

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der
Universität Berlin

(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Morgenroth)
und der Medizinischen Klinik der Universität Breslau.]
(Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Minkowski.)

Untersuchungen über die Genese des Rezidivs bei der experimentellen Trypanosomeninfektion.

Von

Dr. Felix Rosenthal,
Assistent der Klinik.

Im Verlaufe ihrer chemotherapeutischen Studien an Mäusen, die mit Trypanosomen infiziert waren, haben Ehrlich und seine Mitarbeiter Shiga, Franke, Röhl und Gulbransen auch das Problem der Rezidive bei Trypanosomenkrankheiten einer eingehenden experimentellen Untersuchung unterzogen und zuerst ihr Wesen mit voller Schärfe erfaßt. Bei der chemotherapeutischen Prüfung des der Gruppe der Azofarbstoffe angehörigen Trypanrots stellten Ehrlich und Shiga fest, daß das Trypanrot wohl für eine gewisse Zeit die Trypanosomen aus der Zirkulation von Mäusen und Ratten zum Verschwinden bringe, daß aber eine Dauerheilung nicht immer zu erreichen war. Nach einem bestimmten Zeitraum, innerhalb dessen das Blut der Versuchstiere sich als trypanosomenfrei erwies, trat das Rezidiv auf, dem die Tiere nun schnell erlagen. Aus dem Auftreten des Rezidivs ergab sich mit Notwendigkeit der Schluß, daß ein Teil der Trypanosomen in irgend einer Weise der trypanoziden Wirkung des chemotherapeutischen Agens entgehen müsse, und es lag nun die

Frage nahe, warum die zurückgebliebenen Trypanosomen sich nicht sofort, sondern erst nach einer Zeit von Wochen und Monaten wieder vermehrten, während die Schutzwirkung des Heilmittels schon wenige Tage nach dessen Injektion verschwindet.

Um diese Frage zu klären, welches die Faktoren seien, die eine Vermehrung der zurückgebliebenen Trypanosomen nach Ablauf der Trypanrot-Schutzwirkung verhinderten, wurde von Ehrlich, Shiga und Franke folgende Versuchsmethodik eingeschlagen: sie infizierten Mäuse, die durch Trypanrot von ihrer *Mal de Caderas*-Trypanosomeninfektion geheilt waren, nochmals mit diesen Trypanosomen nach, nachdem die trypanozide Wirkung des Trypanrot bereits abgeklungen war. Sie stellten nun fest, daß diese Neuinfektion nicht anging, ebenso wie alle Nachinfektionen, welche innerhalb von etwa 22 Tagen nach der Heilung der Infektion vorgenommen wurden. Es hat sich somit durch die Abheilung der Trypanosomeninfektion in den Versuchstieren eine echte, zeitlich begrenzte Immunität entwickelt.

Hatten Ehrlich und Shiga gehofft, aus dieser Erkenntnis heraus das Wesen der Rezidive erklären und ihre Genese auf eine vorübergehende, mehr oder weniger rasch abklingende Immunität und die Wirksamkeit residualer Keime „ungezwungen“ zurückführen zu können, so zeigte doch bald Ehrlich in weiteren mit Röhl und Gulbransen gemeinsamen Versuchen, daß das Problem des Rezidivs ein ungleich komplizierteres sei. Impft man nämlich Trypanosomen im Stadium des Rezidivs auf eine Reihe von Mäusen, die vorher mit dem Ausgangsstamm infiziert und durch Anwendung geeigneter chemotherapeutischer Agentien zur Heilung gebracht worden sind und damit immun gegen eine Nachinfektion mit dem gleichen Stamm geworden sind, und ferner auf eine zweite Reihe normaler Mäuse, so geht in beiden Reihen die Infektion gleich schnell an. Es haben sich somit in den Rezidivparasiten biologische Umsetzungen vollzogen, die Ehrlich auf Grund vielfach variierten Experimente dahin definieren konnte, daß die Erreger des Rezidivs nicht nur unempfindlich gegen die bei der Abheilung des Ausgangsstammes entstehenden Antikörper geworden waren, sondern auch ein vom Ausgangsstamm wesensdifferentes Rezeptorengerüst aufweisen.

Die so erzeugte Abänderung der Parasiten ist nicht oberflächlicher Art, sondern kann durch viele Monate und sogar auch Jahre hindurch bei Passagen durch normale Tiere unverändert fortgeführt werden. Während Ehrlich eine jahrelange Vererbung der Rezidivstammeigenschaften bei Mäuserezidivstämmen beobachtet hat, berichten Mesnil und Brimont und Neumann aus dem Morgenrothschen Laboratorium über Rezidivstämme, die ihre Rezidivstammeigenschaften allmählich wieder

verloren. So beschreiben Mesnil und Brimont einen von einem infizierten Togobock gewonnenen Trypanosomenstamm, der nach 19 Passagen in normalen Mäusen sich wieder zum Normalstamm zurückbildete. Neumann beobachtete, daß im Verlaufe von ca. 20 Tierpassagen ein Rezidivstamm von Nagana-Trypanosomen die bereits verlorengegangenen ursprünglichen Eigenschaften des Ausgangsstammes wieder annahm. Auch Braun und Teichmann machen bei ihren wichtigen Versuchen zur Immunisierung gegen Trypanosomen ähnliche Angaben. Sie berichten über einen Dourinestamm, welcher in 54 Passagen seine Rezidivstammeigenschaften verlor und interessanterweise in seinen Übergangsetappen schrittweise verfolgt werden konnte. Auch wir verfügen über eine analoge Beobachtung, über die wir weiter unten berichten werden.

Wir haben nun in den folgenden Experimenten versucht, durch ein eingehenderes Studium der an die chemotherapeutische Heilung der experimentellen Trypanosomeninfektion sich anschließenden Immunität einen tieferen Einblick in die Prozesse zu gewinnen, welche zur Bildung des Rezidivstammes führen. Unsere in dieser Richtung unternommenen Versuche knüpfen an die wichtige Angabe Ehrlichs an, daß Normal-Trypanosomen, im Reagensglase mit Immunserum digeriert, sich unter gewissen quantitativen Bedingungen zum Rezidivstamm umwandeln.

„In dem Ausgangsstamm“, so deutet Ehrlich in seinem Aufsatz „über Partialfunktionen der Zelle“ das Phänomen des differenten Verhaltens von Ausgangs- und Rezidivstamm, „ist eine bestimmte einheitliche Art von Nutrizeptoren, die wir als Gruppe „A“ bezeichnen wollen, in reichem Maße vorhanden. Werden nun die Parasiten innerhalb des Mäuseorganismus abgetötet und aufgelöst, so wirkt die Gruppierung „A“ als Antigen und erzeugt nun einen Antikörper, der seiner Entstehung nach Verwandtschaft zur Gruppe „A“ besitzt. Wenn man nun lebende Parasiten, sei es im Reagensglas, sei es in vivo, mit diesem Antikörper in Berührung bringt, so wird derselbe von den Trypanosomen verankert. Unter dem Einfluß dieser Besetzung erleiden in vivo die Parasiten diejenige biologische Abänderung, die zu dem Rezidivstamme überführt. Diese Abänderung geschieht in der Weise, daß in dem neuen Stamm die ursprüngliche Gruppierung „A“ verschwindet und dafür eine neue Gruppierung, die als „B“ bezeichnet werden möge, auftritt. Ist die Menge des Antikörpers sehr groß, so kann der Parasit sich überhaupt nicht mehr ernähren und stirbt ab. Man kann sich davon am einfachsten überzeugen, wenn man die Parasiten mit verschiedenen Mengen Antiserum im Reagensglase mischt. Bei den hohen Konzentrationen, die die Ernährungszufuhr vollkommen abbinden, erfolgt eine Abtötung der Parasiten; dagegen bildet sich ein Rezidivstamm bei den schwächeren Konzentrationen, die eine vita minima gestatten, in welcher die Mutation erfolgen kann. Diese Mutation ist also ausschließlich auf Hunger des Protoplasmas zurückzuführen, unter dessen Einfluß neue potentielle Anlagen der Trypanosomen zur Entfaltung kommen.“

Es vollzieht sich somit nach der Ehrlichschen Anschauung die Bildung des Rezidivstammes aus dem Ausgangsstamm in der Weise, daß bei Anwesenheit genügender, aber nicht letaler, spezifisch gegen den Ausgangsstamm gerichteter Antikörpermengen ein Umschlag der Trypanosomen in einer Richtung erfolgt, die die Erhaltung der Rasse auch unter den neuen Lebensbedingungen ermöglicht. Diese Vorstellung Ehrlichs ließ es also als das Nächstliegende erscheinen, daß zwischen dem trypanoziden Titer des Immunserums und seinem Vermögen, den Ausgangsstamm zum Rezidivstamm umzuformen, ein Parallelismus besteht.

Mit dem Mechanismus der biologischen Umwandlung der Normaltrypanosomen in Rezidivparasiten haben sich auch Levaditi und Muter-milch und Levaditi und Mc Intosh im Anschluß an die Mitteilungen Ehrlichs und seiner Schüler eingehend beschäftigt. Ihre Untersuchungen gehen insofern von einer etwas einseitigen Fragestellung aus, als sie sich ausschließlich mit dem Phänomen der Serumfestigkeit der Trypanosomen beschäftigen, mit der nach den geschilderten Befunden Ehrlichs, Röhl's und Gulbrandsens das Wesen der Rezidivstämme sich keineswegs erschöpft. Sie stellten in Übereinstimmung mit analogen, umfassenderen Versuchsergebnissen Ehrlichs, Röhl's und Gulbrandsens fest, „que l'état réfractaire peut naître, après un temps de contact in vitro extrêmement court (15 minutes)“, und sie schließen aus ihren Beobachtungen, „que la vaccination des trypanosomes est précédée par une véritable sélection, engendrée par les principes trypanolytiques dans le tube à essai. Les rares parasites doués d'une certaine immunité naturelle à l'égard des anticorps, résistent à la trypanolyse et engendrent l'infection chez la souris.“ Ein ähnliches Verhalten zeigen nach Untersuchungen von Levaditi und Stanesco die Spirillen des europäischen Rückfallfiebers (*Spirochaeta Obermeyer*), während die Spirillen der Hühnerspirillose diese beträchtliche in der Richtung der Serumfestigkeit tendierende Plastizität bei Immunserumkontakt nicht aufweisen.

Während Levaditi und seine Mitarbeiter mit Meerschweinchenimmunserum in ihren Versuchen arbeiteten, tritt nach unseren Erfahrungen bei Mäuseimmunseren eine Trypanolyse in vitro überhaupt nicht oder in nur sehr geringem Maße in die Erscheinung. Daß dem Mäuseimmunserum nicht etwa im Gegensatz zum Meerschweinchenimmunserum trypanolytische Eigenschaften fehlen, ergibt sich mit Sicherheit aus unseren Beobachtungen, daß intravenös injizierte Normal-Trypanosomen bei Mäusen, die 24 Stunden vorher durch Brechweinstein von ihrer Normal-Naganainfektion geheilt worden waren, einer rapiden Trypanolyse in der Zirkulation unterliegen. Möglicher-

weise eröffnen für dieses differente Verhalten des Mäuseimmunserums in vitro und in vivo die Befunde von Ritz ein Verständnis, wonach das in der üblichen Weise gewonnene Mäuseserum nur Mittelstück, nicht vollständiges Komplement enthält. Diese Befunde legen es jedenfalls nahe, daß vielleicht beim Entbluten der Mäuse antikomplementäre Prozesse sich im Serum abspielen, die beim Meerschweinchenserum nicht in Aktion treten. Wir sind mit weiteren Untersuchungen in dieser Richtung beschäftigt und möchten an dieser Stelle nur bemerken, daß wir analogen Verhältnissen bei hämolytischen Taubenblut-Mäuseambozeptoren begegnet sind. Während derartige Immunsera, entsprechend den Beobachtungen von Ritz bei Rinderblut-Mäuseimmunserum, in aktivem Zustand keinerlei hämolytische Wirkung auf Taubenblut im Reagensglase entfalten, werden die Taubenblutkörperchen bei intravenöser Injektion in entsprechend vorbehandelte Mäuse in der Zirkulation außerordentlich schnell aufgelöst, ein Beweis, daß in vivo Komplement bei Mäusen vorhanden sein muß.

Von der Absicht ausgehend, zunächst die optimalen zeitlichen Bedingungen zu fixieren, unter denen sich bei Kontakt der Trypanosomen mit spezifischem Immunserum der Umschlag des Normalstammes in den Rezidivstamm vollzieht, sind wir in unseren ersten Versuchen so vorgegangen, daß wir auf der Höhe der Infektion befindliche Normal-Nagana-mäuse mit 0.25^{cem} Tartarus stibiatus 1:1000 subkutan abheilten, dann in Abständen von 3, 6, 8, 24, 48 und 72 Stunden nach der Einführung des chemotherapeutischen Agens die Versuchstiere in je 2^{cem} physiologischer Kochsalzlösung entbluteten und je 1^{cem} dieser Aufschwemmung mit 1^{cem} einer +++ Normal-Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung während 45 Minuten bei Zimmertemperatur digerierten. Für die Wahl des Kaliumantimonyltartrats war vor allem die rasche Wirkung und das rasche Abklingen der chemotherapeutischen Wirksamkeit des Brechweinsteins maßgebend, der nach unseren Erfahrungen bereits 3 Stunden nach seiner Einführung keine prophylaktische Wirkung mehr entfaltet. Bei Verwendung der Seren ganz frisch abgeheilte Tiere haben wir den Serumkontakt der Parasiten auf 45 Minuten ausgedehnt, um möglichst optimale Reaktionsbedingungen zu schaffen. In späteren Versuchen erwies sich uns ein Serumkontakt von 10 bis 15 Minuten als ausreichend.

Nach Ablauf von 45 Minuten wurden dann Normalmäuse mit 0.2^{cem} der Mischung Trypanosomen+Immunserum intraperitoneal infiziert, die, wenn die Infektion anging, bei einem reichlichen Trypanosomengehalt des Blutes mit 0.25^{cem} Tartarus stibiatus 1:1000, bezw. mit 0.5^{cem} Arsacetin 1:100 subkutan abgeheilt wurden.

Als Kriterium für die biologische Umwandlung des Normalstammes zum Rezidivstamm diente die 24 bzw. 48 Stunden nach der Abheilung der Versuchstiere erfolgende Nachinfektion mit dem Normalausgangsstamm. Ging diese Infektion an, vermochte also die Abheilung der ersten Infektion eine erneute Infektion mit dem Ausgangsstamm nicht zu verhindern, so war damit entsprechend den biologischen Differenzen, wie sie als charakteristisch zwischen Ausgangsstamm und seinen Rezidivstämmen beschrieben worden sind, die Umwandlung des vorgeimpften Stammes zum Rezidivstamm gegeben. Versagte dagegen die Nachinfektion des Normalstammes, rief also die Abheilung des in vitro mit Immunserum digerierten Normalstammes eine Immunität gegen eine Neuinfektion mit dem gleichen Normalstamm hervor, so ließ sich aus dieser Immunitätsreaktion ersehen, daß der Umschlag des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm trotz des Kontaktes mit dem Serum der abgeheilten Tiere unterblieben war.

Während das Serum der nach 3, 6, 8 und 24 Stunden nach Applikation des Brechweinsteins entbluteten Tiere trotz des Kontaktes von 45 Minuten, der in einigen Fällen sogar bis zu 24 Stunden ausgedehnt wurde, ohne jeden Einfluß auf die hinzugefügten Trypanosomen blieb, gelang es uns durch Behandlung der Ausgangsparasiten im Reagensglase mit dem Serum eines 48 Stunden nach der chemotherapeutischen Behandlung getöteten Tieres einen Rezidivstamm aus dem Ausgangsstamm zu gewinnen. Diese Umprägung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm im Reagensglase blieb bei Benutzung eines 72 stündigen Serums aus.

Die folgenden Tabellen I und II geben diese Versuche wieder, deren Einzelheiten aus den Protokollen ersichtlich sind. Dabei waren, um zu einwandsfreien Resultaten zu gelangen, folgende Kontrolltiere notwendig, die entsprechend den Angaben der folgenden Tabellen eingestellt wurden. Hierzu gehören:

1. Infektionskontrollen, d. h. Tiere, welche mit der gleichen Menge Trypanosomen wie die Tiere des eigentlichen Versuches, nur ohne Immunserumzusatz infiziert wurden (z. B. Tabelle I M. 68a und M. 68b) und welche die Intensität und die Entwicklung der unbeeinflussten Infektion demonstrieren.

2. Prophylaktische Serumkontrollen, d. h. Tiere, welche, mit der im eigentlichen Versuch verwendeten Immunserummenge vorbehandelt, anzeigen, daß keine prophylaktische Wirkung mehr von dieser ausgeht (z. B. Tabelle I, M. 69a und M. 69b).

3. Prophylaktische *Tartarus stibiatus* — (T), bzw. *Arsacetin* — (A) Kontrollen, d. h. Tiere, welche mit dem Heilmittel vorbehandelt, anzeigen, daß keine für die Beurteilung der Nachinfektion bedeutungsvolle prophylaktische chemotherapeutische Wirkung mehr von diesem

Tabelle I.

M. 68—70b. 2-tägiges Immunsorum. (Nagana-Maus, 2 Tage nach der Abheilung mit 0.25^{cem} Tartarus stibiatus 1:1000 subkutan, entblutet in 2^{cem} 0.85 prozent. NaCl). 45 Minuten bei Zimmertemperatur mit gleichen Mengen einer +++ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl. 0.2^{cem} der Mischung intraperitoneal. T = Behandlung mit 0.25^{cem} Tartarus stibiatus 1:1000 subkutan.

Tage nach der Infektion	Normal-Trypanosomen mit 2-tägigem Immunsorum digeriert			Infektionskontrollen		Prophylaktische Serum- kontrollen		Prophylaktische T-Kon- trollen	
	M. 68	M. 69	M. 70	M. 68a	M. 68b	M. 69a	M. 69b	M. 70a	M. 70b
1.	++T	++T	++T	++	++	0.1 ^{cem} Immunsorum intra- peritoneal		--T	--T
2.	0	0	0	+++	+++	Intraperitoneal Normal-Nagana		Normal-Nagana ++ +++ +	++ +++ +
3.	++	++	++	+	+		++		
4.	+++	+++	+++				+++		
5.							+		

Tabelle II.

M. 71—74b. 3-tägiges Immunsorum. (Nagana-Maus, 3 Tage nach der Abheilung mit 0.25^{cem} Tartarus stibiatus 1:1000 subkutan, entblutet in 2^{cem} 0.85 prozent. NaCl). 45 Minuten bei Zimmertemperatur mit gleichen Mengen einer +++ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl. 0.2^{cem} der Mischung intraperitoneal. T = Behandlung mit 0.25^{cem} Tartarus stibiatus 1:1000 subkutan.

Tage nach der Infektion	Normal-Trypanosomen mit 3-tägigem Immunsorum digeriert			Infektionskontrollen		Prophylaktische Serum- kontrollen		Prophylaktische T-Kon- trollen	
	M. 71	M. 72	M. 72	M. 72a	M. 72b	M. 73a	M. 73b	M. 74a	M. 74b
1.	0	0	0	+	+	0.1 ^{cem} Immunsorum intra- peritoneal		--	--
2.	0	0	0	+++	+++			--	--
3.	0	0	0	+	+			--	--
4.	0	0	0					--	--
5.	0	0	0					--	--
6.	0	++T	++T					--T	--T
7.	0	0	0			Intraperit. Normal-Nagana		Intraperit. Normal-Nagana	
8.	0	0	0			++	+	+	+
9.	0	0	0			+++	+++	+++	+++
10.	0	0	0			+	+	+	+
11.	0	0	0			+	+	+	+
12.	0	0	0						

ausgeht (z. B. M. 70a und M. 70b in Tabelle I und Pr. 3a und 3b in Tabelle III).

3. Rezidivkontrollen, d. h. Tiere, die nach der Heilung nicht nachinfiziert wurden und den Zeitpunkt des eventuellen Rezidiveintrittes veranschaulichen, z. B. Pr. 4a und 4b in Tabelle III. (Diese Kontrollen wurden nicht in allen Versuchen angesetzt.)

Es geht somit aus Versuch I hervor, daß unter dem Einfluß von Immunserum *in vitro*, das von einer Maus 48 Stunden nach der Abheilung gewonnen war, der Ausgangsstamm die Eigenschaften von Rezidivstämmen annimmt. Dieser Rezidivstamm entwickelt sich, ohne daß eine Trypanozidie des Serums auch nur angedeutet in die Erscheinung tritt: die Infektion der mit Immunserum im Reagensglase digerierten Trypanosomen geht ebenso schnell an, wie die der Infektionskontrollen, sie befindet sich bereits 24 Stunden nach der intraperitonealen starken Infektion bei sämtlichen Versuchstieren auf der Höhe ihrer Entwicklung. Daß sich in der Tat unter dem Einflusse des Antiserums in den Ausgangstrypanosomen tiefgreifende biologische Umwandlungen in der Richtung des Rezidivstammes vollzogen haben, zeigt das Resultat der Nachimpfung mit dem Normalstamm, der sich in den abgeheilten Mäusen ungehemmt vermehrt und schließlich ihren Tod herbeiführt. Es vermögen somit die bei der Abtötung des mit Immunserum behandelten Normalstammes entstehenden Antikörper nicht den nachgeimpften Normalstamm anzugreifen, es bestehen mithin, wie die Immunitätsreaktion demonstriert, zwischen dem *in vitro* mit Immunserum behandelten und dem unberührten Ausgangsstamm die charakteristischen Differenzen, wie sie für Rezidivstamm und Ausgangsstamm typisch sind. Diese plötzliche sprunghafte Bildung des Rezidivstammes aus dem Ausgangsstamm im Reagensglase zeigt alle *Characteristica* der echten Mutation im Sinne de Vries': Sie entsteht sprunghaft, und der neue erworbene Charakter ist erblich, wie wir uns in 12 Passagen überzeugen konnten.

Zeigt bereits dieser Versuch I, daß die Trypanozidie des spezifischen Serums und seine Fähigkeit, den Ausgangsstamm *in vitro* zum Rezidivstamm umzuprägen, in keinem Abhängigkeitsverhältnis zueinander zu stehen scheinen, so stellt das folgende Experiment II das ergänzende Gegenstück hierzu dar, insofern, als hier trotz ausgeprägtester Trypanozidie des 72stündigen Immunserums die Umwandlung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm ausbleibt (S. 495).

Wir sehen hier als Ausdruck des trypanoziden Vermögens des Immunserums bei einem Tiere (M. 72) die Infektion außerordentlich verspätet

gegenüber den Infektionskontrollen angehen (M. 72a und M. 72b), die bereits nach einem Tage nach der intraperitonealen Infektion reichlich Trypanosomen in der Zirkulation enthalten; bei einem Versuchstiere (M. 71) reicht sogar die verwendete Immunserummenge aus, um ein Angehen der primären Infektion anscheinend definitiv zu verhindern. Obwohl also hier Serumkonzentrationen zur Verwendung gelangten, die sich in unmittelbarer Nähe der Dosis letalis certe efficax bewegen, schlägt der Ausgangsstamm nicht zum Rezidivstamm um, wie dies das Versagen der Nachinfektion mit Normalstamm beweist. Da die Möglichkeit bestand, daß die in M. 71 der trypanoziden Serumwirkung erliegenden Trypanosomen noch vor ihrer Vernichtung Rezidivstammeigenschaften angenommen haben konnten, so haben wir auch M. 71 7 Tage nach der Infektion von neuem mit Normaltrypanosomen nachinfiziert. Aus dem Ausbleiben auch dieser Nachinfektion geht hervor, daß die untergegangenen Trypanosomen bis zum Moment ihres Todes die Eigenschaften von Normalindividuen bewahrt haben.

Wir sehen somit in Tabelle I trotz des Fehlens einer prophylaktischen Serumwirkung sich den Rezidivstamm aus dem Normalstamm entwickeln, während in Tabelle II bei guter Prophylaxe kein Rezidivstamm bei Serumkontakt aus dem Normalstamm entsteht. Es geht hieraus hervor, daß der trypanozide Titer eines spezifischen Trypanosomenimmunserums nicht für die Umbildung des Normalstammes zum Rezidivstamm den maßgebenden Faktor darstellt.

Nach diesen Feststellungen sind wir an der Hand eines größeren Versuchsmaterials der Frage näher getreten, ob die Dissonanz zwischen Trypanozidie und Rezidivstammbildungsvermögen, wie wir sie soeben beschrieben haben, auch bei anderen, zeitlich verschiedenen spezifischen Seren zutage tritt.

In den folgenden Tabellen geben wir weitere Typen unserer Reagensglasversuche wieder.

Im Versuch III besteht ein gewisser Parallelismus zwischen dem Grade der prophylaktischen Wirkung des Serums und seiner Fähigkeit, den Normalstamm in den Rezidivstamm umzuwandeln. In diesem Versuche wurde das Serum einer 4 Tage nach der Abheilung (mit 2×0.005 Arsacetin) befindlichen Maus verwendet, das mit gleichen Mengen einer +++ Normal-Trypanosomenaufschwemmung 10 Minuten bei 37° in vitro digeriert wurde. Während bei den Infektionskontrollen Pr. 2a und Pr. 2b bereits 24 Stunden nach der intraperitonealen Impfung die Infektion deutlich entwickelt ist, erscheinen in den Versuchstieren Pr. 2 bis Pr. 5, die mit der gleichen, aber der Immunserumwirkung

Tabelle III.

Pr. 1—5. 4tägiges Immunsorum. (Nagana-Maus, 4 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005^{cem} Arsacetin, entblutet in 2^{cem} 0.85 prozent. NaCl). 10 Minuten bei 37° mit gleichen Mengen einer $+++$ Nagana-Trypanosomen-aufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl. 0.2^{cem} der Mischung intraperitoneal. (Geringe Agglomeration erst nach 8^h .)
A = Behandlung mit Arsacetin 0.5^{cem} 1:100 subkutan.

Tage nach der Infekt.	Normal-Trypanosomen mit 4tägigem Immunsorum digeriert					Infektionskontrollen		Prophylaktische Serunkontrollen		Prophylaktische Arsacetinkontrollen		Rezidivkontrollen	
	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4	Pr. 5		Pr. 2a	Pr. 2b	Pr. 1	Pr. 1a	Pr. 3a	Pr. 3b	Pr. 4a	Pr. 4b
1.	0	0	0	0		+	+	0.1 ^{cem} Immunsorum intraperitoneal		—	—	+	+
4.	(+)	(+)	(+)	(+)		+	+	—	—	—	—	0 A	0 A
5.	++ A	++ A	++ A	++ A				—	—	— A	— A	0	0
6.	— A	— A	— A	— A				—	—	— A	— A	—	—
9.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.				—	—	—	—	0	0
10.	++	++	0	+				++	++	++	++	0	0
11.	+++	+++	+	+++				+++	+++	+++	+++	0	0
12.	+	+	+++	+				+	+	+	+	0	0
13.			+									0	0

Am 3. Tage $+++$ behandelt mit A

ausgesetzten Trypanosomenmenge infiziert sind, die ersten Parasiten erst am 4. Versuchstage spärlich in der Zirkulation zu einer Zeit, wo die Infektionskontrollen der Trypanosomenseptikämie bereits erlegen sind. Diese verspätet auftretenden Parasiten sind zu Trägern von Rezidivstammeigenschaften geworden; denn, wie das Resultat der Nachimpfung mit Normal-Nagana nach erfolgter Abheilung zeigt, ruft ihre Abheilung keine Immunität gegen dem nachinfizierten Ausgangsstamm hervor, obwohl sie sich von ihm ursprünglich ableiten.

Die gleichen Verhältnisse zeigt der nächste Versuch IVa.

Tabelle IVa.

Pr. 64—68. 5tägiges Immunserum. (2 Nagana-Mäuse, 5 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005 ccm Arsacetin, entblutet in 4.0 ccm 0.85 prozentiger NaCl.) Absteigende Mengen des Immunserums mit 0.6 ccm einer ++ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 proz. NaCl 10 Minuten bei Zimmertemperatur digeriert. 0.3 ccm der Mischung intraperitoneal. A = Behandlung mit Arsacetin 0.6 ccm 1:100 subkutan.

Tage nach der Infektion	0.6 ccm Normal-Trypanosomen mit 5 tägig. Immunserum digeriert in Mengen von			Infektionskontrollen	
	0.1 ccm	0.3 ccm	0.5 ccm	Pr. 66a	Pr. 66b
	Pr. 64	Pr. 66	Pr. 68		
1.	0	0	0	+	+
3.	0	0	0	+++	+++
	Am 4. Tage tot.				
5.	++	0	++		
6.	+++ A † Intraperit. auf Pr. 64a	0	+++ A † Intraperit. auf Pr. 68a		
10.		0			
12.		0			
16.		0			

Hier tritt die trypanozide Wirkung des 5tägigen Immunserums noch deutlicher als in dem vorangehenden Versuch in die Erscheinung. Zur Gewinnung des Immunserums wurden 2 Naganamäuse 5 Tage nach ihrer Abheilung mit 2×0.005 Arsacetin (in Abständen von 24 Stunden subkutan appliziert) in 4.0 ccm 0.85 Prozent NaCl entblutet. Absteigende Mengen des Immunserums wurden dann, wie in der Tabelle angegeben, mit 0.6 ccm einer ++ Normal-Nagana-Trypanosomenaufschwemmung 10 Min. bei Zimmertemperatur im Reagensglase digeriert und mit physiologischer Kochsalzlösung auf gleiche Volumina aufgefüllt. Je 0.3 ccm der verschie-

denen Serumkonzentrationen zusammen mit den Trypanosomen wurden den in dem Protokoll angeführten Versuchstieren Pr. 64, 66, 68 intraperitoneal infiziert. Als Infektionskontrollen dienten die Mäuse Pr. 66a und 66b, die mit der gleichen Menge unbehandelter Normal-Trypanosomen infiziert wurden. Die Stärke der gesetzten Infektion ist aus dem Verlauf der unbeeinflussten Infektion bei Pr. 66a und Pr. 66b ersichtlich. Bereits am nächsten Tage sind reichlich Trypanosomen in der Zirkulation der Kontrolltiere, die am 4. Tage nach der Infektion ihrer Septikämie erliegen. Wie die Protokolle der Versuchstiere Pr. 64, 66, 68 nun zeigen, erleidet unter dem Einfluß des Immunserumkontaktes der Normal-Trypanosomen im Reagensglase die Infektion eine erhebliche Verzögerung, indem erst am 5. Tage reichlich Trypanosomen in der Zirkulation der Mäuse nachzuweisen sind. Bei Pr. 66 erweist sich die verwendete Serummenge von 0.3 ccm auf 0.6 ccm einer +++ Normal-Naganaaufschwemmung als ausreichend, um ein Angehen der Infektion definitiv zu verhindern. Die Versuchsanordnung erfuhr in diesem Versuch dadurch eine Änderung, daß bei Pr. 64 und Pr. 68 die chemotherapeutische Behandlung bei zu weit vorgeschrittener Infektion erst einsetzte, so daß sie erfolglos blieb und die Tiere an ihrer Infektion zugrunde gingen. Die Parasiten wurden daher durch Überimpfung des Herzblutes jeder einzelnen Maus auf frische Mäuse (Tabelle IVb, Pr. 64a und 68a) übertragen.

Tabelle IVb.

Tage nach der Infekt.	Pr. 64a	Pr. 68b	Rezidiv- kontrolle zu Pr. 64a	Rezidiv- kontrolle zu Pr. 68a	Prophylaktische A-Kontrollen		Prophylaktische A-Kontrollen	
					Pr. 64b	Pr. 64c	Pr. 68b	Pr. 68c
1.	+	0	+	0	—	—	—	—
2.	++ A	0	++ A	0	A	A	—	—
4.	0 Normal- Nagana intraperit.	+	0	+	Normal- Nagana intraperit.	Normal- Nagana intraperit.	—	—
5.	+++	+++ A	0	+++ A	++	+++	A	A
6.	†	0	0	0	+++	†	—	—
7.		0 Normal- Nagana intraperit.	0	0	†		Normal- Nagana intraperit.	Normal- Nagana intraperit.
8.		(+)	0	0			(+)	(+)
10.		+++	0	0			+++	+++
11.		†	0	0			†	†

Die angehenden Trypanosomen erwiesen sich hierbei als typische Rezidivparasiten, da die an die Abheilung derselben sich anschließende Immunität gegenüber der Nachinfektion mit Normal-Naganastamm versagte.

Über die Schnelligkeit, mit der die Umwandlung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm sich vollzieht, geben diese Versuche keinen Aufschluß. Wenn auch der Kontakt der Normalindividuen mit Immuns serum im Reagensglase sich nur auf 10 Minuten bei Zimmertemperatur erstreckt, so ist es doch bei der beträchtlichen Verzögerung der Infektion in diesen Fällen immerhin sehr wahrscheinlich, daß der eigentliche Prozeß des Umschlages vom Ausgangsstamm zum Rezidivstamm während der mehrere Tage bestehenden Latenz der Infektion im Tierkörper stattfindet. Für die hier vorliegenden Verhältnisse würde die Annahme, daß die trypanoziden Immunkörper das ätiologische Moment für die Umwandlung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm bilden, als erklärendes Prinzip genügen. Daß diese Vorstellungen von der Genese des Rezidivs jedoch der Mannigfaltigkeit der sich im Experiment darbietenden Erscheinungswelt nicht gerecht werden, ist bereits bei Versuch I und II gezeigt worden und ergibt sich gleichfalls aus den folgenden Typen unserer Reagensglasversuche.

Tabelle V und VI zeigen analoge Verhältnisse wie Versuch II bei einem 6 tägigen, bzw. 11 tägigen Immuns serum: starke Trypanozidie des Serums, ohne daß der mit dem Serum behandelte, verzögert sich entwickelnde Stamm Rezidivstammeigenschaften angenommen hat. Versuch V erscheint in dieser Hinsicht besonders markant, da die im Versuch verwendeten Serumkonzentrationen hart an die Dosis letalis certe efficax grenzen, wie dies das Ausbleiben der Infektion bei Maus Pr. 7 und Pr. 10 beweist. Auch bei den Mäusen Pr. 8 und 9, bei den die Infektion schließlich angeht, tritt die trypanozide Fähigkeit des verwendeten 6 tägigen Immuns serums deutlich in die Erscheinung, indem bei beiden Tieren die Infektion sich erheblich verzögert gegenüber den Kontrollen entwickelt. Die Infektionskontrolltiere Pr. 7a und Pr. 7b sind am 3. Tage nach der intraperitonealen Infektion gestorben, dagegen befindet sich bei Pr. 8 erst am 4. Tage die Infektion auf der Höhe ihrer Entwicklung und bei Pr. 9 ist sogar die Infektion erst am 9. Versuchstage, also 6 Tage nach dem Tode der Kontrollmäuse, voll ausgeprägt.

Trotzdem also Serummengen zur Anwendung gelangen, die entsprechend ihrer erheblichen prophylaktischen Wirkung eine beträchtliche trypanozide Wirkung erhalten, erfolgt bei Pr. 8, Pr. 9, Pr. 115 kein Umschlag des Normalstammes zum Rezidivstamm. Denn, wie das Ergebnis der Nachinfektion mit dem Normalstamm demonstriert, versagt bei diesen Tieren die Nachinfektion, es hat sich somit mit der Abheilung der mit

Tabelle V.

Pr. 6—10. 6 tages Immunserum. (Nagana-Maus, 6 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005 cem Arsacetin, entblutet in 2 cem 0.85 Prozent. NaCl.) 10 Minuten bei 37° mit gleichen Mengen einer +++ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 Prozent. NaCl. 0.2 cem der Mischung intraperitoneal. (Nach 10 Minuten geringe Agglomeration, nach 8 h enorme Agglomeration.) A = Behandlung mit Arsacetin 0.5 cem 1:100 subkutan.

Tage nach der Infekt.	Normal-Trypanosomen mit 6 tages Immunserum digeriert				Infektionskontrollen		Prophylaktische Serunkontrollen		Prophylaktische Arsacetinkontrollen		Rezidivkontrollen	
	Pr. 7	Pr. 8	Pr. 9	Pr. 10	Pr. 7a	Pr. 7b	Pr. 6	Pr. 6a	Pr. 8a	Pr. 8b	Pr. 9a	Pr. 9b
1.	0	0	0	0	+	+	0.1 cem Immunserum intraperitoneal				+	+
4.	0	+++ A	0	0	† ₃	† ₃	—	—	— A	—	Am 3. Tage + + + . Behandelt mit A	
5.	—	0 A	0	—			—	—	— A	—	0 A	0 A
9.	0	0	+++ A	0				—	0	— A	0	0
		Normal-Nagana intraperit.					Normal-Nagana intraperit.		Normal-Nagana intraperit.			
10.	—	0	0 A	—			+++	—	+	A	—	—
12.	0	0	0	0			+		+		0	0
			Normal-Nagana intraperit.					Normal-Nagana intraperit.				
14.	0	0	0	—				++		++	0	0
20.	0	0	0	0							0	0

Immunserum digerierten Parasiten eine echte Immunität gegen den Ausgangsstamm ausgebildet, mit anderen Worten: die der spezifischen Wirkung des Immunserums ausgesetzten Normal-Trypanosomen haben trotz der starken trypanoziden Kraft der Sera die charakteristischen Eigenschaften des Ausgangsstammes bewahrt. Trypanozidie und Rezidivstammbildungsvermögen eines Trypanosomenimmunserums stehen somit nicht in einer direkten Proportion zueinander, sondern scheinen voneinander unabhängig zu sein.

Tabelle VI.

Pr. 115—118b. 11 tages Immunserum. (1 Nagana-Maus, 11 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005^{ccm} Arsacetin, entblutet in 2.0^{ccm} 0.85 prozentiger NaCl.) 0.5^{ccm} des Immunserums mit 0.5^{ccm} einer + + + Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozentiger NaCl 10 Minuten bei Zimmertemperatur digeriert. 0.2^{ccm} der Mischung intraperitoneal.

A = Behandlung mit 0.5^{ccm} Arsacetin 1:100 subkutan.

Tage nach der Infektion	Normal-Trypanosomen mit 11 tages Immunserum digeriert	Infektionskontrollen		Prophylaktische Arsacetinkontrollen		Prophylaktische Serumkontrolle
	Pr. 115	Pr. 116a	Pr. 116b	Pr. 117a	Pr. 117b	Pr. 115a
1.	0	+	+	—	—	0.1^{ccm} Immunserum intraperit.
2.	0	+ + +	++	—	—	—
3.	0	†	+ + + †	—	—	—
4.	(†)			—	—	—
5.	+ + A			— A	— A	—
6.	— A			— A	— A	—
10.	0			—	—	—
	Normal-Nagana intraperitoneal			Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperitoneal
11.	0			+	+	+
12.	0			+ + +	+ + +	+ + +
15.	0			Am folgenden Tage beide Mäuse †		Am folgenden Tage Maus †

Dies kommt auch in dem folgenden Versuch VII zum Ausdruck, der in Übereinstimmung mit Protokoll I bei Verwendung eines 13 tages Immunserums den Nachweis liefert, daß auch umgekehrt bei Fehlen trypanozider Eigenschaften das Immunserum exquisit rezidivstammbildende Eigenschaften besitzen kann.

Tabelle VII.

Pr. 16—20. 13 tages Immunserum. (Nagana-Maus, 13 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005 Arsacetin, entblutet in 2^{cem} 0.85 prozent. NaCl.) 10 Minuten bei Zimmertemperatur mit gleichen Mengen einer $+++$ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl. 0.2^{cem} der Mischung intraperitoneal. (Wohl kaum Agglomeration). A = Behandlung mit 0.5^{cem} Arsacetin 1:100 subkutan.

Tage nach der Infekt.	Normal-Trypanosomen mit 13 tages Immunserum digeriert				Infektionskontrollen		Prophylaktische Kontrollen		Prophylaktische Arsacetinkontrollen		Rezidivkontrollen	
	Pr. 17	Pr. 18	Pr. 19	Pr. 20	Pr. 16	Pr. 16a	Pr. 17a	Pr. 17b	Pr. 18a	Pr. 18b	Pr. 19a	Pr. 19b
1.	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	++	+++	0.1 ^{cem} Immunserum intraperitoneal		— A	— A	+++ A	+++ A
2.	— A	— A	— A	— A	+++	+++ +	—	—	— A	— A	— A	— A
4.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	+		—	—	—	—	0	0
5.	+++	+++	+++	+			+++	+++	+++	+++	0	0
6.	+	+	+	+++			+	+	+	+	0	0
7.				+							0	0

Im Laufe der Passagen konnten wir bei diesem Stamm eine Rückverwandlung in den Ausgangsstamm beobachten, die wir in ihren verschiedenen Etappen verfolgen konnten und über die wir weiter unten noch ausführlich berichten werden (vgl. S. 525).

Ziehen wir das Fazit aus unseren bisherigen Untersuchungen, so geht aus ihnen hervor, daß es in Übereinstimmung mit den wichtigen Angaben Ehrlichs, Röhl's und Gulbrandsens bei Anwendung zwei- bis vieltägiger Trypanosomenimmunsera gelingt, durch Behandlung von Trypanosomen im Reagensglase mit spezifischem Serum die Trypanosomen so zu verändern, daß sie sich im Tierkörper als Träger von Rezidivstammeigenschaften entwickeln. Ein Parallelismus zwischen dem trypanoziden Titer eines spezifischen Immunserums und seiner Fähigkeit, die Normalindividuen in den Zustand der Rezidivparasiten hinüberzuführen, besteht jedoch nicht.

Die in den vorangehenden Experimenten gewählte Versuchsmethodik gewährt nur einen beschränkten Einblick in die biologischen Prozesse, wie sie sich in den der spezifischen Serumwirkung im Reagensglase ausgesetzten Parasiten vollziehen. Wir sind in diesen Versuchen ja so vorgegangen, daß wir die biologischen Qualitäten der mit Immunserum behandelten, im Tierkörper sich entwickelnden Trypanosomen mit Hilfe der an die chemotherapeutische Abheilung der Infektion sich anschließenden Nachinfektion mit dem Normal-Ausgangsstamm prüften. Ging diese Infektion an, so war damit die Umwandlung des vorgeimpften Stammes zum Rezidivstamm gegeben. Versagte dagegen die Nachinfektion des normalen Ausgangsstammes, so wurde hieraus geschlossen, daß der Umschlag des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm trotz des Kontaktes mit dem Serum der abgeheilten Tiere unterblieben war. Es ist nun klar, daß derartige Schlüsse nur unter der Voraussetzung ihre Gültigkeit besitzen, daß im Experiment die in Betracht kommenden Extreme erfüllt sind, daß nämlich entweder die Umwandlung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm oder das Ausbleiben dieses Umwandlungsprozesses alle Individuen gleichmäßig betrifft. Auf die zwischen diesen Extremen liegenden experimentellen Möglichkeiten läßt jedoch die bisherige Versuchsanordnung keine Rückschlüsse zu. Nehmen wir z. B. an, wofür noch der experimentelle Beweis zu erbringen sein wird, daß der Umschlag der Ausgangsparasiten zu Rezidivtrypanosomen dank den zwischen den einzelnen Parasiten bestehenden individuellen Differenzen sich nicht in allen Individuen des betreffenden Stammes gleichmäßig vollzieht, daß trotz des Serumkontaktes nur ein Teil der Ausgangstrypanosomen Rezidivstammeigenschaften annimmt, ein anderer der Umwandlung nicht unterliegt, so entstehen bei

der Abheilung eines solchen Mischstammes Antikörper, die zum Teil gegen den entstandenen Rezidivstamm, zum Teil aber auch gegen den Ausgangsstamm gerichtet sind. Die Folge hiervon dürfte sein, daß die Nachinfektion mit dem Ausgangsstamm nicht angeht, obwohl eine gewisse Zahl von Individuen unter dem Einfluß des spezifischen Serums eine biologische Konstitutionsänderung in der Richtung des Rezidivstammes erfahren hat. In allen unseren bisherigen Versuchen, in denen sich die Nachinfektion mit Normal-Nagana als erfolglos erweist, ist somit im Grunde genommen nur die Schlußfolgerung berechtigt, daß trotz starker Trypanozidie des betreffenden Serums bei einer nicht unbeträchtlichen Menge von Individuen eine Umwandlung zu Individuen mit Rezidivstammeigenschaften ausbleiben kann. Ob nicht daneben bei anderen Individuen des gleichen Ausgangsstammes die Umprägung zum Rezidivparasit unter Serumkontakt doch stattfindet, muß unter der bisherigen Methodik in suspenso gelassen werden.

Um diese Lücke in unseren Versuchen zu füllen, wurden die folgenden Experimente unternommen. Die ausführliche Schilderung derselben gibt zugleich einen Überblick über die angewandte Versuchsmethodik.

Versuch VIII.

Pr. 153a. Nagana-Maus, 8 Tage nach der Abheilung mit 2mal 0.5 Arsacetin 1:100, wird in 2^{ccm} 0.85 Prozent. NaCl-Lösung entblutet. 0.5^{ccm} dieser Blutsuspension werden mit 0.5^{ccm} einer +++-Normal-Naganaaufschwemmung in 0.85 Prozent. NaCl-Lösung 15 Minuten bei Zimmertemperatur digeriert. Hierauf werden 0.2^{ccm} der Mischung einer normalen Maus Pr. 153a intraperitoneal injiziert.

Tabelle VIIIA.

A = Behandlung mit 0.5^{ccm} Arsacetin 1:100 subkutan.

Datum	Pr. 153a	Infektionskontrolle
		0.1 ^{ccm} der Tryp.-Suspension intraperitoneal
13. X. 1912	Intraperitoneal	Intraperitoneal
14. X. „	0	+ - + +
15. X. „	0	+ + +
16. X. „	0	+ + + †
19. X. „	(+)	
20. X. „	+	
21. X. „	+ + + A → Pr. 162	
22. X. „	0 A	
24. X. „	Normal-Nagana intraperit. 0	Normal-Nagana intraperit.
25. X. „	0	+ +
26. X. „	0	+ + + †
2. XI. „	0	

Wie die Tabelle zeigt, geht der mit dem 8 tägigen Immunserum digerierte Normalstamm unter sehr erheblicher Verzögerung gegenüber den Infektionskontrollen an. Während diese bereits am 16. X. 12 der Infektion erlegen sind, treten erst 3 Tage später, am 19. X. 12 die Trypanosomen bei Pr. 153a spärlich in der Zirkulation auf. Am 21. X. 12 befindet sich die Maus auf der Höhe der Infektion. Kurz vor der chemotherapeutischen Abheilung mit 0.5^{cem} Arsacetin 1:100 subkutan, einer Dosis, die auch am 22. X. 12 zum Zwecke einer sicheren Heilung wiederholt wird, wird der Stamm auf die Normal-Maus Pr. 162 überimpft und dann auf inzwischen vorbereitete, mit Normal-Nagana infizierte und mit Arsacetin abgeheilte Mäuse am 24. X. 12, an dem die Maus Pr. 162 einen reichlichen Trypanosomengehalt im Blut besitzt, intraperitoneal übertragen (Tabelle VIIIc, Pr. 171 bis 173).

Tabelle VIIIb.
Pr. 162. Subk. v. Pr. 153.

Datum	Subkutane Infektion
21. X. 1912	—
23. X. „	+
24. X. „	+++

Entblutet. Überimpft auf Pr. 171—173.

Wir prüfen somit das biologische Verhalten des mit Immunserum digerierten Normal-Stammes in diesem Versuche wie in den beiden folgenden Experimenten mit Hilfe von zwei Immunitätsreaktionen: 1. mit der bisher angewandten Methode, indem wir den der spezifischen Serumwirkung ausgesetzten Normal-Stamm im Mausekörper abtöten und Normal-Stamm nachimpfen (vgl. Pr. 153a) und 2. dadurch, daß wir den unter Serumkontakt gewesenen Ausgangsstamm bei vollentwickelter Infektion auf Mäuse übertragen, die, mit dem Ausgangsstamm vorgeimpft, bei beträchtlichem Trypanosomengehalt des Blutes abgeheilt worden waren (vgl. Pr. 171 bis 172). Die letztere Methode, bei der in gleicher Weise die charakteristischen biologischen Differenzen zwischen Ausgangsstamm und Rezidivstamm in die Erscheinung treten müssen, hat den Vorteil, das selbst vereinzelte Rezidivparasiten, einer größeren Menge von Normal-Individuen beigemischt, der Beobachtung im Experiment nicht entgehen können, da die bei der Abheilung des Normalstammes entstehenden spezifischen Antikörper ihnen gegenüber wirkungslos bleiben. Sie erfahren auf diese Art gewissermaßen einen Filtrationsprozeß, durch welchen sie von den ihnen beigemischten

Normal-Individuen mit den Eigenschaften des Ausgangsstammes gereinigt werden. Versagt also bei Vorinfektion und Abheilung des Ausgangsstammes die Nachinfektion des im Reagensglase mit Immuns serum behandelten Stammes, so ist mithin der Schluß gerechtfertigt, daß sämtliche Individuen dieses Stammes trotz des Serumkontaktes in vitro ihre Normal-Stammeigenschaften bewahrt haben. Dies trifft auch in der Tat für den im Versuch VIII mit 8 tägigem Immuns serum in vitro digerierten Normal-Stamm zu. Seine Abheilung in VIIa verhindert das Angehen der Nachinfektion mit Normal-Nagana, ebenso vermag auch in VIIc die Abheilung der Vorinfektion mit Normal-Nagana die Versuchstiere Pr. 171 und 172 vor einer neuen Infektion mit dem der Serumwirkung in vitro ausgesetzten Stamme zu schützen.

Tabelle VIIc.

Datum	Intraperitoneale Infektion		
	Pr. 171	Pr. 172	Infektionskontrolle
			Pr. 173
18. X. 1912	Normal-Nagana	Normal-Nagana	—
20. X. „	++ A	++ A	— A
21. X. „	A	A	— A
24. X. „	0 Pr. 162	0 Pr. 162	Pr. 162
25. X. „	0	0	+
26. X. „	0	0	+++
27. X. „	0	0	†
29. X. „	0	0†	
2. XI. „	0	Im Herzblut keine Trypanosomen	

Das gleiche Ergebnis weist der folgende Versuch IX auf, bei dem unter gleicher Versuchsmethodik ein 12 tägliches Immuns serum zur Verwendung gelangte.

Versuch IX.

Pr. 159a und Pr. 159b. Nagana-Maus, 12 Tage nach der Abheilung mit 2mal 0.5 Arsacetin 1:100, wird in 2^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung entblutet. 0.5^{cem} dieser Blutsuspension werden mit 0.5^{cem} einer +++ Normal-Naganaaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl-Lösung 15 Minuten bei Zimmertemperatur digeriert. Hierauf 0.2^{cem} der Mischung intraperitoneal bei Maus Pr. 159a und b. A = Behandlung mit 0.5^{cem} Arsacetin 1:100 subkutan.

Tabelle IXa.

Datum	Pr. 159a	Pr. 159b	Infektionskontrolle	
			Pr. 161	Pr. 167a
17. X. 1912	Intraperitoneal	Intraperitoneal	0·1 Tryp.-Aufschwemmung intraperitoneal	—
18. X. "	0	0	++	—
19. X. "	0	0	+++ †	—
21. X. "	0	0		—
22. X. "	(+) → Pr 166	(+)		—
23. X. "	++ A	++ A		— A
24. X. "	A	A		— A
26. X. "	Normal-Nagana intraperitoneal	Normal-Nagana intraperitoneal		Normal-Nagana intraperitoneal
27. X. "	0	0		++
28. X. "	0	0		+++ †
6. XI. "	0	0		

Auch hier entwickeln sich die *in vitro* mit dem Immunserum digerierten Trypanosomen erheblich verspätet gegenüber den Kontrollen, und das Versagen der Nachinfektion mit Normal-Nagana zeigt, daß zum mindesten ein großer Teil der Normal-Parasiten trotz des Serumkontaktes im Reagensglase die Eigenschaften des Ausgangsstammes bewahrt hat (Pr. 159a und b). Daß trotz der ausgesprochenen Trypanozidie des verwendeten Serums auch nicht einmal in vereinzelt Individuen sich ein Umschlag in der Richtung des Rezidivstammes vollzogen hat, beweist alsdann die im Versuch VIII eingehend geschilderte Versuchsanordnung. Wir haben am 22. X. 12, als bei Pr. 159a die ersten Trypanosomen in der Zirkulation erschienen, etwas Schwanzblut auf Pr. 166 übertragen und am 24. X. 12 die im Blut reichlich vorhandenen Trypanosomen auf die mit Normal-Nagana vorinfizierten und dann abgeheilten Mäuse Pr. 173 bis 174 und auf die Infektionskontrolle Pr. 175 intraperitoneal überimpft (siehe Versuch IXb und IXc).

Tabelle IXb.

Pr. 166. Überimpft von Pr. 159a.

Datum	Intraperitoneale Infektion
22. X. 1912	—
24. X. "	++ Überimpft auf Pr. 173—175

Diese Nachinfektion geht bei Pr. 173 und 174 nicht an, beide Tiere sind noch nach 12 Tagen am 5. XI. 12 trypanosomenfrei, obwohl die gleiche Infektion bei dem nicht vorinfizierten Tiere Pr. 175 innerhalb von 3 Tagen zum Tode geführt hat. Daß nicht etwa eine prophylaktische Wirkung des zur Abheilung am 21. und 22. X. 12 benutzten Arsacetins interferiert, zeigt die gleiche Kontrolle Pr. 175, deren 2 malige Vorbehandlung mit 0.5 Arsacetin 1:100 subkutan ohne Einfluß auf die am 24. X. 12 erfolgende Nachinfektion mit Pr. 166 bleibt. Es liefert somit der Ausfall dieses Versuches IX ebenso wie Versuch VIII einen erneuten Beweis, daß trotz starker Trypanozidie des Immunserums eine Umwandlung der Normal-Parasiten zu Rezidivparasiten völlig ausbleiben kann, und daß der trypanozide Titer eines spezifischen Trypanosomenimmunserums und die rezidivstambbildenden Funktionen des gleichen Serums in keinem Verhältnis zueinander stehen.

Tabelle IXc.

Datum	Intraperitoneale Infektion		
	Pr. 173a	Pr. 174	Kontrolle
			Pr. 175
18. X. 1912	Normal-Nagana	Normal-Nagana	—
21. X. „	+++ A	+++ A	— A
22. X. „	A	A	— A
24. X. „	Intraperit. von Pr. 166	Intraperit. von Pr. 166	Intraperit. von Pr. 166
25. X. „	0	0	+
26. X. „	0	0	++
27. X. „	0	0	+++ †
31. X. „	0	0	
5. XI. „	0	0	

Nicht in allen Versuchen, in denen sich die Nachinfektion mit Normal-Nagana nach Abheilung der Infektion des mit Immunserum in vitro behandelten Ausgangsstammes als erfolglos erwies, hatten wir das gleiche Resultat zu verzeichnen, daß trotz Kontaktes der Trypanosomen mit einem stark trypanoziden Immunserum in vitro sämtliche Individuen vor der Umwandlung in Rezidivparasiten verschont blieben. So konnten wir in einem Versuche, dessen Protokoll wir im folgenden wiedergeben, beobachten, daß der nach Digerierung mit einem 12 tägigen Immunserum im Mausekörper angehende Stamm Normal-Stamm- und Rezidivstammeigenschaften gleichzeitig aufwies.

Versuch Xa.

Pr. 160. Nagana-Maus, 12 Tage nach der Abheilung, mit 2 mal 0.5^{cem} Arsacetin 1:100 subk., entblutet in 2^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung. 0.3^{cem} dieser Aufschwemmung werden mit 0.5^{cem} einer +++-Normal-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl-Lösung 15 Minuten bei Zimmertemperatur digeriert. Hiervon 0.2^{cem} intraperitoneal. A = Behandlung mit Arsacetin 0.5^{cem} 1:100 subk.

Tabelle Xa.

Datum	Pr. 160	Infektionskontrolle
		Pr. 161
17. X. 1912	Intraperitoneal	0.1 ^{cem} Tryp.-Aufschwemmung intraperit.
18. X. „	0	++
19. X. „	0	+++ †
20. X. „	(+)	
21. X. „	++ → Pr. 164—165	

Dieser, gegenüber der Infektionskontrolle Pr. 161 sich deutlich verzögert entwickelnde Stamm Pr. 160 wurde am 21. X. 12 auf die Mäuse Pr. 164 und 165 intraperitoneal übertragen, und nach seiner Abheilung die Immunität der Tiere gegenüber dem Normal-Stamm geprüft. Es blieb die Nachinfektion mit Normal-Nagana erfolglos, der mit Immunsorum in vitro behandelte Stamm setzte sich also aus Parasiten vom Typus des Ausgangsstammes zusammen. Wurde nun umgekehrt bei Pr. 168 und 169 Normal-Nagana vorinfiziert und der Stamm Pr. 164, der die erste Passage des mit Immunsorum im Reagensglase behandelten Normal-Stammes Pr. 160 darstellt, nachinfiziert, so ging die Infektion an, ein Beweis, daß der in vitro der Immunsorumwirkung ausgesetzte Normal-Stamm im Tierkörper gleichzeitig als Träger von Rezidivstammeigenschaften auftritt (siehe Versuch Xc).

Tabelle Xb.
Überimpft von Pr. 160.

Datum	Pr. 164	Pr. 165	Infektionskontrolle
21. X. 1912	Intraperitoneal	Intraperitoneal	—
23. X. „	++ A → Pr. 168—170	++ A	A
24. X. „	— A	— A	A
27. X. „	0 Normal-Nagana intraperitoneal	0 Normal-Nagana intraperitoneal	Normal-Nagana intraperitoneal
28. X. „	0	0	++
29. X. „	0	0	+++ †
31. X. „	0	0	
3. XI. „	0	0	

Tabelle Xc.
Pr. 168 und Pr. 169. Vorgeimpft Normal-Nagana.

Datum	Pr. 168	Pr. 169	Infektionskontrolle
			Pr. 170
18. X. 1912	Normal-Nagana intrapéritoneal	Normal-Nagana intrapéritoneal	—
20. X. „	++ A	++ A	— A
21. X. „	— A	— A	— A
23. X. „	0 Intraperit. Pr. 164	0 Intraperit. Pr. 164	Intraperit. Pr. 164
24. X. „	0	(+)	(+)
25. X. „	(+)	(+)-+	+
26. X. „	++	++ → Pr. 182—183	+++
27. X. „	+++ †	+++ †	†

Wir können somit in Ergänzung unserer Versuche I bis VIII folgende Resultate fixieren:

Aus Versuch VIII bis X geht hervor, daß die Behandlung von Normal-Trypanosomen im Reagensglase mit stark trypanozidem Immunserum in zahlreichen Fällen ohne jeden Einfluß auf die biologische Struktur sämtlicher Parasiten bleibt, die sich im Tierkörper wieder als Ausgangsstammindividuen entwickeln. In manchen Fällen (z. B. Versuch X) ist jedoch damit zu rechnen, daß unter dem Einflusse des Immunserumkontaktes nicht eine totale Umwandlung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm eintritt, sondern der sich entwickelnde Stamm Normal-Stamm- und Rezidivstammeigenschaften in sich vereinigt, wobei die Frage offen gelassen werden muß, ob es sich um eine Population von Normal- und Rezidivindividuen hierbei handelt, oder die einzelnen Parasiten über zwei dominante Rezeptorenapparate vom Typus des Normal- und Rezidivstammes gleichzeitig verfügen.

Es ergänzen sich somit unsere sämtlichen Versuche zu dem einheitlichen Resultat, daß das trypanozide Vermögen eines spezifischen Trypanosomenimmunserums nicht den bestimmenden Faktor für den Umschlag des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm darstellt und daß Trypanozidie und Rezidivstammbildungsvermögen eines Immunserums in keinem Abhängigkeitsverhältnis zueinander sich befinden.

Aus dieser Unabhängigkeit der beiden Serumeigenschaften voneinander ergibt sich aber weiter die für das Verständnis der Genese des Rezidivs wichtige Konsequenz, daß Trypanozidie und Rezidivstammbildungsvermögen nicht Funktionen eines einzigen Serumssubstrates sind, sondern

mit großer Wahrscheinlichkeit Eigenschaften wesensdifferenten Serulkörper darstellen.

Mit dieser Annahme der Verschiedenheit zwischen den trypanoziden Substanzen des Immunserums und den den Rezidivstamm auslösenden Serulkomponenten, die wir im folgenden kurz als „Rezidivkörper“ bezeichnen, wäre die Dissonanz zwischen den trypanoziden Kräften und den rezidivstambildenden Eigenschaften der Trypanosomenimmunsera, wie wir sie im Verlauf unserer Reagensglasversuche so häufig beobachten konnten, ohne weiteres erklärt.

Unter den eben entwickelten Gesichtspunkten stellen wir uns nun vor, daß sowohl bei der spontanen wie chemotherapeutischen Heilung der experimentellen Trypanosomeninfektion folgende zwei Arten von Immulkörpern entstehen:

1. Solche, welche dank ihrer Verwandtschaft zum dominanten Rezeptorenapparat sich an diesem verankern, von dort aus die Trypanosomen angreifen und je nach der Intensität ihrer Einwirkung sie schädigen, bzw. töten.¹

2. Rezidivkörper, d. h. immunisatorisch ausgelöste Serulkörper, auf deren Reiz hin die Trypanosomen zur Ausbildung eines neuen, vom Ausgangsstamm verschiedenen dominanten Rezeptorenapparates gedrängt werden.

In Konsequenz der eben entwickelten Anschauung von der Wesensdifferenz zwischen trypanoziden Immulkörpern und Rezidivkörpern sind wir nun in den folgenden Untersuchungen dazu übergegangen, unsere Annahme von der Sonderexistenz dieser beiden Körper durch weitere experimentelle Befunde zu stützen. Wir sind uns bewußt, daß die in dieser Richtung unternommenen Versuche keinen Abschluß und keine endgültige Beantwortung der von uns angeschnittenen Frage bedeuten, sind aber der Ansicht, daß sie weitere Argumente zugunsten unserer Vorstellung liefern, daß die Umwandlung des Ausgangsstammes zum Rezidivstamm nicht allein unter dem Einfluß trypanozider Antikörper, sondern unter Mitbeteiligung anderer selbständiger Serulkomponenten, der von uns als „Rezidivkörper“ bezeichneten Körper sich vollzieht.

¹ Anmerkung: Daß serulfeste Stämme, ohne Rezidivstammesigenschaften erlangt zu haben, also ohne die Ausbildung neuer dominanter Rezeptoren durchaus existenzfähig sein können, haben kürzlich Braun und Teichmann an dem Beispiel eines „Rinderseum-festen Stammes“ gezeigt, der, ohne antigene Eigenschaften gegen seine eigenen und gegen den primären Stamm in der Maus zu besitzen, doch in seiner Wachstumsenergie in Mäusen in keiner Weise hinter dem Ausgangsstamm zurückblieb.

So können wir im folgenden über Versuche berichten, in denen es gelungen ist, durch Erwärmen eines Trypanosomen-Immunserums während 15 Minuten auf 60° im Wasserbade die rezidivstambbildenden Eigenschaften des Serums zu zerstören, ohne daß die trypanoziden Eigenschaften des Immunserums dadurch eine Einbuße erlitten. Bekanntlich widersteht — wir verweisen z. B. auf die Untersuchungen von Laveran und Mesnil über das trypanozide Vermögen des Serums von mit *Trypanosoma Lewisi* infizierten Ratten — die Trypanozidie eines spezifischen Trypanosomen-Immunserums der Erhitzung auf 58—64° C bis zu $\frac{3}{4}$ Stunden. Es verliert hierbei nur einen Teil seiner Wirksamkeit, während eine gleichdauernde Erwärmung auf 70° im allgemeinen die trypanoziden Immunsbstanzen des Serums zerstört.

Das gleiche trifft auch nach unseren Versuchsergebnissen bei Erhitzung auf 70° C für die rezidivstambbildenden Substrate des Serums zu, wie dies aus dem folgenden Beispiel hervorgeht (vgl. S. 515).

In diesem Versuche XI wurde eine Normal-Naganamaus, 4 Tage nach der Abheilung mit 2 mal 0.005 Arsacetin subkutan, in 3^{cem} 0.85 prozent. Kochsalzlösung entblutet. 1.5^{cem} der Blutaufschwemmung wurden nun 15 Minuten im Wasserbade bei 70° gehalten und hierauf nach Abkühlung unter fließendem Wasser, in absteigenden Mengen mit 0.5^{cem} einer +++-Normal-Trypanosomenaufschwemmung im Reagenzglase digeriert, wobei entsprechend der größten im Versuch verwendeten Immunserummenge sämtliche Röhrchen vor dem Trypanosomenzusatz mit physiologischer Kochsalzlösung auf 0.5^{cem} aufgefüllt wurden. Das gleiche geschah mit der nicht erhitzten nativen Immunserummenge. Nach 15 Minuten wurden alsdann 0.2^{cem} aus jedem Reagenzglase je einer Maus intraperitoneal injiziert. Den Verlauf des Versuches gibt die folgende Tabelle wieder (Tabelle XI).

Wir sehen zunächst bei den mit nativem Serum in vitro behandelten Trypanosomen eine deutliche Verzögerung der Infektion, die erst am 5. Infektionstage zu einem spärlichen Erscheinen der Trypanosomen in der Zirkulation führt (Pr. 99, 101, 103), während die Infektionskontrollen bereits am 3. Versuchstage ihrer Infektion erlegen sind (Pr. 100a und 100b). Wie das Angehen der Nachinfektion mit Normal-Nagana am 12. Versuchstage demonstriert, haben sich die in vitro mit dem 4 tägigen Immunserum digerierten Normal-Parasiten im Maukörper als Träger von Rezidivstammeigenschaften entwickelt, da ihre Abheilung keine Immunität gegen die Ausgangsparasiten herbeiführt. Die Erhitzung des gleichen Immunserums auf 70° während 15 Minuten vernichtet dagegen die trypanozide wie die rezidivstambbildenden Eigenschaften des Serums. Die mit dem

Tabelle XI.

Pr. 99—104. 4 tages Immunserum. (1 Nagana-Maus, 4 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005 Arsacetin, entblutet in 3^{cem} 0.85 prozent. NaCl.) Absteigende Mengen des nativen und des $15'70^{\circ}$ erhitzten Immunserums mit 0.5^{cem} einer $++ +$ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl 10 Min. bei Zimmertemperatur digeriert. 0.2^{cem} der Mischung intraperitoneal. (Keine Agglomeration.) A = Behandlung mit Arsacetin 0.5^{cem} digeriert. 1:100 subkutan.

Tage nach der Infektion	0.5 ^{cem} Normal-Trypanosomen mit 4 tages Immunserum digeriert in Mengen von				0.5 ^{cem} Normal-Trypanosomen mit 4 tages Immunserum $15'70^{\circ}$ digeriert in Mengen von				Prophylaktische Serumkontrolle			Infektionskontrollen		Prophylaktische A-Kontrollen		Rezidivkontrollen	
	0.5 ^{cem}	0.3 ^{cem}	0.1 ^{cem}	Pr. 101	0.5 ^{cem}	0.3 ^{cem}	0.1 ^{cem}	Pr. 102	0.1 ^{cem}	15'70°	Pr. 98b	Pr. 100a	Pr. 100b	Pr. 101a	Pr. 101b	Pr. 102a	Pr. 102b
	Pr. 99	Pr. 101	Pr. 103		Pr. 100	Pr. 102	Pr. 104		Pr. 99a								
1.	0	0	0	0	++ A	++ A	0		—	—	—	— A	++	—	—	++	++
3.	0	0	0	0	0	0	++ + A		—	—	—	—	+	—	—	++	++
5.	(+)	(+)	+	+	0	0	0		—	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	+	+	+	0	0
6.	+	++ A	++ A	++ A	0	0	0		—	++ +	++ +	+		+	—	0	0
7.	++ + A	— A	— A	— A	0	0	0		—	++ +	++ +	— A		—	—	0	0
8.	— A	—	—	—	0	0	0		—	—	—	— A	++	—	—	0	0
11.	0	0	0	0	0	0	0		—	—	—	—		—	—	0	0
	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.		Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.		Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	0	0
12.	++	(+)	++	++	0	0	0		++	++	++	++		++	++	0	0
13.	++ +	++	++ +	++ +	0	0	0		++ +	++ +	++ +	++ +		++ +	++ +	0	0
14.	++ +	++ +	++ +	++ +	0	0	0		++ +	++ +	++ +	++ +		++ +	++ +	0	0

Tabelle XII.

Pr. 63.—68. 5tägiges Immunsrum. (2 Nagana-Mäuse. 5 Tage nach der Abheilung mit 2×0.005 Arsacetin, entblutet in 4.0 ccm 0.85 prozent. NaCl.) Absteigende Mengen des nativen und des $15' 56^\circ$ erhitzten Immunsrum mit 0.6 ccm eine $+$ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl 10 Min. bei Zimmertemperatur digeriert. 0.3 ccm der Mischung intraperitoneal. (Bei erhitztem Serum stärkere Agglomeration als bei nativem.) A = Behandlung mit 0.5 ccm Arsacetin $1:100$ subkutan.

Tage nach der Infektion	0.6 ccm Normal-Trypanosomen mit 5täg. Immunsrum digeriert in Mengen von				0.6 ccm Normal-Trypanosomen mit 5täg. Immunsrum $15' 56^\circ$ digeriert in Mengen von			Prophylaktische Serumkontrollen		Infektionskontrollen	Prophylaktische A-Kontrollen		Rezidivkontrollen	
	0.5 ccm	0.3 ccm	0.1 ccm		0.5 ccm	0.3 ccm	0.1 ccm	0.15 ccm	0.15 ccm		Pr. 65a	Pr. 65b	Pr. 66a	Pr. 66b
	Pr. 68	Pr. 66	Pr. 64		Pr. 63	Pr. 65	Pr. 67	Pr. 63a	Pr. 63b					
1.	0	0	0		0	0	0	—	—	(+) (+) Am 4. Tage +	—	—	(+) (+) Am 3. Tage + + +. Be-handelt mit A. Ebenso am 4. Tage A	0 0
6.	+ + + A + Intra-peritoneal auf Maus 68a ¹	0	+ + + Intra-peritoneal auf Maus 64a ¹		+ + + A	+ + + A	+ + A	—	—		— A	— A	0 0	0 0
7.	0	0			(+) A	— A	— A	—	—		— A	— A	0 0	0 0
10.					Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.		Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	0 0	0 0
11.	0	0			0	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +	0 0	0 0
12.	0	0			0	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +	0 0	0 0
13.	0	0			0	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +	0 0	0 0

¹ Geht als Rezidivstamm an.

erhitzten Serum im Reagensglase digerierten Trypanosomen entwickeln sich ebenso rasch wie die unberührt gebliebenen Parasiten der Infektionskontrollen und bewahren auch die biologischen Eigenschaften des Ausgangsstammes, wie das Ausbleiben der Nachinfektion mit Normal-Nagana nach Abheilung der Infektion durch Arsacetin anzeigt. Nur bei Pr. 104 macht sich noch eine geringe Trypanozidie des auf 70° erhitzten Serums bemerkbar.

Die erste Andeutung einer verschiedenen Thermoresistenz der trypanoziden Immunsustanzen und der Rezidivkörper erhielten wir, als wir ein 5tägiges Immunserum 15 Minuten einer Erwärmung auf 56° aussetzten (vgl. Tabelle XII).

Während bei Pr. 64 und 68 bei ausgesprochener Trypanozidie des nativen Immunserums die unter deutlicher Verzögerung angehenden Trypanosomen unter dem Einflusse des Immunserums sich zu Rezidiv-Parasiten umgewandelt haben — bezüglich Einzelheiten verweisen wir auf unsere Ausführungen bei Versuch IVa und IVb, der, soweit natives Immunserum im Reagensversuch verwandt wurde, dieser Tabelle entlehnt ist —, ergibt sich bei Benutzung des gleichen, aber 15' auf 56° erhitzten Immunserums ein etwas verändertes Bild. Bei Pr. 65 und Pr. 67 ist die Erwärmung des Immunserums anscheinend ohne Einfluß geblieben. Wenigstens geht die Infektion der mit dem erhitzten Immunserum in vitro digerierten Trypanosomen unter gleicher Verzögerung an wie bei Pr. 64 und 68, und auch die rezidivstambbildenden Funktionen des Serums haben unter der thermischen Einwirkung keine wesentliche Einbuße erlitten, da, wie die erfolgreiche Nachinfektion mit Normal-Nagana bei P. 65 und Pr. 67 anzeigt, die mit dem erhitzten Immunserum behandelten Trypanosomen Rezidivstammeigenschaften angenommen haben. Dagegen ist bei Pr. 63 trotz anscheinend gleicher Trypanozidie des Immunserums wie bei Pr. 65 und Pr. 67 — die Infektion zeigt sich gleichfalls erst am 6. Versuchstage in voller Entwicklung — das rezidivstambbildende Vermögen des erwärmten Immunserums erloschen. Die nach der chemotherapeutischen Behandlung nachgeschickte Infektion mit Normal-Nagana geht nicht an, die mit dem auf 60° erwärmten Immunserum im Reagensglase gemischten Trypanosomen bewahren ihre Normalstammeigenschaften, obwohl die trypanozide Kraft des erhitzten Immunserums entsprechend seiner unverändert gebliebenen prophylaktischen Wirkung nicht gelitten hat. Diese Beobachtung, die den Schluß nahelegte, daß die rezidivstambbildenden Substrate des Trypanosomen-Immunserums thermolabiler als die trypanoziden Immunkörper seien, ließ uns weiter folgern, daß vielleicht die Erwärmung des Immunserums während 15 Minuten auf 56° kein Temperaturoptimum darstelle, und daß sich bei höheren Wärmegraden mög-

licherweise eklatantere Ausschläge im Sinne einer verschiedenen Thermoresistenz der trypanoziden Serulkörper und der Rezidivkörper ergeben würden.

In der Tat ist es uns, wie das folgende Versuchsbeispiel zeigt, gelungen, durch Erhitzen eines Stägigen Immunserums während 15 Minuten auf 60° im Wasserbade das Immunserum elektiv seiner rezidivstambbildenden Funktion ohne Schädigung seiner trypanoziden Eigenschaften zu berauben (vgl. Tabelle XIII).

Der mit dem Immunserum im Reagensglase behandelte Normalstamm geht in Pr. 111 und 112 unter geringer Verzögerung gegenüber den Infektionskontrollen Pr. 112a und Pr. 112b als typischer Rezidivstamm an: Die an seine Abheilung sich anschließende Immunität vermag die Tiere nicht vor einer Nachinfektion mit dem Normalstamm zu schützen, der sich, wie in der Kontrolle Pr. 111a, ungehemmt entwickelt und innerhalb von 3 Tagen den Tod der Versuchsmäuse Pr. 111 und 112 herbeiführt. Wesentlich andere Eigenschaften zeigt nun das 15 Minuten auf 60° erwärmte und in gleichen Mengen wie das native Serum verwendete Immunserum bei Pr. 114 und 114a. Zunächst tritt eine verstärkte Trypanozidie des erwärmten Serums in die Erscheinung. Erst 24 Stunden nach dem Tode der Infektionskontrollen sind die mit dem auf 60° erhitzten Serum in vitro digerierten Trypanosomen bei Pr. 114 und 114a in der Zirkulation nachweisbar, und am 3. Versuchstage sind die Versuchstiere noch trypanosomenfrei, zu einer Zeit, wo die Infektion der mit nativem, unerhitztem Immunserum im Reagenzglase behandelten Ausgangsstammparasiten bei Pr. 111 und Pr. 112 voll entwickelt erscheint. Mit dieser deutlicheren Ausprägung der Trypanozidie des auf 60° erhitzten Immunserums geht Hand in Hand ein unter dem Einfluß der Erwärmung sich vollziehender Schwund der rezidivstambbildenden Eigenschaften des Immunserums. Denn im Gegensatz zu Pr. 111 und Pr. 112 geht bei Pr. 114 und 114a die Nachinfektion mit dem Ausgangsstamm nicht an. Es vermag somit die 15 Minuten lange Erhitzung des Immunserums auf 60° dessen trypanozide Fähigkeiten zu steigern¹ und gleichzeitig seine rezidivstambbildenden Funktionen zu zerstören.

Durch diesen Befund der verschiedenen Thermoresistenz der trypanoziden und rezidivstambbildenden Substrate der Trypanosomenimmunsera erhält unsere Annahme von der Wesens-

¹ Anmerkung: Wir begegnen hier vielleicht ähnlichen Verhältnissen, wie sie Morgenroth und Rosenthal für die auf 65° erwärmten hämolytischen Immun-Ambozeptoren beschrieben haben, deren veränderte globulizide Eigenschaften u. a. in einer Beschleunigung der Hämolyse zum Ausdruck gelangen.

Tabelle XIII.

Pr. 111—115b. 8 tages Immunserum. (1 Nagana-Maus, 8 Tage nach der Abheilung mit 0.005^{ccm} Arsacetin, entblutet in 2.0^{ccm} 0.85 prozent. NaCl.) Absteigende Mengen des nativen und des 15' 60° erhitzten Immunserums mit 0.5^{ccm} einer +++ Nagana-Trypanosomenaufschwemmung in 0.85 prozent. NaCl 10 Min. bei Zimmertemperatur digeriert. 0.2^{ccm} der Mischung intraperitoneal. (Bei erhitztem Serum stärkere Agglomeration als bei nativem.)
A = Behandlung mit 0.5^{ccm} Arsacetin 1:100 subkutan.

Tage nach der Infektion	0.5 ^{ccm} Normal-Trypanosomen mit 8 tages Immunserum digeriert in Mengen von			0.5 ^{ccm} Normal-Trypanosomen mit 8 tages Immunserum 15' 60° digeriert in Mengen von			Prophylaktische Serumkontrollen		Infektionskontrollen		Prophylaktische A-Kontrollen		Rezidivkontrollen	
	0.5 ^{ccm}	0.2 ^{ccm}		0.5 ^{ccm}	0.2 ^{ccm}		0.1 ^{ccm}	15' 68° 0.1 ^{ccm}	Pr. 112a	Pr. 112b	Pr. 113a	Pr. 113b	Pr. 115a	Pr. 115b
	Pr. 111	Pr. 112		Pr. 114	Pr. 114a		Pr. 111a	Pr. 111b						
1.	0	0		0	0		—	—	+	+	—	—	+	Am 2. Tage + +. Behandelt mit A.
3.	++ A	++ A		0	0		—	—	+++ †	+++ †	— A	—	0	Ebenso am 3. Tage
4.	— A	— A		(+) ++ A	(+) ++ A		—	—			— A	—	0	0
6.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.		++ A	++ A		Normal-Nagana intraperit.	—			Normal-Nagana intraperit.	A	0	0
7.	+	+		0 A	— A		+	—			+	— A	0	0
8.	+++	+++		0	—		+++	—			+++	—	0	0
9.	+	+		0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.		+	—			+	Normal-Nagana intraperit.	0	0
10.				0	0			+				+	0	0
12.				0	0			+				+	0	0

differenz der trypanoziden Immunkörper und der Rezidivkörper ihre weitere experimentelle Stütze. Besonders bemerkenswert erscheint uns die Beobachtung, daß mit der elektiven thermischen Vernichtung der Rezidivkörper die trypanozide Kraft des Immunserums ansteigt. Es weist dies darauf hin, daß zwischen den trypanoziden Immunsustanzen und den Rezidivkörpern vielleicht ein Antagonismus besteht in dem Sinne, daß, je reicher der Gehalt der Immunsera an Rezidivkörpern ist, um so weniger die trypanoziden Substanzen auf die Trypanosomenzelle zur Wirkung gelangen.

Versuche, durch Spaltung des Immunserums in seine Globulin- und Albuminfraktion die trypanoziden und Rezidivkörper zu analysieren, führten zu weiteren positiven Ergebnissen bezüglich der Sonderexistenz der beiden Serumssubstrate und ergaben insbesondere als Resultat, daß die rezidivstambildende Komponente trypanozider Immunsera wohl zum wesentlichen Teile an die Albuminfraktion des Serums gebunden ist. Unsere Versuchsmethodik knüpfte an das von Liefmann zur Spaltung des Komplementes angegebene Verfahren an, nach welchem die Ausfällung der Globuline durch Einleiten von Kohlensäure geschieht, ein Verfahren, das auch nach den Erfahrungen von Braun als ein recht schonendes betrachtet werden kann. Im einzelnen gestaltete sich unser Verfahren folgendermaßen:

Von ihrer Trypanosomeninfektion geheilte Mäuse werden 4—5 Tage nach der chemotherapeutischen Behandlung in physiologische Kochsalzlösung (0.15^{cem} pro Maus) entblutet. Ein Teil der so gewonnenen Mäuseblutaufschwemmung wird nun im Becherglase mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers gemischt und danach Kohlensäure aus einer Bombe eingeleitet. Es tritt alsbald eine in kurzer Zeit ihr Maximum erreichende flockige Trübung der Flüssigkeit auf, und durch sofort sich anschließendes Zentrifugieren erzielt man eine Abtrennung des Globulinniederschlages von der klaren, durchsichtigen Flüssigkeit, welche die Albuminfraktion enthält. Die albuminhaltige Flüssigkeit wird nun durch Abgießen von dem Globulinsediment getrennt, worauf beide Serumfraktionen zwecks Reinigung einer gesonderten Behandlung unterworfen werden. Die Flüssigkeit wird nochmals um der Vollständigkeit der Ausfällung sicher zu sein, mit Kohlensäure behandelt, dann durch ein doppelt gehärtetes Papierfilter filtriert und durch Zusatz von Kochsalzkörnchen in entsprechender Menge auf den physiologischen Salzgehalt gebracht, um schließlich zwecks Entfernung der Kohlensäure in einem weiten offenen Gefäße öfters kräftig geschüttelt zu werden.

Der Globulinniederschlag wurde zweimal mit Aq. dest. gewaschen und hierauf entsprechend der ursprünglichen zehnfachen Serumverdünnung in so viel Kubikzentimeter 0.85 Prozent Kochsalzlösung gelöst, daß Albumin- und Globulinlösung gleiche Flüssigkeitsvolumina repräsentierten. Weitere Einzelheiten der Methodik sind aus den folgenden Protokollen ersichtlich.

Versuch XIV.

Pr. 135—141. 4tägiges Immunsrum. (3 Nagana-Mäuse, 4 Tage nach der Abheilung mit 2mal 0.005 Arsacetin subkutan, entblutet in 0.45^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung; 1.1^{cem} Flüssigkeit). Hiervon:

A. Pr. 135: 0.2^{cem} natives Immunsrum + 1.8^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung (Verdünnung 1:10), davon 0.4^{cem} Immunsrum + 0.4^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

B. Pr. 137 und Pr. 139: 0.9^{cem} natives Immunsrum + 8.1^{cem} Aq. dest. Behandlung mit CO₂, Gewinnung der Globulin- und Albuminfraktion.

Pr. 137: Globulinniederschlag in 9^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung gelöst. (Verdünnung 1:10), davon 0.4^{cem} Globulinlösung + 0.4^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

Pr. 139: Albuminlösung, isotonisch gemacht. (Verdünnung 1:10, davon 0.4^{cem} Albuminlösung + 0.4^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

C. Pr. 141: 0.4^{cem} Albuminlösung (Verdünnung 1:10) + 0.4^{cem} Globulinlösung (1:10) + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

0.2^{cem} der Mischungen nach 10 Minuten langer Digerierung bei Zimmertemperatur weißen Mäusen intraperitoneal. A = Behandlung mit Arsacetin, 0.5^{cem} 1:100 subkutan.

Versuch XV.

Pr. 143—150. 5tägiges Immunsrum. (2 Nagana-Mäuse, 5 Tage nach der Abheilung mit 2mal 0.005 Arsacetin subkutan, entblutet in 0.3^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung, 1.0^{cem} Flüssigkeit). Hiervon:

A. Pr. 143 und Pr. 144: 0.1^{cem} natives Immunsrum + 0.9^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung (Verdünnung 1:10), davon 0.4^{cem} bzw. 0.2^{cem} Immunsrum + 0.4^{cem}, bzw. 0.6^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

B. Pr. 145 und Pr. 146, Pr. 147 und Pr. 148: 0.9^{cem} natives Immunsrum + 8.1^{cem} Aq. dest. Behandlung mit CO₂, Gewinnung der Globulin- und Albuminfraktion.

Pr. 145 und Pr. 146: Globulinniederschlag in 9^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung gelöst (Verdünnung 1:10), davon 0.4^{cem}, bzw. 0.2^{cem} Globulinlösung + 0.4^{cem}, bzw. 0.6^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{cem} (+ + +) Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

P. 147 und Pr. 148: Albuminlösung, isotonisch gemacht (Verdünnung 1:10), davon 0.4^{cem}, bzw. 0.2^{cem} Albuminlösung + 0.4^{cem}, bzw. 0.6^{cem} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

C. Pr. 149 und Pr. 150: 0.4^{cem} Globulinlösung (Verdünnung 1:10) + 0.4^{cem} Albuminlösung (Verdünnung 1:10) + 0.5^{cem} (+ + +)-Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, bzw. 0.2^{cem} Glo-

Tabelle XIV.

Tage nach der Infektion	0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit 4 tägigem Immunsorum digeriert	0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit Globulin-fraction des Immunsorums digeriert	0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit Albumin-fraction des Immunsorums digeriert	0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit Globulin- + Albumin-fraction des Immunsorums digeriert	Infektions-Kontrollen		Prophylaktische A-Kontrollen		Rezidiv-kontrollen	
	Pr. 135	Pr. 137	Pr. 139	Pr. 141	Pr. 135a	Pr. 135b	Pr. 136a	Pr. 136b	Pr. 137a	Pr. 137b
1.	0	0	0	0	+	+	—	—	+	+
4.	++ A	+++ A	++ A	0	— t ₃	— t ₃	A	A	—	Am 2. Infektionstage mit A behandelt. Ebenso am 3. Tage
5.	— A	— A	— A	+ A	— t ₃	— t ₃	A	A	—	—
7.	0 Normal-Nagana intraperitoneal	0 Normal-Nagana intraperitoneal	0 Normal-Nagana intraperitoneal	0 Normal-Nagana intraperitoneal			Normal-Nagana intraperit.	Normal-Nagana intraperit.	—	—
8.	+	0	+	+			+	+	—	—
9.	++ †	0	++ A	++ +			++ +	++ +	—	—
10.		0	—	†			†	†	—	—

Tabelle XV.

Tage nach der Infektion	0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit 5tägig. Immunserum digeriert in Mengen von		0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit Globulinfraktion des Immunserums digeriert in Mengen von		0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit Albuminfraktion des Immunserums digeriert in Mengen von		0.5 ccm Normal-Trypanosomen mit Globulin- + Albuminfraktion des Immunserums digeriert in Mengen von		Infektions- und Rezidivkontrollen		Prophylaktische A-Kontrollen	
	0.4 ccm		0.4 ccm		0.4 ccm		0.4 ccm		Pr. 143a	Pr. 143b	Pr. 144a	Pr. 144b
	Pr. 143	0.2 ccm Pr. 144	Pr. 145	0.2 ccm Pr. 146	Pr. 147	0.2 ccm Pr. 148	Pr. 149	0.2 ccm Pr. 150				
1.	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	—	—
3.	(+)	(+)	+	++ A	(+)	+	(+)	0	+++ A	+++ A	—	—
4.	+++ A	+++ A	+++ A	— A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	0	0	— A	— A
6.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	+	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.	0	0	0 Normal-Nagana intraperit.	0 Normal-Nagana intraperit.
7.	+	++	0	0	0	+	(+)	+	0	0	+	+
8.	++	+	0	0	++	++	+	++	0	0	+++	+++
9.	+++ +	+	0	† im Herzblut keine Trypanosomen	+++ +	+++ +	+++ A	+++ A	0	0	+	+

bulin- + 0,2^{ccm} Albuminlösung (1:10) + 0.4^{ccm} 0.85 prozent. NaCl-Lösung + 0.5^{ccm} Normal-Naganaaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

0.2^{ccm} der Mischung nach 10 Minuten langer Digerierung bei Zimmertemperatur weißen Mäusen intraperitoneal. A = Behandlung mit Arsacetin 0.5^{ccm} 1:100 subkutan.

Das Resultat beider Versuche ist übereinstimmend. Sowohl in Tabelle XIV wie XV kommen nur der Albuminfraktion bei Pr. 139 und P. 148 rezidivstammbildende Eigenschaften zu, während der Kontakt der Normal-Trypanosomen mit der Globulinfraktion des Immunsersums in Pr. 145 und Pr. 146 nicht ausreicht, um sie zu Trägern von Rezidivstammeigenschaften umzuprägen. Daher bleibt bei Pr. 137, 145 und 146 die Nachinfektion mit dem Ausgangsstamm im Gegensatz zu Pr. 139 und 148 auch erfolglos. Bemerkenswert erscheint weiter bei diesen Versuchen, daß die trypanoziden Funktionen der Trypanosomenimmunsera sich sowohl in der Globulin- wie in der Albuminfraktion der Sera finden, wie die gleichmäßig verzögerte Infektion bei Pr. 135, 137, 139, 141, 143—150 anzeigt, während die rezidivstammbildenden Eigenschaften der Immunsera wohl größeren, vielleicht größtenteils in die Albuminfraktion übergehen. Es weisen auch diese Befunde darauf hin, daß die trypanoziden Antikörper und die rezidivbildenden Komponenten spezifischer Trypanosomenimmunsera gesondert existieren und nicht Manifestationen eines einzigen Serumkörpers darstellen.

Wir möchten nun im folgenden über Versuche berichten, welche sich mit der Frage der Vererbbarkeit der erworbenen Rezidivstammeigenschaften beschäftigen.

Wir haben bereits oben hervorgehoben, daß die in der Literatur hierüber niedergelegten Erfahrungen nicht übereinstimmen, daß Ehrlich eine jahrelange Vererbung der Rezidivstammeigenschaften bei seinen Stämmen beobachtet hat, daß dagegen Mesnil und Brimont, Neumann, Braun und Teichmann einen Rückschlag der Rezidivparasiten zu Normal-Trypanosomen im Verlaufe der Passagen feststellen konnten. Wir hatten nun Gelegenheit, bei einem unserer in vitro durch Serumkontakt erzeugten Rezidivstämme, dessen Genese wir im Versuch VII wiedergegeben haben, die Rückverwandlung des Rezidivstammes in den Ausgangsstamm in ihren verschiedenen Stadien zu verfolgen. Die hierbei gewonnenen Ergebnisse dürften vielleicht ein Verständnis für die differenten Beobachtungen der genannten Autoren eröffnen.

Während nämlich Braun und Teichmann auf Grund ihrer Versuche, die schließlich zur Feststellung der völligen Rückverwandlung des Rezidivstammes in den Ausgangsstamm führten, zu der Überzeugung gelangen, daß der Rezidivstamm bei der experimentellen Trypanosomeninfektion nicht als eine Mutation, sondern als eine vorübergehende Anpassung an aufoktrozierte Schädlichkeiten anzusehen sei, weisen unsere eigenen Experimente darauf hin, daß der Rezidivstamm sich aus Individuen vom Typus der echten Mutation und Individuen der einfachen nichterblichen Variation zusammensetzen kann, und daß der Rückschlag des Rezidivstammes in den Normalstamm keinen Rückschlag aller Parasiten in toto darzustellen braucht, sondern auf einem Überwuchern von zum Normalstamm zurückschlagenden Varianten über die an Zahl zurücktretenden Mutanten beruhen kann.

Die Prüfung des frisch gewonnenen Rezidivstammes ergab, wie Tabelle VII demonstriert, daß die an seine Abheilung sich anschließende Immunität des Wirtstieres nicht gegen den Ausgangsstamm gerichtet war. Ebenso zeigte sich in der 5. Passage dieses Rezidivstammes durch unbehandelte Mäuse, daß die Abheilung von mit Normal-Nagana infizierten Mäusen keinen Schutz gegen eine Nachinfektion mit dem Rezidivstamm bewirkte (M. 151—153).

Versuch XVI. (S. 527.)

Vorinfektion mit Normal-Nagana. Abheilung mit Arsacetin 0.5 ^{ccm} 1:100 subkutan (A). Nachinfektion mit Rezidivstamm in vitro (vgl. Tabelle VII) 5. Passage.

Wir züchteten unseren Rezidivstamm zunächst in normalen Mäusen weiter und prüften dann in der 24. Passage von neuem sein biologisches Verhalten. Dabei ergab sich, wie dies aus den Tabellen XVII und XVIII (S. 528) ersichtlich ist, daß der Rezidivstamm sich inzwischen in wesentlichen Eigenschaften verändert hatte und zur Zeit des Experimentes weder mit dem frisch gewonnenen Rezidivstamm noch mit dem normalen Ausgangsstamm identisch war.

Versuch XVII.

Vorinfektion mit Nagana normal. Heilung mit Arsacetin 0,5 ^{ccm} 1:100 subkutan A. Nachinfektion mit Nagana normal und Rezidivstamm in vitro (24. Passage).

Während in Tabelle XVI (vgl. M. 151/53) die Heilung einer Infektion mit Normal-Naganastamm keine Immunität gegen eine Nachinfektion mit dem Rezidivstamm hinterließ, erleidet in der 24. Passage bei Maus 204 bis 206 (Tabelle XVII) durch den an die Abheilung des Normalstammes sich

anschließenden Immunitätszustand die Infektion mit dem Rezidivstamm eine deutliche Verzögerung. Während die Infektionskontrollen (M. 209/10) des Rezidivstammes 24 Stunden nach der Infektion bereits die Trypanosomenseptikämie auf der Höhe ihrer Entwicklung zeigen, finden sich bei der in gleicher Weise vorgenommenen Reinfektion der Mäuse 204—206, die eben eine Infektion mit Normal-Nagana überstanden haben, nach dem gleichen Zeitraum erst vereinzelte Parasiten in der Zirkulation. Noch markanter ergibt sich die Veränderung des durch 24 normale Mäusepassagen geschickten Rezidivstammes aus Tabelle XVIII (vgl. S. 528).

Versuch XVIII.

Vorinfektion mit Rezidivstamm in vitro (24. Passage). Heilung mit Arsacetin 0.5^{cem} 1:100 subkutan (A). Nachinfektion mit Nagana normal und Rezidivstamm in vitro (24. Passage).

Hier vermag im Gegensatz zu dem entsprechenden Versuch der Tabelle VII (vgl. Pr. 17—20) die Vorinfektion und Abheilung des Rezidivstammes das Angehen der Nachinfektion mit dem Ausgangsstamm definitiv zu verhindern (M. 211—213, Tabelle XVIII).

Es hat somit im Verlaufe der normalen Tierpassagen dieser Rezidivstamm noch die Eigenschaften des Ausgangsstammes zurückgewonnen, er ist nunmehr in seinem biologischen Verhalten Rezidivstamm und Normalstamm zugleich.

Soweit stimmen unsere Ergebnisse mit einer analogen Beobachtung Brauns und Teichmanns überein. Während jedoch Braun und Teichmann aus ihren Versuchen den Schluß ziehen, daß der Rezidivstamm gewissermaßen einen Zwangszustand der Trypanosomenzelle darstelle, in den sie durch aufoktroierte Schädlichkeiten gewaltsam hineingedrängt werde, und aus dem in den Ausgangsstamm zurückzukehren, ihre physiologische Tendenz sei, haben wir in den folgenden Experimenten, die für das Verständnis des Rückschlages des Rezidivstammes zum Ausgangsstamme wesentliche Frage zu entscheiden versucht, ob an der Rückbildung alle Trypanosomenindividuen gleichmäßig teilnehmen oder ob der Prozeß des Rückschlages nur gewisse Individuen betrifft, die schließlich zu überwuchern vermögen. Aus dem verzögerten Angehen des Rezidivstammes bei M. 204—206 (Tabelle XVII) folgerten wir nämlich, daß mit Wahrscheinlichkeit der Rezidivstamm zurzeit zahlreiche Normalindividuen wieder enthalte, welche die nur spärlich angehenden Parasiten vom Typus des Rezidivstammes zu überwuchern im Begriffe waren. Mit der Anwesenheit dieser Normalparasiten war das Ausbleiben der Nachinfektion mit dem Ausgangsstamm in den Mäusen M. 211—213 hinreichend erklärt (Tabelle XVII).

Tabelle XVI.

Tage nach der Infektion	Intraperitoneale Vorinfektion mit Normal-Nagana. Bei +++ Heilung mit Arsenacetin (A). Bei 0: Nachinfektion mit Normal-Nagana			Intraperitoneale Vorinfektion mit Normal-Nagana. Bei +++ Heilung mit Arsenacetin (A). Bei 0: Nachinfektion mit Rezidivstamm			Infektionskontrollen für Normal-Nagana		Infektionskontrollen für Nagana-Rezidivstamm	
	M. 148	M. 149	M. 150	M. 151	M. 152	M. 153	M. 154	M. 155	M. 156	M. 157
1.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	+++ A	— A	— A	— A	— A
3.	— A	— A	— A	— A	— A	— A	— A	— A	— A	— A
4.	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—
5.	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—
	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Rezidivstamm	Intraperit. Rezidivstamm	Intraperit. Rezidivstamm	Infekt. mit Normal-Nagana	Infekt. mit Normal-Nagana	Infekt. mit Rezidivstamm	Infekt. mit Rezidivstamm
6.	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
7.	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8.	0	0	0	†	†	†	†	†	†	†

Wenn diese Deutung der Versuchsergebnisse der Tabelle XVII und XVIII den Tatsachen entsprach, wenn mit anderen Worten der allmählich sich vollziehende Rückschlag des Rezidivstammes zum Normalstamm auf einem Überwuchern der zur Norm zurückkehrenden Variantentypen über die Mutantentypen beruhte, so war zu erwarten, daß mit der Nachinfektion des Rezidivstammes in die mit Normalstamm infizierten und abgeheilten Mäuse M. 204—206 der Rezidivstamm eine Siebung, einen Filtrationsprozeß erfahren und so von seinem Gehalt an Normal-Trypanosomen gereinigt werden würde, indem diese der abtötenden Wirkung der gegen den Normalstamm gerichteten Antikörper unterliegen. Nach dieser Vorstellung mußten die unter diesen Bedingungen noch angehenden Trypanosomen die typischen Rezidivstammeigenschaften rein zeigen und lange Zeit rein vererben, da, sofern im Sinne der Ehrlichschen Auffassung die Genese des Rezidivstammes auf Prozesse der echten Mutation zurückgeht, unter diesen „gesiebten“ Trypanosomen die echten, ihre neu erworbenen Eigenschaften vererbenden Individuen zu finden sein mußten.

Diese Voraussetzung traf auch in der Tat zu, indem wir zeigen konnten, daß der „gesiebte“ von Maus 206 auf M. 221 überimpfte und durch Normalmäuse weitergeführte Stamm nach weiteren 24 Passagen unverändert seine Rezidivstammeigenschaften gewahrt hatte, während der „unfiltrierte“ Rezidivstamm nach der gleichen Zahl von Passagen (in der 50. Passage nach Gewinnung des Rezidivstammes) wieder vollkommen die Eigenschaften des Ausgangsstammes angenommen hatte.

Tabelle XIX u. XX (S. 530 u. 531) veranschaulichen dieses differente Verhalten des „ungesiebten“ Rezidivstammes, der also in der üblichen Weise von Normalmaus auf Normalmaus übertragen worden war, und des „gesiebten“ Rezidivstammes, der ein einziges Mal in M. 206 (Tabelle XVII) durch eine mit Normal-Nagana infizierte und abgeheilte Maus hindurchgeschickt und dann weiter in den unbehandelten Mäusen fortgezüchtet wurde. Der „ungesiebte“ Rezidivstamm verhält sich hiernach in M. 322—24 (Tabelle XIX) und M. 331—333 (Tabelle XX) völlig wie der Ausgangsstamm, indem sowohl die bei der Abheilung des Ausgangsstammes entstehenden spezifischen Antikörper eine erfolgreiche Nachinfektion mit dem ursprünglichen Rezidivstamm verhindern, als auch die bei der Abheilung des ursprünglichen Rezidivstammes auftretenden Immunstoffe auf Trypanosomen des Ausgangsstammes trypanozid wirken. Daß es sich hierbei um ein Überwuchern von nur passager festen, relativ leicht zur Norm zurückkehrenden Parasiten vom Variationstypus handelt, zeigt dann M. 325—327 (Tabelle XIX) und M. 334—336 (Tabelle XX), in denen der „gesiebte“, offenbar nur noch Mutanten enthaltende Stamm, sowohl bei

Tabelle XIX.

M. 322—324. Vorinfektion mit der 50. Passage des „ungesiebten“ Rezidivstammes. M. 325—327. Vorinfektion mit der 50. Passage des gleichen Rezidivstammes, der in der 24. Passage (vgl. M. 206, 221) durch eine mit Normal-Nagana infizierte und dann abgeheilte Maus geschickt war. Nachinfektion mit Normal-Nagana.

Tage nach der Infektion	Rezidivstamm (ungesiebt) intraperitoneal vorinfiziert. Bei + + + Heilung mit Arsetin (A). Bei 0: Nachinfektion mit Normal-Nagana					Rezidivstamm (gesiebt) intraperitoneal vorinfiziert. Bei + + + Heilung mit Arsetin (A). Bei 0: Nachinfektion mit Normal-Nagana			Prophylaktische und Infektionskontrollen für Normal-Nagana	
	M. 322	M. 323	M. 324	M. 325	M. 326	M. 327	M. 328	M. 329		
1.	—	—	—	—	—	—	—	—		
2.	+ + - + + + A	+ + + A	+ + + A	+ + + A	+ + + A	+ + + A	A	A		
3.	— A	— A	— A	— A	— A	— A	A	— A		
4.	0	0	0	0	0	0	—	—		
5.	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Normal-Nagana	Intraperit. Infektion mit Normal-Nagana	Intraperit. Infektion mit Normal-Nagana		
6.	0	0	0	+	+	+	+	+		
7.	0	0	0	+	+	+	+	+		
8.	0	0	0	+ + + +	+ + + +	+	+ + + +	+		

Tabelle XX.

Vorinfektion mit Normal-Nagana. — Heilung mit Arsacetin 0.5^{cm} 1:100 subkutan (A). M. 331—333. Nachinfektion mit der 50. Passage des „ungesiebten“ Rezidivstammes. M. 334—336. Nachinfektion mit der 50. Passage des gleichen Rezidivstammes („gesiebt“), der in der 24. Passage (vgl. M. 206, 221) durch eine mit Normal-Nagana infizierte und dann abgeheilte Maus geschieht war.

Tage nach der Infektion	Normal-Nagana intraperit. vorinfiziert. Bei +++ Heilung mit Arsacetin (A). Bei 0: Nachinfektion mit Rezidivstamm „ungesiebt“			Normal-Nagana intraperit. vorinfiziert. Bei +++ Heilung mit Arsacetin (A). Bei 0: Nachinfektion mit Rezidivstamm „gesiebt“			Prophylaktische und Infektionskontrollen für Rezidivstamm „ungesiebt“		Prophylaktische und Infektionskontrollen für Rezidivstamm „gesiebt“	
	M. 331	M. 332	M. 333	M. 334	M. 335	M. 336	M. 337	M. 338	M. 339	M. 340
1.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	++	+++ A	++	+++ A	+++ A	+++ A	— A	—	— A	— A
3.	+++ A	— A	+++ A	— A	— A	— A	— A	— A	— A	— A
4.	— A	—	— A	—	—	—	—	— A	— A	—
5.	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—
6.	Intraperitoneal Rezidivstamm „ungesiebt“			Intraperitoneal Rezidivstamm „gesiebt“			Intraperit. Infektion mit Rezidivstamm „ungesiebt“		Intraperit. Infektion mit Rezidivstamm „gesiebt“	
7.	0	0	0	++	++	++	++	+	++	++
8.	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9.	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+

Vorinfektion wie Nachinfektion hinsichtlich der Immunitätsreaktion alle charakteristischen Eigenschaften des Rezidivstammes rein trotz gleicher Passagenzahl aufweist.

Wir können somit zusammenfassend sagen:

Der Rezidivstamm stellt je nach der Intensität der Immunitätsvorgänge und je nach der Individualität der Trypanosomen des Ausgangsstammes entweder im Sinne der Ehrlichschen Anschauung eine echte Mutation dar, die ihre neuen Eigenschaften durch die Generationen ungemindert forterbt, oder eine Mischung (Population) von Mutanten- und Variantentypen, von denen letztere früher oder später zur Norm zurückschlagen. Ob der Rezidivstamm auch ausschließlich als reine Variation bestehen kann und sich nur aus vorübergehend angepaßten Variationsformen des Ausgangsstammes gemäß Braun-Teichmann zusammensetzen kann, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Unsere Versuche zeigen, daß der Rückschlag des Rezidivstammes zum Ausgangsstamm durchaus nicht auf einem Rückschlag aller Parasiten zu beruhen braucht, sondern sich auch bei Anwesenheit echter Mutationsformen durch Überwuchern der Variationstypen vollziehen kann.

Wir sind schließlich in weiteren Experimenten der Frage näher getreten, wie sich die in vitro erzeugten Rezidivstämme zu den spontan im Verlaufe der Infektion auftretenden Rezidivstämmen verhalten, und ob auch zwischen den in gleicher Weise durch Serumkontakt im Reagenzglase entstandenen Rezidivstämmen untereinander biologische Unterschiede bestehen, die sich in dem Ausfall der Immunitätsreaktion offenbaren. Für die spontan im Verlaufe der Trypanosomeninfektion auftretenden Rezidivstämme hat zuerst Neumann im Morgenrothschen Laboratorium gezeigt, daß die Immunität, welche sich an die Abheilung des einen Rezidivstammes anschließt, noch nicht notwendigerweise eine Immunität gegen andere Rezidivstämme desselben Ausgangsstammes bedingen muß, ja, daß selbst auch auf völlig gleiche Art und Weise mit demselben Heilmittel erzeugte und in derselben Periode stehende Rezidivstämme des gleichen Ausgangsstammes bei der Immunitätsreaktion biologische Unterschiede zeigen können. Ehrlich hat dann diese Befunde dahin erweitert, daß mit Wahrscheinlichkeit nur fünf derartige unter sich differente Modifikationen von Rezidivstämmen bestehen. Auch Braun und Teichmann sind in ihren Versuchen zur Immunisierung gegen Trypanosomen zu dem Ergebnis gelangt, daß unter der Einwirkung derselben Antikörper verschiedene Arten von serumfesten Stämmen entstehen können.

In zwei verschiedenen Versuchskombinationen wurde eine Beantwortung der eingangs von uns aufgeworfenen Frage versucht:

1. Durch Vergleichung eines im Reagenzglase durch Immunserumkontakt gewonnenen Rezidivstammes mit einem spontan sich entwickelnden I. Rezidivstamm.

2. Durch Gegenüberstellung von Rezidivtrypanosomen, die auf völlig gleiche Weise nur mit verschiedentägigem Immunserum im Reagenzglase durch Serumkontakt aus Normal-Trypanosomen gewonnen waren.

ad 1. Von Pr. 144 (Tabelle XV) werden am 4. Versuchstage die reichlich entwickelten Trypanosomen auf eine unbehandelte Maus subkutan übertragen (sehr schwache Infektion). Sobald durch die erfolgreiche Nachinfektion mit Normal-Nagana die Umwandlung des mit Immunserum in vitro behandelten Ausgangsstammes zum Rezidivstamm bei Pr. 144 gesichert ist, wird die mit diesen Rezidivparasiten frisch infizierte Maus entblutet, und die Mäuse I—IX, XV stark intraperitoneal mit dem Blut infiziert. Bei +++ im Blut werden diese Tiere mit Arsacetin geheilt, und nun Normal-Nagana (I—III), gleicher Rezidivstamm in vitro (IV—VI) und ein I. Tartarusrezidivstamm nachgeimpft. Über die Gewinnung dieses Rezidivstammes ist kurz zu sagen, daß er von den Trypanosomen eines ersten Rezidives gewonnen war, das nach Abheilung der Normal-Naganainfektion durch 0.25^{ccm} einer Lösung von Kaliumantimonyltartrat 1:1000 subkutan am 10. Tage auftrat. Er wurde nach einer Tierpassage zum Versuche verwendet.

Versuch XXI. (S. 534.)

Das Resultat des Versuches ist also folgendes: Die Abheilung des Rezidivstammes in vitro bewirkt nur eine Immunität gegen diesen Stamm, nicht aber gegen den Ausgangsstamm, und vor allem nicht gegen einen spontan entstandenen entsprechenden I. Rezidivstamm. Es zeigen somit beide Rezidivstämme neben ihrer gemeinsamen Eigenschaft, vom Ausgangsstamm verschieden zu sein, noch untereinander differente biologische Merkmale: die gegen den einen Rezidivstamm gerichteten spezifischen Schutzstoffe besitzen keine Wirksamkeit für den anderen Rezidivstamm.

Entsprechenden Verhältnissen begegnen wir, wenn wir zwei durch Kontakt mit verschiedentägigem Immunserum gewonnene Rezidivstämme mit Hilfe der Immunitätsreaktion miteinander vergleichen. Es wurden im folgenden Versuch XXII 4 Mäuse mit der 3. Passage des Rezidivstammes Pr. 135 (Tabelle XIV), der durch Behandlung von Normaltrypanosomen in vitro mit 4tägigem Immunserum gewonnen war, intraperitoneal infiziert, mit Arsacetin abgeheilt, und Trypanosomen des Rezidivstammes Pr. 144 (Tabelle XV) nachinjiziert, der sich aus Normalparasiten durch Digerierung mit 5tägigem Immunserum im Reagenzglase entwickelt hatte und in diesem Versuch in der 2. Passage zur Verwendung gelangte.

Tabelle XXI.

Versuchsreihe	Vorinfektion mit Reizdivstamm in vitro. Nachinfektion mit Normal-Nagana			Vorinfektion mit Reizdivstamm in vitro. Nachinfektion mit gleichem Reizdivstamm in vitro			Vorinfektion mit Reizdivstamm in vitro. Nachinfektion mit I. Tartarus-Reizdivstamm			Prophylaktische und Infektionskontrollen für Reizdivstamm in vitro		Prophylaktische und Infektionskontrollen für I. Tartarus-Reizdivstamm		XIV. Prophylaktische u. Infektionskontrolle für Normal-Nagana	XV. Reizdivkontrolle für Reizdivstamm in vitro
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.		
1.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
2.	+++A	+++A	+++A	+++A	+++A	+++A	+++A	+++A	+++A	—A	—A	—A	—A	—A	+++A
3.	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A	—A
4.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	0
6.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	0
	Normal-Nagana intraperitoneal			Gleicher Reizdivstamm in vitro intraperitoneal			I. Tartarus-Reizdivstamm intraperitoneal			Reizdivstamm in vitro intraperitoneal		I. Tartarus-Reizdivstamm intraperitoneal		Normal-Nagana intrap.	0
7.	++	++	++	0	0	0	+	+	+	++	++	+	+	++	0
8.	+++	+++	+++	0	0	0	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+++	0
9.	+	+	+	0	0	0	+	+++	+++	+	+	+	+++	+	0
10.				0	0	0			+						

Tabelle XXII.

A = Behandlung mit 0.5^{cem} Arsacetin 1:100 subkutan.

Versuchstage	Vorinfektion mit Rezidivstamm in vitro Pr. 135. Nachinfektion mit Rezidivstamm in vitro Pr. 144. (Intraperitoneal)					Prophylaktische und Infektionskontrollen		Rezidivkontrollen	
	XVI.	XVII.	XVIII.	XIX.		XX.	XXI.	XXII.	XXIII.
1.	+	+	+	+		—	—	+	+
2.	+++A	+++A	+++A	+++A		—A	—A	+++A	+++A
3.	—A	—A	—A	—A		—A	—A	—A	—A
5.	0 Intraperitoneal Pr. 144	0 Intraperitoneal Pr. 144	0 Intraperitoneal Pr. 144	0 Intraperitoneal Pr. 144		Intraperitoneal Pr. 144	Intraperitoneal Pr. 144	0	0
6.	+	+	+	+		+	+	0	0
7.	++	++	++	++		++	++	0	0
8.	+++†	†	+++†	+++†		+++†	+++†	0	0
9.			†					0	0

Das Ergebnis dieses Experiments ist: Auch auf gleiche Art mit verschiedentägigem Immunserum im Reagenzglasversuch erzeugte Rezidivtrypanosomen zeigen bei Anwendung der Immunitätsreaktion biologische Unterschiede. Denn, wie der Versuch zeigt, vermag die Vorimpfung und Abheilung des Rezidivstammes in vitro Pr. 135 keine Schutzkörper gegen die nachfolgende Infektion mit dem Rezidivstamm in vitro Pr. 144 auszulösen. Wir begegnen somit auch bei den im Reagenzglasversuch gewonnenen Rezidivstämmen analogen Verhältnissen, wie sie von Neumann, Ehrlich, Braun und Teichmann bei den spontan auftretenden Rezidivstämmen beschrieben worden sind.

Zusammenfassung.

I. Die im vorangehenden geschilderten Versuche beschäftigen sich mit dem Mechanismus der Rezidivstammbildung bei der experimentellen Trypanosomeninfektion (*Trypanosoma Brucei*). Sie zeigen, daß der trypanozide Titer eines spezifischen Trypanosomenimmunserums nicht für die Umbildung des Normalstammes zum Rezidivstamm den maßgebenden Faktor darstellt, und machen es wahrscheinlich, daß neben den trypanoziden Antikörpern selbständige Serumssubstrate — von uns als Rezidivkörper bezeichnet — existieren, auf deren Reiz hin die Trypanosomen zur Ausbildung eines neuen vom Ausgangsstamm verschiedenen dominanten Rezeptorenapparates gedrängt werden. Für die selbständige Existenz der Rezidivkörper im Immunserum neben den trypanoziden Immunkörpern spricht:

1. Die Dissonanz zwischen Trypanozidie und Rezidivstammbildungsvermögen der Trypanosomenimmunsera, wie sie im Reagenzglasversuch hervortritt.

2. Die stärkere Thermolabilität der rezidivstammbildenden Serumkomponenten, die bei 15 Minuten dauernder Erwärmung des Immunserums auf 60° zerstört werden, während die trypanoziden Antikörper anscheinend intakt bleiben.

3. Daß die rezidivstammbildenden Eigenschaften spezifischer Trypanosomenimmunsera vorzugsweise an die Albuminfraktion gebunden erscheinen, während die trypanoziden Körper sich sowohl in der Albumin- wie Globulinfraktion finden.

II. Entsprechend dem Gehalt der Immunsera an trypanoziden Substanzen und Rezidivkörpern ergeben sich bei Behandlung von Normaltrypanosomen im Reagenzglase mit genügenden, aber nicht letalen Immunserummengen folgende durch das Experiment bewiesene Möglichkeiten:

1. Die Trypanosomen gehen ohne Verzögerung als Rezidivparasiten an.
2. Bei mäßiger bzw. starker Verzögerung der Infektion zeigen die angehenden Trypanosomen Rezidivstammeigenschaften.
3. Die Trypanosomen gelangen unter deutlicher bzw. beträchtlicher Verzögerung wieder als Normalparasiten zur Entwicklung.
4. Die angehenden Trypanosomen weisen Normalstamm- und Rezidivstammeigenschaften gleichzeitig auf.

III. Die erworbenen Rezidivstammeigenschaften brauchen nicht dauernd vererbt zu werden. Der Rückschlag des Rezidivstammes zum Ausgangsstamm muß jedoch nicht auf einem Rückschlag aller Parasiten beruhen, sondern kann sich auch bei Anwesenheit echter Mutationsformen durch Überwuchern von Trypanosomen vom Variationstypus, die zum Normalstamm zurückschlagen, vollziehen.

IV. Zwischen den im Reagenzglasversuch durch Immunserumkontakt erzeugten Rezidivstämmen und den im Verlaufe der Infektion spontan auftretenden Rezidivstämmen können biologische Unterschiede bei der Immunitätsreaktion bestehen.

V. Auch auf gleiche Art mit verschiedentägigem Immunserum im Reagenzglasversuch erzeugte Rezidivstämme können bei Anwendung der Immunitätsreaktion biologische Unterschiede zeigen.

VI. Mäuseimmunserum zeigt in vitro keine oder nur geringe trypanolytische Fähigkeiten, dagegen besitzt das Blut abgeheilte Trypanosomenmäuse in vivo starke trypanolytische Wirkungen. In Übereinstimmung hiermit steht das Fehlen von hämolytischem Komplement im Mäuse-serum (Ritz), während Komplement in vivo bei Mäusen nachweisbar ist.

Literatur-Verzeichnis.

- Braun u. Teichmann, Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen. Gustav Fischer, Jena 1912.
- Braun, Beiträge zur Kenntnis des Komplementes. *Biochem. Zeitschrift*. 1911. S. 65.
- Ehrlich, Über Partialfunktionen der Zelle. *Münchener med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 5.
- Derselbe, Über Partialfunktionen der Zelle. (Nobel-Vortrag.) *Beiträge zur experimentellen Pathologie u. Chemotherapie*. Leipzig 1909. Akad. Verlagsgesellschaft.
- Derselbe, Aus Theorie und Praxis der Chemotherapie. *Folia Serologica*. 1911. Bd. VII. Hft. 7. S. 697.
- Derselbe, Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1907. S. 311.
- Ehrlich, Röhl und Gulbrandsen, Über serumfeste Trypanosomenstämme. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. 1909. S. 296.
- Ehrlich u. Shiga, Farbertherapeutische Versuche bei Trypanosomenenerkrankung. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1904. Nr. 13 u. 14.
- Franke, Therapeutische Versuche bei Trypanosomenenerkrankung. *Inaugural-Dissertation*. Gießen 1905.
- Laveran u. Mesnil, Trypanosomes et Trypanosomiasés. Paris 1904.
- Levaditi et Stanesco, Immunisation des spirilles par action des anticorps „in vitro“. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 1910. p. 353.
- Levaditi u. Mutermilch, Recherches sur la méthode de Bordet et Gengou appliquée à l'étude des trypanosomiasés. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. 1909. Bd. II. S. 702.
- Levaditi et McIntosh, Mécanisme de la création de races de trypanosomes, résistantes aux anticorps. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 1910. p. 368.
- Liefmann, Über den Mechanismus der Seroreaktion der Lues. *Münchener med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 41.
- Mesnil et Brimont, Sur les propriétés protectrices du sérum trypanosomiés. — Races résistantes à ces serums. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1909. p. 129.
- Morgenroth u. Rosenthal, Ambozeptoren und Rezeptoren. I. *Biochem. Zeitschrift*. 1911. Bd. XXXVI. S. 190.
- Dieselben, Experimentell-therapeutische Studien bei Trypanosomeninfektionen. I. *Diese Zeitschrift*. 1912. Bd. LXXI.
- Dieselben, Sitzung d. Ges. der Charité-Ärzte. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1911. Nr. 2.
- Neumann, Zur Kenntnis der Immunität bei experimenteller Trypanosomeninfektion. *Diese Zeitschrift*. 1911. Bd. LXIX.
- Ritz, Über Antikörperbildung und Anaphylaxie bei weißen Mäusen. *Zeitschrift f. Immunitätsforschung*. 1911. Bd. IX. S. 333.