

[Aus dem Institut für Infectiouskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

Ueber die Bildungsstätten der Typhusimmunkörper.

Ein Beitrag zur Frage der localen Immunität der Gewebe.

Von

Prof. A. Wassermann und Dr. J. Citroni.

Das vorliegende Thema hat der Eine von uns bereits im Jahre 1898 experimentell bearbeitet. Im Anschlusse an die gemeinschaftlich mit Takaki¹ angestellten Versuche über den Zusammenhang zwischen gewissen Organen und Antikörperproduction bei Tetanus wurde damals die Frage in Untersuchung gezogen, ob sich auch bei Typhus die Entstehung der Antikörper in bestimmten Organen nachweisen liesse.² Das Experiment schien darauf eine bejahende Antwort zu geben. Denn es konnte gezeigt werden, dass bei intravenös und subcutan mit einer einmaligen Injection vorbehandelten Thieren in einem gewissen Zeitpunkt Knochenmark, Milz und Lymphdrüsensystem einen höheren oder mindestens ebenso hohen Gehalt an Typhusantikörpern besaßen als das Blutserum. Auf Grund dieser Versuche wurde der Schluss gemacht, dass dieses Organsystem die Matrix der Typhusantikörper darstelle, genau wie das gleichzeitig für Cholera Pfeiffer und Marx³ nachgewiesen hatten. Diese Befunde wurden speciell für Typhus seitdem mehrfach, u. A. von

¹ Wassermann u. Takaki, Ueber tetanusantitoxische Eigenschaften des normalen Centralnervensystems. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1898. Nr. 1.

² Derselbe, Weitere Mittheilung über Seitenketten-Immunität. *Ebenda*. 1898. Nr. 10.

³ Pfeiffer u. Marx, Die Bildungsstätte der Cholerascchutzstoffe. *Diese Zeitschrift*. 1898. Bd. XXVII.

L. Deutsch¹, bestätigt. Indessen mit der fortschreitenden Einsicht in die feineren Vorgänge bei der Immunität mehrten sich die Anzeichen, die es zweifelhaft erscheinen liessen, ob ein bestimmtes Organsystem ein für alle Mal für Antikörperproduction in Frage komme. Die Ehrlich'sche Theorie lässt diese Frage offen. Sie besagt nur, dass jede Zelle, die zu binden vermag und abstossungsfähige Receptoren besitzt, Antigene hervorzubringen im Stande sei. Wenn sich derartige bindungsfähige Zellen nur in einem bestimmten Organ finden, so muss nach der Theorie dieses Organ dann als Matrix für die betreffenden Antistoffe in Betracht kommen. Sind aber Zellen mit bindenden Eigenschaften über den gesamten Organismus zertreut, dann kann in jedem Organ, wo sich solche Zellen finden, Antikörperproduction stattfinden: Die soeben erwähnten Versuche des Einen von uns waren damals in der Art angestellt, dass die Thiere intravenös bezw. subcutan vorbehandelt waren. Unter diesen Umständen treten die injicirten, die Immunität auslösenden Stoffe der Typhusbacillen sofort in die Blutbahn über und kommen auf dieser in erster Linie mit dem genannten Organsystem, d. h. dem hämatopoëtischen Apparat in Berührung. Es ist dies ja dasjenige Organsystem, in dem sich auch andere corpusculäre Elemente, die wir in's Blut injiciren, niederschlagen. Es musste daher die Frage auftreten, ob nicht etwa die Thatsache, dass gerade der hämatopoëtische Apparat damals als die Quelle der Typhus-Antigene erschien, ihre Ursache in dieser Versuchsanordnung hatte, weil nämlich gerade er zuerst mit den injicirten Bacillen in Berührung kam, und daher seine Zellen in erster Linie die betreffenden Stoffe an sich zu binden vermögen. Dadurch konnten diese verhindert werden, an andere Zellen und Organe zu kommen, die so ihre Fähigkeit, ebenfalls Antigene zu produciren, nicht in die Erscheinung treten lassen konnten. Diese Erwägungen und besonders auch die Versuche von Römer² und v. Dungern³, auf die wir gleich des Näheren kommen werden, veranlassten uns, diesen Punkt speciell bei Typhus einer nochmaligen genauen Bearbeitung zu unterziehen. Römer zeigte nämlich, dass bei der localen Behandlung eines Auges mit Abrin nur dieses Auge, nicht aber das andere und ebenso wenig das Serum antitoxinhaltig ist. Und ebenso konnte v. Dungern bei Kaninchen durch locale Behandlung der vorderen Augenkammer eines Auges mit Maja-Serum locale Präcipitinbildung in diesem Auge erzielen. v. Dungern schliesst mit Recht aus dieser Beobachtung,

¹ L. Deutsch, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899. T. XIII.

² Paul Römer, *Experim. Untersuchungen über Abrin- (Jequiritol) Immunität*. Graefe's *Archiv für Ophthalmologie*. 1901. Bd. LII.

³ v. Dungern, *Die Antikörper*. Jena 1903.

dass die Antikörperbildung hier bei diesem Versuche von den Zellen der Augenkammer aus erfolgt ist.

Bei unserer Versuchsanordnung, die entscheiden sollte, ob bei Typhus auch andere Zellen als diejenigen der Milz, des Knochenmarkes und Lymphdrüsensystems Antikörper produciren können, wurden wir von folgenden Ueberlegungen geleitet. Wir wissen aus den oben angegebenen Versuchen des Einen von uns für Typhus, sowie von Pfeiffer und Marx für Cholera, dass von allen Körperflüssigkeiten, Serum, Transsudaten u. s. w. das Serum in allen bisher untersuchten Fällen sich als am reichsten in Bezug auf seinen Antikörpergehalt für Typhus bzw. Cholera erweist. In der That konnten wir das bei unseren Versuchen von Neuem wieder bestätigen. Geling es uns nun, anstatt wie bei den bisherigen Versuchen bei subcutaner oder intravenöser Injection, bei intrapleuraler Vorbehandlung in einem gewissen Zeitpunkt das Pleuraexsudat ebenso hoch oder sogar noch höher wirksam als das Serum zu finden, so war damit bewiesen, dass in diesem Falle die im Pleuraraume vorhandenen Zellen eine selbstständige Antikörperproduction übernommen hatten, indem sie bei dieser Versuchsanordnung früher als die Zellen des hämatopoëtischen Apparates in die Lage gekommen waren, sich mit den Stoffen der Typhusbacillen zu binden. Ebenso musste dies für das Peritonealexsudat gültig sein bei intraperitonealer Vorbehandlung. Indessen wollen wir gleich hier vorausschicken, dass die experimentelle Lösung besonders in letzterem Falle öfters auf unüberwindliche Schwierigkeiten stösst, indem die Resorption aus den serösen Höhlen in die Blutbahn bisweilen so rasch erfolgt, dass eine genügende Bindung an die Zellen der betreffenden Höhlen nicht erfolgt. In diesem Falle verläuft der Versuch dann negativ. Es ist daher unmöglich, mit einer mathematischen Sicherheit zu sagen, dass ein Thier, das intravenös vorbehandelt wird, in einem gewissen Zeitpunkt den höchsten Titer im Serum, das intrapleural vorbehandelte den höchsten Titer im Pleuraexsudate besitzt. Immerhin aber ist diese Thatsache bei unseren Versuchen, wie aus nachfolgenden Tabellen hervorgeht, so häufig eingetreten, dass die Möglichkeit der Antikörperbildung Seitens der Peritoneal- bzw. Pleuralzellen bei intraperitonealer bzw. pleuraler Vorbehandlung klar daraus hervorgeht.

Unsere Versuche wurden an Kaninchen angestellt, welche Injectionen lebender Typhuscultur entweder in die Pleura oder in das Peritoneum oder intravenös erhielten. Nach gewisser Zeit wurden bei den Thieren durch Aleuronatinjection Exsudate erzeugt, die Thiere alsdann getödtet und nun Serum und Exsudate, sei es im baktericiden Reagensglasversuche, sei es im Pfeiffer'schen Versuche austitriert. Einige Versuche, die wir in extenso wiedergeben, mögen unsere Versuchstechnik zeigen.

Experiment. Drei Kaninchen erhalten je eine einmalige Injection von $\frac{1}{4}$ Oese lebender Typhuscultur, und zwar das eine intravenös, das andere intrapleurale, das dritte intraperitoneal. Am 9. Tage erhalten die drei Thiere 5^{cem} Aleuronatbrei intrapleurale und 10^{cem} 0.85 procentige Kochsalzlösung intraperitoneal. Am nächsten Tage werden die Thiere entblutet und das Pleura- und Peritonealexsudat entnommen. Die Prüfung des baktericiden Titers erfolgte nach dem Vorgange von Neisser und Wechsberg¹ mit Hilfe des Plattenverfahren. In der Technik folgten wir den Angaben von Stern und Korte.² Das Serum bzw. die Exsudate wurden durch halbstündiges Erwärmen auf 56° inactivirt und dann zu je 1^{cem} in abfallenden Verdünnungen in sterile Reagensgläser gegeben. Hierzu wurden 0.5^{cem} einer 24 stündigen Typhus-Bouilloncultur in einer Verdünnung von 1:5000 bzw. 1:10000 zugesetzt. Zum Reactiviren wurden 0.5^{cem} frischen, normalen Kaninchenserums in einer Verdünnung von 1:12 physiologischer Kochsalzlösung zugefügt und gut geschüttelt. Die Röhrchen kamen alsdann auf 3 Stunden in den Brutschrank. Der gesammte Inhalt jedes Röhrchens wurde dann zu einer Agarplatte verarbeitet. Nach 18 bis 24 Stunden wurden die Platten besichtigt, wobei als Grenzwert der Wirksamkeit diejenige Platte betrachtet wurde, auf welcher noch eine sehr starke Verminderung der Colonieen gegenüber der unzählige Colonieen aufweisenden Controlplatte beobachtet werden konnte. Ausser im baktericiden Reagensglasversuche bestimmten wir indessen, wie bereits erwähnt, der Sicherheit wegen in einer grossen Reihe von Fällen den Titer auch im Thierversuch mittels der Pfeiffer'schen Methode.

Tabelle I.

Nummer des Kaninchens:	IVa (intravenöse Vorbehandlung)	IVb (intrapleur. Vorbehandlung)	IVc (intraperit. Vorbehandlung)
Titer des Serums	$\frac{1}{3500} - \frac{1}{5000}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{400}$
„ „ Pleuraexsudats	$\frac{1}{1500} - \frac{1}{1800}$	$\frac{1}{2000} - \frac{1}{2400}$	$\frac{1}{1200}$
„ „ Peritonealexsudats	$\frac{1}{1500} - \frac{1}{2400}$	$\frac{1}{1200}$	$\frac{1}{2400}$

Feststellung des Titers im baktericiden Reagensglasversuch.

¹ Neisser u. Wechsberg, *Münchener med. Wochenschrift*. 1901.

² R. Stern u. W. Korte, Ueber den Nachweis der baktericid. Reaction u. s. w. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1904. Nr. 9.

Tabelle II.

Nummer des Kaninchens:	Va (intrapleurale Vorbehandlung)	Vb (intraperiton. Vorbehandlung)
Titer des Serums	$\frac{1}{5000}$	0
„ „ Pleuraexsudats	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{1500}$
„ „ Peritonealexsudats	Exsudat fehlt	$\frac{1}{4000}$

Feststellung des Titers im baktericiden Reagensglasversuch.

Tabelle III.

Nummer des Kaninchens:	XXVIII (intravenöse Vorbehandlg.)	XXIV a (intravenöse Vorbehandlg.)	XX b (intrapleurale Vorbehandlg.)	XXIV b (intrapleurale Vorbehandlg.)
Titer des Serums	$\frac{1}{2000} - \frac{1}{3000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{500}$
„ „ Pleuraexsudats	$\frac{1}{1000} - \frac{1}{1500}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{5000}$	$\frac{1}{500} - \frac{1}{1000}$
„ „ Peritonealexsud.	fehlt	fehlt	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$

Feststellung des Titers nach Pfeiffer'scher Methode.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich also, dass diejenigen Zellen, welche im Stande sind, zuerst und in genügendem Maasse die specifischen Stoffe der Typhusbacillen an sich zu binden, Antikörper produciren können, und dass daher Milz, Knochenmark und Lymphdrüsensystem nicht das ausschliessliche Privileg für diese Function, wenigstens bei Typhus, haben. Denn wir sehen in Tabelle I und II, dass bei dem intravenös vorbehandelten Thiere der höchste Titer im baktericiden Reagensglasversuche im Serum, bei dem intrapleural vorbehandelten im Pleuraexsudate, bei dem intraperitoneal injicirten im Peritonealexsudate enthalten ist. Bei den Thieren in Tabelle III, bei welchen nur der Vergleich zwischen intravenöser und intrapleuraler Vorbehandlung zu ersehen ist, wurde der Titer des Serums und des Pleuraexsudates im Thierversuche mittels des Pfeiffer'schen Versuches bestimmt. Auch hier ist bei den intrapleural behandelten Thieren eine zweifellose Erhöhung des Titers im Pleuraexsudate gegenüber den intravenös immunisirten ersichtlich. Diese Differenz im Titer gleicht sich nach längerer Zeit aus, so dass alsdann analog wie in den früheren Versuchen von Pfeiffer und Marx, sowie A. Wassermann, das Serum den stärksten Gehalt an Antistoffen zeigt (s. S. 343, Kan. IIIb). Dass der erhöhte Gehalt der Exsudate nicht etwa die Folge eines erhöhten Zustromes der Antikörper in Folge der das Exsudat hervorrufenden Aleuronatinjectionen ist, geht aus

den schon citirten älteren Versuchen und besonders auch daraus hervor, dass bei den intravenös vorbehandelten Thieren trotz Aleuronatinjection der Gehalt des Exsudates an Antistoffen ein weit geringerer ist als im Serum. Auch die Leukocyten, die unzweifelhaft Antigene produciren können, sind aus demselben Grunde nicht als die Matrix der beispielsweise in Pleuraexsudaten bei unserer Versuchsanordnung vermehrt auftretenden Antistoffe zu betrachten. Denn wie aus den Versuchsprotokollen hervorgeht, enthalten die an Leukocyten überaus reichen Pleuraexsudate weit geringere Mengen an Antistoffen als das Serum oder selbst das durch Bouilloninjection erhaltene leukocytenarme Peritonealexsudat, sobald die Vorbehandlung nicht intrapleural geschehen war, vielmehr deuten die Versuche darauf hin, dass die Bindegewebszellen, besonders die Endothelien, Typhusantistoffe zu produciren vermögen.

Um speciell die Möglichkeit einer localen Antikörperbildung Seitens Bindegewebszellen, die, wie uns scheint, bereits in einem der ersten Versuche Löffler's über Schweinerothlauf angedeutet ist, zu studiren, haben wir ebenfalls Versuche angestellt.

Unsere Versuchsanordnung bestand darin, dass wir versuchten, die immunitätsauslösenden Stoffe der Typhusbacillen zu zwingen, sich an die Bindegewebszellen zu binden. Zu diesem Behufe injicirten wir 2 Oesen abgetödteter Typhusbacillen subcutan in ein Ohr von Kaninchen und banden durch einen Gummischlauch sofort nach der Injection das Ohr während 2 Stunden lang ab.¹ Nach ca. 10 Tagen wurde alsdann der Titer des Serums bei dem Thiere bestimmt und nun das Ohr amputirt. Mehrere Wochen nach der Amputation des Ohres wurde der Gehalt des Serums an baktericiden Stoffen von Neuem bestimmt, um zu ermitteln, ob nach Wegnahme des Ohres als des Locus der immunisirenden Injection nunmehr ein auffallendes Zurückgehen des Gehaltes an Antikörpern bei dem Thiere zu constatiren ist. Zur Controle wurde der gleiche Versuch an einem Kaninchen gemacht, ohne indessen das Ohr zu stranguliren, so dass die injicirten Typhusbacillen in die Blutbahn aufgenommen werden konnten. Auch hier wurde das Ohr amputirt, um den Einfluss der Operation als solcher zu bestimmen, und nun einige Zeit nach der Amputation wieder der Gehalt des Serums an Antikörpern bestimmt. Dabei zeigte es sich, dass bei dem Thier, welchem das Ohr vorher abgebunden worden war, nach der Amputation der Serumtiter sehr viel intensiver abgefallen war, als bei dem anderen Thier. Es würde

¹ Anmerkung während der Correctur. In der eben erschienenen Nummer vom 22. IV. 05 des Referatentheils des *Centralbl. f. Bakteriologie* wird über ähnliche Versuche Jules Rehns, betreffend die Bindung von Diphtherietoxin an das Bindegewebe des Kaninchenohres, berichtet, auf die wir hiermit verweisen wollen.

dieser Versuch, dessen Versuchsprotokoll am Schlusse beigelegt ist, demnach so zu deuten sein, dass in diesem Falle die Bindegewebszellen des Ohres eine Hauptstätte der Antikörperproduction waren, die nach der Amputation fortfiel. Wir wollen indessen nicht verhehlen, dass wir unter sechs derartigen Versuchen nur einmal dieses Resultat erhielten, indem bei den anderen Versuchen entweder bei den Kaninchen, deren Ohr strangulirt war, ein Antikörpergehalt auch vor der Amputation des Ohres nicht genügend nachzuweisen war oder aber die Strangulation so stark war, dass das Ohr sich spontan nekrotisch ablöste. In anderen Fällen wieder war der Antikörpergehalt vor der Amputation so stark, dass es klar war, dass trotz der Strangulation der grösste Theil der injicirten Typhusbacillen in die Blutbahn übergetreten war. Immerhin aber ist der Abfall in dem einen Versuch nach der Amputation ein so starker, wie wir ihn sonst innerhalb dieser Zeit nie gesehen haben, so dass wir nicht verfehlen wollten, diesen Versuch hier anzuführen, obwohl wir uns bewusst sind, dass dieser eine positive Versuch diese wichtige Frage nicht entscheidend beantworten kann.

Die Thatsache, dass nicht ein bestimmtes Organgewebe, sondern die verschiedensten Zellen je nach der Gelegenheit, die sie haben, specifische Stoffe zu binden, Antigene produciren können, ist praktisch sehr wichtig, besonders wenn wir berücksichtigen, wie dies bereits aus den Versuchen von Pfeiffer und Marx und auch aus einem der unserigen Versuche (vgl. Versuch Kan. IX, S. 345) hervorgeht, dass diese locale Antikörperproduction unter Umständen sehr schnell, schon innerhalb der ersten 24 Stunden erfolgen kann. Dabei müssen wir noch berücksichtigen, dass wir geringe Mengen von Antikörpern, wie sie für den natürlichen Mechanismus der Infection gegenüber wenigen eingedrungenen Bakterien in Frage kommen, überhaupt mit unserer Versuchsanordnung bisher nicht nachweisen können. Denn wir erhalten klare und sichere Immunitätsreactionen mit Gewebsextracten und Gewebsflüssigkeiten ja erst dann, wenn in diesen Organsubstanzen ein grosser Ueberschuss von Antigenen vorhanden ist. Von diesem Gesichtspunkte aus müssen wir daher die Möglichkeit der localen Antikörperproduction als eine für die Praxis wichtige Thatsache bezeichnen. Denn dadurch ist es vielleicht möglich, worauf schon Ehrlich in seinem Vortrage auf der Naturforscherversammlung in Bremen aufmerksam machte, „im Laufe der Immunisirung einen Theil der Antikörperproduction von den lebenswichtigen Organen abzulenken und in das indifferente Bindegewebe zu verlegen.“

Es ist klar, dass es für Bakterien, wie beispielsweise den Typhusbacillus oder Cholera vibrio, die eine bestimmte Eingangspforte,

den Magendarmcanal, besitzen, in praxi das Beste und Sicherste wäre, eine locale Immunität der Gewebe dieser Eingangspforte zu erzielen. Und wenn wir die Beobachtungen an den sogen. Typhusbacillen- und Choleravibrienträgern berücksichtigen, d. h. Individuen, die lange Zeit hindurch, ohne irgend welche Krankheitssymptome zu zeigen, Typhusbacillen bzw. Choleravibrien in ihrem Darm beherbergen, ohne dass diese Individuen einen gesteigerten Gehalt an specifisch baktericiden Substanzen in ihrem Blute haben, so scheint eine derartige locale Immunität der Gewebe auch spontan bzw. erworben nach spontaner Ueberstehung gewisser Infectionen vorzukommen. Wenn wir beobachten, dass das Darmepithel eines Menschen nach Ueberstehen des Typhus und in Folge Ueberstehens dieser Krankheit unempfindlich für die Typhusbacillen geworden ist, dass diese Typhusbacillen in dieses Darmepithel nicht mehr eindringen können, so scheint uns diese locale Immunität der Gewebe praktisch sehr wichtig und eines weiteren intensiven Studiums äusserst bedürftig zu sein.

Protokolle.

I. Baktericide Reagensglasversuche über den Ort der Typhusimmunkörperbildung.

Kaninchen IVa.

8. VII. 04. Intravenöse Injection von $\frac{1}{4}$ Oese leb. Typhus E.
 17. VII. 04. Intrapleurale Injection von 5^{cem} Aleuronatbrei und
 intraperitoneale „ „ 10 „ Kochsalzlösung.
 18. VII. 04. Entblutet. Entnahme des Exsudats.

Verdünnungen	Zahl der Colonieen auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{500}$	∞	—	Tausende
$\frac{1}{800}$	—	300—400	Hunderte
$\frac{1}{1000}$	∞	300—400	300—400
$\frac{1}{1500}$	100 000	0	0
$\frac{1}{1600}$	100 000	0	0
$\frac{1}{1800}$	—	vereinzelte	—
$\frac{1}{2000}$	100 000	—	—
$\frac{1}{2400}$	—	300—400	0
$\frac{1}{2500}$	100 000	—	—
$\frac{1}{3000}$	100 000	Tausende	viele Hunderte
$\frac{1}{3500}$	300	—	—
$\frac{1}{5000}$	200	—	—

Kaninchen IVb.

8.VII. 04. Intrapleurale Injection von $\frac{1}{4}$ Oese lebendem Typhus.
Sonst wie IVa.

Ver- dünnungen	Zahl der Colonieen auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{500}$	500	Tausende	mehrere Hundert
$\frac{1}{800}$	∞	"	Tausend
$\frac{1}{800}$	—	viele Hundert	wenige Hundert
$\frac{1}{1000}$	∞	wenige Hundert	" "
$\frac{1}{1200}$	—	" "	0
$\frac{1}{1500}$	∞	—	1000
$\frac{1}{1600}$	—	100	—
$\frac{1}{1800}$	—	100	10 000
$\frac{1}{2000}$	∞	0	—
$\frac{1}{2400}$	∞	100	—
$\frac{1}{4000}$	∞	—	—
$\frac{1}{5000}$	∞	—	—

Kaninchen IVc.

8.VII. 04. Intraperitoneale Injection von $\frac{1}{4}$ Oese lebender Typhus-
Cultur E. Sonst wie IVa.

Ver- dünnungen	Zahl der Colonieen auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{10}$	10 000	—	—
$\frac{1}{100}$	Hunderte	—	—
$\frac{1}{200}$	500	—	—
$\frac{1}{400}$	20	—	—
$\frac{1}{500}$	500	Tausende	10 000
$\frac{1}{800}$	—	"	1000
$\frac{1}{1000}$	10 000	"	1000
$\frac{1}{1200}$	—	300—400	Hunderte
$\frac{1}{1500}$	∞	700—800	"
$\frac{1}{1800}$	—	Tausende	"
$\frac{1}{1800}$	—	∞	0
$\frac{1}{2000}$	∞	∞	10

Controlen zu IVa, IVb, IVc.

Controle I: (Aussaat) ∞ .

" II: (0.5 $\frac{1}{5000}$ Typh.-E. nach 3 Std. im Brutschrank) ∞ .

" III: (0.5 Cultur + 0.5 $\frac{1}{12}$ Kan.-Compl.) 3 Std. im Brutschrank) 10 000.

" IV: (Serum) 0.

" V: (Pleuraexsudat) 0.

" VI: (Peritonealexsudat) 0.

Kaninchen Va.

27. VII. 04. Intrapleurale Injection von $\frac{1}{4}$ Oese lebender Typhuscultur E.
 5. VIII. 04. Intrapleurale Injection von 5^{cem} Aleuronatbrei und intra-
 peritoneale Injection von 10^{cem} Bouillon.
 6. VIII. 04. Entblutet. Entnahme des Exsudats.

Ver- dünnungen	Zahl der Keime auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{10}$	Tausende	—	} Peritoneal- exsudat fehlte
$\frac{1}{50}$	„	∞	
$\frac{1}{100}$	„	∞	
$\frac{1}{500}$	viele Hundert	∞	
$\frac{1}{1000}$	400—500	∞	
$\frac{1}{1500}$	400—500	10 000	
$\frac{1}{2000}$	400—500	10 000	
$\frac{1}{3000}$	400—500	200	
$\frac{1}{4000}$	5	12	
$\frac{1}{5000}$	3	0	
$\frac{1}{10000}$	∞	∞	

Kaninchen Vb.

27. VII. 04. Intraperitoneale Injection von $\frac{1}{4}$ Oese lebender Typhus-
 cultur E. Sonst wie Va.

Ver- dünnungen	Zahl der Keime auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{10}$	∞	∞	—
$\frac{1}{100}$	∞	∞	700—800
$\frac{1}{500}$	∞	∞	700—800
$\frac{1}{1000}$	∞	∞	700—800
$\frac{1}{1500}$	∞	25	—
$\frac{1}{2000}$	∞	1000	—
$\frac{1}{2500}$	∞	∞	1000
$\frac{1}{3000}$	∞	∞	400—500
$\frac{1}{3500}$	∞	∞	100
$\frac{1}{4000}$	∞	∞	20
$\frac{1}{5000}$	∞	∞	200
$\frac{1}{10000}$	∞	∞	∞

Controllen zu Va, Vb, Vc.

Controle I:

0.5 $\frac{1}{5000}$ Typhusbacillen
 + 1.5 0.85 procent. NaCl-Lösung.
 Sofort gegossen. 10 000 Keime.

Controle II:

0.5 $\frac{1}{5000}$ Typhusbacillen
 + 1.5 0.85 procent. NaCl-Lösung.
 3 Std. im Brutschrank. ∞ Keime.

Controle III:

0.5 $\frac{1}{5000}$ Typhusbacillen
 + 0.5 $\frac{1}{12}$ Norm.-Serum (Complem.)
 + 1.0 0.85 procent. NaCl-Lösung.
 3 Std. im Brutschrank. ∞ Keime.

Serum-, Pleura- u. Peritonealexsudat-
 Controllen: 0.

Kaninchen IIa.

31. V.	04.	1.	Inject. Typhus E.	$\frac{1}{4}$	Oese (1 Std. bei 60° erwärmt)	Intravenöse Injection.
4. VI.	04.	2.	"	"	$\frac{1}{2}$ " (1 " " 60° "	
8. VI.	04.	3.	"	"	$\frac{2}{3}$ " (1 " " 60° "	
11. VI.	04.	4.	"	"	1 " (1 " " 60° "	
16. VI.	04.	5.	"	"	$\frac{1}{10}$ " (" lebend "	
22. VI.	04.	6.	"	"	$\frac{1}{4}$ " (" " "	
2. VII.	04.	Intrapleurale Injection von 5 ^{cem} Aleuronatbrei und intraperitoneale " " 10 " 0.85 procent. NaCl-Lösung.				
3. VII.	04.	Entblutet. Entnahme der Exsudate.				

Ver- dünnungen	Zahl der Keime auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{100}$	100 000	—	—
$\frac{1}{500}$	100 000	—	—
$\frac{1}{800}$	100 000	50	∞
$\frac{1}{1000}$	100 000	—	3000—4000
$\frac{1}{1200}$	100 000	50—60	—
$\frac{1}{1400}$	—	300—400	∞
$\frac{1}{1600}$	100 000	300—400	—
$\frac{1}{1800}$	Tausende	—	∞
$\frac{1}{2000}$	—	1000	∞
$\frac{1}{2100}$	0	—	—
$\frac{1}{2400}$	1000	∞	∞
$\frac{1}{3000}$	∞	∞	∞

Kaninchen IIIa.

6 intrapleurale Injectionen. Sonst wie IIa.

Ver- dünnungen	Zahl der Keime auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{100}$	viele Tausend	—	—
$\frac{1}{500}$	—	—	700—800
$\frac{1}{800}$	10 000	700—800	0
$\frac{1}{1000}$	—	10	0
$\frac{1}{1200}$	10 000	10	1000
$\frac{1}{1400}$	—	200—300	∞
$\frac{1}{1600}$	—	200—300	∞
$\frac{1}{1800}$	300—400	300	∞
$\frac{1}{2000}$	—	Tausende	∞
$\frac{1}{2100}$	0	—	∞
$\frac{1}{2400}$	10 000	∞	∞
$\frac{1}{2700}$	100 000	∞	∞
$\frac{1}{3000}$	∞	—	∞

Kaninchen Ia.
6 intraperitoneale Injectionen. So wie IIa.

Verdünnungen	Zahl d. Keime auf d. Agarplatten			
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat	
$\frac{1}{100}$	Tausende	—	—	Controllen zu Ia, IIa, IIIa (s. o.)
$\frac{1}{200}$	"	50	—	
$\frac{1}{800}$	"	0	—	Controle I: 100 000 Keime.
$\frac{1}{1000}$	700—800	0	Tausende	" II: ∞ "
$\frac{1}{1200}$	—	—	∞	" III: ∞ "
$\frac{1}{1400}$	700—800	vereinzelt	∞	
$\frac{1}{1600}$	—	100	∞	
$\frac{1}{1800}$	0	—	∞	
$\frac{1}{2000}$	—	Tausende	1000	
$\frac{1}{2100}$	0	—	—	
$\frac{1}{2200}$	—	Tausende	0	
$\frac{1}{2400}$	—	10 000	300—400	
$\frac{1}{2600}$	—	10 000	—	
$\frac{1}{2800}$	100 000	—	∞	
$\frac{1}{3000}$	∞	—	—	

Kaninchen IIb.

31. V. 04.	1. Inject. Typhus E.	$\frac{1}{4}$	Oese (1 Std. bei 60° erwärmt)	Intravenöse Injection.
4. VI. 04.	2. " " "	$\frac{1}{2}$	" (1 " " 60° "	
8. VI. 04.	3. " " "	$\frac{2}{3}$	" (1 " " 60° "	
11. VI. 04.	4. " " "	1	" (1 " " 60° "	
16. VI. 04.	5. " " "	$\frac{1}{10}$	" (lebend "	
22. VI. 04.	6. " " "	$\frac{1}{4}$	" (" "	
15. VII. 04.	7. " " "	$\frac{1}{4}$	" (" "	
27. VII. 04.	8. " " "	$\frac{1}{4}$	" (" "	
2. VIII. 04.	Intrapleurale Injection von 5 cem Aleuronatbrei und intraperitoneale " " 10 " 0.85 procent. NaCl-Lösung.			

Verdünnungen	Zahl der Keime auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{10}$	10 000	—	—
$\frac{1}{100}$	4	—	∞
$\frac{1}{500}$	5	1000	700—800
$\frac{1}{1000}$	30	> 100	700—800
$\frac{1}{1500}$	3	100	—
$\frac{1}{2000}$	2	100	400—500
$\frac{1}{2500}$	10	100	10
$\frac{1}{3000}$	10	100	100
$\frac{1}{3500}$	10	Tausende	Einige Hundert
$\frac{1}{4000}$	0	"	" "
$\frac{1}{5000}$	Tausende	—	—

Kaninchen IIIb.
8 intrapleurale Injectionen. Sonst wie IIb.

Ver- dünnungen	Zahl der Keime auf den Agarplatten		
	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat
$\frac{1}{10}$	6	—	—
$\frac{1}{100}$	0	50	500
$\frac{1}{500}$	2	100	—
$\frac{1}{1000}$	20	20	—
$\frac{1}{1500}$	40—50	20	1000
$\frac{1}{2000}$	10	—	—
$\frac{1}{2500}$	20	0	Hunderte
$\frac{1}{3000}$	0	0	—
$\frac{1}{3500}$	—	100	50—100
$\frac{1}{4000}$	—	500	1000
$\frac{1}{4500}$	5	—	∞
$\frac{1}{5000}$	100	—	—

Kaninchen Ib.
8 intraperitoneale Injectionen. Sonst wie IIa.

Verdün- nungen	Zahl d. Keime auf d. Agarplatten			
	Serum	Pleura- exsudat	Peritoneal- exsudat	
$\frac{1}{10}$	—	3	—	Controlen zu Ib, IIb, IIIb (s. o.). Controle I: 100 000 Keime. „ II: ∞ „ „ III: ∞ „
$\frac{1}{100}$	10	0	10 000	
$\frac{1}{500}$	10	1	Tausende	
$\frac{1}{1000}$	10	3	„	
$\frac{1}{1500}$	10	15	„	
$\frac{1}{2000}$	10	5	—	
$\frac{1}{2500}$	6	20	„	
$\frac{1}{3000}$	0	15	„	
$\frac{1}{3500}$	15	20	500	
$\frac{1}{4000}$	100	2	10—20	
$\frac{1}{4500}$	Hunderte	—	—	
$\frac{1}{5000}$	„	100	1000	

II. Ergebnisse der nach der Pfeiffer'schen Methode titrirten Sera und Exsudate über den Ort der Antikörperbildung.

A. Intrapleurale Vorbehandlung.

Kaninchen XXb. 11.I. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 19.I. 05. 10^{cem} Aleuronatbrei intrapleural,
 10 „ Bouillon intraperitoneal.
 20.I. 05. Tödtung des Thieres.

Pfeiffer'scher Versuch.

Verdünnungen	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat	
$\frac{1}{5000}$	lebt	lebt	†	Controle: 1 Oese Typhus W. †
$\frac{1}{1000}$	„	„	†	
$\frac{1}{100}$	„	„	lebt	

Kaninchen XXIVb. 18.I. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 24.I. 05. 10^{cem} Aleuronatbrei intrapleural,
 10 „ Bouillon intraperitoneal.
 25.I. 05. Getödtet.

Pfeiffer'scher Versuch.

Verdünnungen	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat	
$\frac{1}{5000}$	†	†	†	Controle: 1 Oese Typhus W. †
$\frac{1}{1000}$	†	erkrankt, † am 2. Tag	†	
$\frac{1}{500}$	lebt	lebt	†	
$\frac{1}{100}$	„	„	lebt	

Kaninchen XXVIIa. 15.II. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 22.II. 05. 10^{cem} Aleuronatbrei intrapleural.
 23.II. 05. Getödtet.

Pfeiffer'scher Versuch.

Datum	Verdünnungen	Serum	Pleuraexsudat	Peritonealexsudat	
24. II.	$\frac{1}{1200}$	lebt	†	nicht zu erhalten	Controle: 1 Oese Typhus W. †
	$\frac{1}{1000}$	„	krank, † am 2. Tag	—	
	$\frac{1}{500}$	„	lebt	—	

(Negatives Ergebniss.)

B. Intravenöse Vorbehandlung.

Kaninchen XXIVa. 18.I. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intravenös.
 24.I. 05. 10^{cem} Aleuronatbrei intrapleural,
 10 „ Bouillon intraperitoneal.
 25.I. 05. Getödtet. Peritonealexsudat nicht erzielt.

Pfeiffer'scher Versuch.

Datum	Verdünnungen	Serum	Pleuraexsudat
27. I.	$\frac{1}{5000}$	lebt	†
	$\frac{1}{1000}$	"	†
	$\frac{1}{100}$	"	lebt

Kaninchen XXVIII. 16. II. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intravenös.
 24. II. 05. 10^{cem} Aleuronat intrapleural.
 25. II. 05. Getödtet.

Pfeiffer'scher Versuch.

Datum	Verdünnungen	Serum	Pleuraexsudat
27. II.	$\frac{1}{4000}$	†	—
	$\frac{1}{3000}$	krank († am 2. Tag)	—
	$\frac{1}{2000}$	lebt	†
	$\frac{1}{1500}$	"	krank (erholt sich am 3. Tag)
	$\frac{1}{1000}$	"	lebt
	$\frac{1}{500}$	—	"
	$\frac{1}{100}$	lebt	"

III. Ueber die Zeit des ersten Auftretens von Antikörpern im Pleuraexsudat.

1. Nach 24 Stunden.

Kaninchen IX. 6. XII. 04. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 10^{cem} Aleuronat intrapleural.
 7. XII. 04. Tödtung des Thieres.

Plattenverfahren.

Pleura- verdünnungen	Colonieenzahl	
$\frac{1}{10}$	ca. 50	Controle I: 0·5 Typh. E. $\frac{1}{10000}$ viele Hundert. „ II: 0·5 Typh. E. $\frac{1}{10000}$ + } viele 0·5 $\frac{1}{12}$ Kanin.-Compl. } Hundert. „ III: 0·5 $\frac{1}{12}$ Kanin.-Compl. 0. „ IV: Pleuraexsudat 0.
$\frac{1}{100}$	0	
$\frac{1}{300}$	0	
$\frac{1}{500}$	200—300	
$\frac{1}{1000}$	viele Hundert	
$\frac{1}{1500}$	"	
$\frac{1}{0000}$	"	

Serum war nicht geprüft.

2. Nach 24 Stunden.

Kaninchen XI. 13. XII. 04. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 Inject. von 3^{cem} Aleuronat intrapleural.
 14. XII. 04. Tödtung des Thieres.

Serum und Pleuraexsudat wurden durch Plattenverfahren geprüft.
 In den Verdünnungen $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{2000}$ keine Verminderung der Colonieenzahl.

3. Nach 24 Stunden.

- Kaninchen XIII. 15. XII. 10^{cem} Aleuronatbrei intrapleural.
 16. XII. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 17. XII. Getödtet.

Serum und Pleuraexsudat werden durch Plattenverfahren geprüft.
 In den Verdünnungen $\frac{1}{5}$ bis $\frac{1}{5000}$ keine Verminderung der Colonieenzahl.

4. Nach 2 × 24 Stunden.

- Kaninchen X. 10. XII. 04. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 11. XII. 04. 5^{cem} Aleuronat „
 20 „ Bouillon intraperitoneal.
 12. XII. 04. Getödtet. Kein Peritonealexsudat.

Serum und Pleuraexsudat mit Plattenverfahren geprüft.
 In den Verdünnungen von $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{2000}$ keine Verminderung.

5. Nach 3 × 24 Stunden.

- Kaninchen XV. 19. XII. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 21. XII. Aleuronatinject. intrapleural u. intraperiton.
 22. XII. Getödtet.

Plattenverfahren.

In den Verdünnungen des Serums, des Pleura- und Peritonealexsudates
 $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{4000}$ keine deutliche Verminderung.

6. Nach 4 × 24 Stunden.

- Kaninchen XIX. 10. I. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 13. I. 05. Aleuronat.
 14. I. 05. Getödtet.

Plattenverfahren.

Serum . . . $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{5000}$ bewirkt starke Verminderung: vereinzelte Colon.
 Pleuraexsudat $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{5000}$ „ „ „ „ „ „ „ „
 Controle I: 0.5 $\frac{1}{10000}$ Typhus E. Tausende Colonieen,
 „ II: Typhus + Compl. „ „

7. Nach 6 × 24 Stunden.

- Kaninchen XVIII. 10. I. 05. $\frac{1}{4}$ Oese Typhus E. intrapleural.
 15. I. 05. Aleuronat. 16. I. 05. Getödtet.

Plattenverfahren.

Verdünnungen	Serum	Pleura	
$\frac{1}{10}$	vereinzelte	0	
$\frac{1}{50}$	„	0	
$\frac{1}{100}$	„	0	Controle I:
$\frac{1}{500}$	„	100	0.5 $\frac{1}{10000}$ Typhus E.: viele Tausend.
$\frac{1}{1000}$	„	200	Controle II:
$\frac{1}{1500}$	Hunderte	Hunderte	0.5 $\frac{1}{10000}$ Typhus E. + 0.5 $\frac{1}{12}$ Kan.-Compl.: Viele Tausend.
$\frac{1}{3000}$	„	„	
$\frac{1}{3000}$	„	„	
$\frac{1}{4000}$	„	„	

Resultat: Die locale Antikörperbildung ist bereits nach 24 Stunden möglich (Versuch I). Regelmässig ist dieselbe 4 Tage nach der Injection nachzuweisen.

IV. Versuche über locale Antikörperbildung am Kaninchenohr.

Kaninchen XVII b erhält am 24. XII. 2 Oesen Typhus E. subcutan in's Ohr. Hierauf wird das Ohr mit einem Gummischlauch 2 Stunden lang abgebunden.

- a) Am 10. I. 05. 1. Serumentnahme.
Am 11. I. 05. Baktericider Reagensglasversuch.

Prüfung
nach der Pfeiffer'schen Methode.

Serum	
$\frac{1}{1000}$	lebt
$\frac{1}{100}$	lebt
Titer $> \frac{1}{1000}$	

- b) Am 11. I. 05. Amputation des rechten Ohres.
Am 17. I. 05. 2. Serumentnahme.
Am 18. I. 05. Prüfung mittels Plattenverfahren.

Prüfung nach der Pfeiffer'schen Methode.

Serum	
$\frac{1}{5000}$	†
$\frac{1}{1000}$	lebt
$\frac{1}{100}$	lebt
Titer $> \frac{1}{1000}$	

- c) Am 31. I. 05. 3. Serumentnahme.

Prüfung nach der Pfeiffer'schen Methode.

Serum	
$\frac{1}{1000}$	†
$\frac{1}{500}$	†
$\frac{1}{100}$	†

Resultat: Nach Amputation des rechten Ohres in 20 Tagen Abnahme des baktericiden Serumtiters von $> \frac{1}{1000}$ auf $< \frac{1}{100}$.

Kaninchen XXIIb.

17.I. 05. Injection von 2 Oesen abgetödteter Typhuscultur E. in's r. Ohr.

Keine Abbindung des Ohres.

1.II. Serumentnahme u. Amputation
des r. Ohres.

22.II. 2. Serumentnahme.

2.II. Serumprüfung nach Pfeiffer.

23.II. Prüfung nach Pfeiffer.

	Serum	
1.	$\frac{1}{2000}$	†
2.	$\frac{1}{1000}$	krank, († am 2. Tag)
3.	$\frac{1}{500}$	lebt
4.	$\frac{1}{100}$	"

	Serum	
1.	$\frac{1}{1000}$	†
2.	$\frac{1}{800}$	†
3.	$\frac{1}{500}$	†
4.	$\frac{1}{200}$	lebt

Resultat: Abnahme des Serumtiters von $> \frac{1}{500}$ — $< \frac{1}{1000}$ auf $\frac{1}{200}$ in 3 Wochen, während das Thier mit dem strangulirtem Ohr in der gleichen Zeit eine Abnahme von $> \frac{1}{1000}$ auf $< \frac{1}{100}$ aufzuweisen hat.

Kaninchen. Typhus XXIIIa.

18.I. Ohr 1 Stunde lang abgebunden. Hierauf Injection 2er Oesen
abgetödteter Typhuscultur E. R. Ohr.

Dann nach 2 weiteren Stunden Abnahme des Gummischlauches.

30.I. Serumentnahme.

31.I. Amputation beider Ohren.

Prüfung des Serums nach Pfeiffer.

Am 21.II. Serumentnahme.

Serum	
$\frac{1}{5000}$	†
$\frac{1}{1000}$	†
$\frac{1}{500}$	†
$\frac{1}{300}$	krank, † nach 36 Std.
$\frac{1}{100}$	lebt

Serum	
$\frac{1}{100}$	lebt
$\frac{1}{50}$	"

Resultat: Durch Strangulation so niedriger Serumtiter, dass der Nachweis einer weiteren Verminderung nach Amputation aus technischen Gründen (Resistenzerscheinung des normalen Serums) nicht möglich war.

Kaninchen. Typhus XXIIIb.

18.I. R. Ohr 1 Stunde lang abgebunden. Hierauf Injection 2er Oesen
abgetödteter Typhuscultur E. Dann nach 2 weiteren Stunden
Abnahme des Gummischlauches.

21.I. Spontaner Verlust des r. Ohres in Folge von Nekrose.

30.I. Serumentnahme. Prüfung des Serums nach Pfeiffer.

Serum	
$\frac{1}{5000}$	†
$\frac{1}{1000}$	†
$\frac{1}{100}$	†

Versuch unbrauchbar, da keine Resorption erfolgt ist.