Colloide und Immunkörperreactionen. Münch. med. Wochenschr. No. 27. 1904.
18. v. Dungern, Centralbl. f. Bacteriol. Bd. 34. No. 4. I. Abth.

- 19a. Biltz, Ueber Einwirkung arseniger Säure auf „frisch gefälltes Eisenhydroxyd“. Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. 37. 1904. No. 13. S. 3138.
 - 19b. Nernst, W., Ueber die Anwendbarkeit der Gesetze des chem. Gleichgewichts auf Gemische von Toxin und Antitoxin. Zeitschr. f. Elektrochemie u. angew. physik. Chemie. 10. Jahrg. No. 22. 1904.
 20. Lobry de Bruyn, Der Zustand wasserlöslicher, in Gelatine gebildeter Substanzen. Cit. nach Maly. Bd. 28. 1898. S. 121. Siehe ferner: A. Müller, Ueber Suspensionen in Medien von hoher innerer Reibung. Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. Jahrg. 37. 1904. S. 11. Hier findet sich auch die einschlägige Literatur.
 21. E. P. Pick, Beiträge zur Kenntniss der Immunkörper. Hofmeister's Beitr. Bd. 1.
 22. Kraus u. v. Pirquet, Centralbl. f. Bacteriol. 1902.
 23. Dehne u. Hamburger, Experimentaluntersuchungen über die Folgen parenteraler Einverleibung von Pferdeserum. Wien. klin. Wochenschr. No. 29. 1904.
 24. Ehrlich, P., Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung. Fortschr. d. Medicin. Bd. 15. 1897. S. 41.
 25. Calmette, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1895. IX. p. 250.
 26. A. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1896. Bd. 22. S. 263.
 27. Löwenstein, Ueber Katalasen in Bacterienfiltraten. Wiener klin. Wochenschr. No. 50. 1903.
 28. Dzierzowski, Zur Frage über die Beziehungen zwischen dem antidiphth. Heilserum und dem Diphtherietoxin. Arch. intern. de pharmacodyn. 1898. V. p. 1.
 29. Marenghi, Ueber die gegenseitige Wirkung antidiphth. Serums und des diphth. Toxins. Centralbl. f. Bact. 1897. Bd. 22. S. 520. Abth. I.
 30. Nikanorow, Wratsch. St. Petersburg. 1896. Nach Maly. Bd. 26. S. 983.
 31. Kraus u. Joachim, Zur Frage der passiven Immunisirung. Wiener klin. Wochenschr. No. 50. 1903.
-