

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.]
(Vorstand: Prof. R. Paltauf.)

Über Beeinflussung der Phagozytose durch normales Serum.

Von
Dr. St. Bächer.

Einleitung.

Metschnikoffs vielumstrittene Theorie der Immunität hat in den letzten Jahren eine ganz unerwartete Wiederbelebung erfahren und in allerletzter Zeit finden sich auch wieder in Deutschland Autoren, die merklich nach dieser Seite Stellung nehmen. Freilich handelt es sich heute nicht mehr um die ursprüngliche Form jener Theorie, welche alle Immunität ausschließlich auf die phagozytäre Tätigkeit der Leukozyten bezog, sondern um jene Modifikation derselben, die auf Grund der seitherigen Untersuchungen von Metschnikoffs Schule herausgebildet wurde.

Die Ergebnisse der verschiedensten Untersucher haben es zweifellos gemacht, daß bei der Abwehr einer großen Zahl von bakteriellen Infektionen die Phagozytose das entscheidende Moment bildet, daß ferner gewisse Immunsera trotz ihrer Schutzkraft keinerlei bakteriolytische Fähigkeit besitzen, während sich in vitro wie in vivo eine sehr lebhaft gesteigerte Phagozytose unter ihrem Einflusse erweisen ließ. Vor 12 Jahren haben dies Denys und Lecleff, dann Bordet für Streptococcus, Mennes für Pneumococcus, Markl für den Pestbazillus, Neufeld und Rimpau für Streptococcus und Pneumococcus, Wright und Douglas für Staphylococcus, Tuberkulose und Typhus, G. Ruediger für Streptococcus, Dean für Staphylococcus, Streptococcus, Typhus und Dysenterie gezeigt.

Denys und Lecleff zeigten 1894 durch Versuche in vitro mit Antistreptokokkenserum vom Kaninchen, daß dessen Wirksamkeit auf dem Vermögen die Phagozytose zu steigern beruhe. Nicht das Immunserum allein war imstande, virulente Streptokokken zu vernichten, sondern nur solches plus Leukozyten, wobei es gleichgültig war, ob letztere vom normalen oder vom immunisierten Tier stammten. Mennes hat das Gleiche vom Pneumokokkenimmunserum des Kaninchens nachgewiesen.

Bordet zeigte sodann gleichfalls im Antistreptokokkenserum, daß jene Fähigkeit auf einer hitzebeständigen Substanz beruhe, welche sich an die Bakterien binden lasse, und dadurch diese, ohne sie an und für sich zu schädigen, für die Phagozytose geeigneter, also sensibel mache (*substance sensibilatrice*). Dieselbe Wirkungsweise nahm er auch bei den bakteriolytischen Immunseris an, durch welche die Bakterien für die Wirkung des Alexins (Zytase) sensibel gemacht würden. Die phagozytosefördernde Substanz wäre identisch mit dem Ambozeptor.

Auch Metschnikoff und Levaditi setzten diese Identität voraus und erklärten das Fehlen der Bakteriolyse durch Mangel freier Zytase (Komplement). Nur wenn diese durch Phagolyse infolge Schädigung der Leukozyten frei werde, komme es zu extrazellulärer Bakterienauflösung. Andererseits aber schrieb Metschnikoff bekanntlich dem Serum auch eine stimulierende Wirkung auf die Phagozytose zu. Die natürliche Immunität führte er ausschließlich auf die primäre Fähigkeit der Leukozyten, die betreffenden Mikroben aufzunehmen, bzw. auf das in ihnen enthaltene Alexin zurück, da er Phagozytose, bzw. Bakterienvernichtung seitens gewaschener Leukozyten in vitro zeigen konnte. Dagegen hob Metschnikoff auch hervor, daß Phagozytose noch nicht schlechtweg mit Vernichtung der Bakterien identisch sei.

In ihren Untersuchungen über Immunität gegen Staphylokokken haben nun Wright und Douglas auf Grund einer besonderen Methode auch im normalen Serum einen Körper erweisen können, der gesteigerte Phagozytose in vitro verursache. Ihre Methode sollte eine exakte Feststellung der jeweiligen Intensität der Phagozytose möglich machen. Aus Blut, welches durch Zusatz von 1 Prozent Natriumcitrat vor Gerinnung geschützt war, gewannen sie durch Zentrifugieren und 3 mal wiederholtes Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung ein Sediment, dessen oberste Schicht reich an Leukozyten war. Diese setzten sie zu Gemengen, welche aus gleichen Teilen normalen durch Gerinnung gewonnenen Serum und einer Emulsion einer 24 stündigen Agarkultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* in physiologischer Lösung hergestellt und durch eine gewisse Zeit bei 37° gehalten worden waren. Nach weiteren 10 Minuten, machten

sie Deckglasausstriche und färbten diese nach Leishmans Modifikation der Romanowskyfärbung.

Sie zählten dann in einer bestimmten Zahl von Leukozyten die phagozytierten Kokken und sahen in dem Quotient aus dieser Summe durch die Zahl der Phagozyten den Index der Phagozytose.

Es ergab sich:

1. Bei Verwendung von inaktiviertem (auf 60 bis 65° durch 10 bis 15' erhitztem) Serum ist der Index viel geringer als bei nicht erhitztem, frischem Serum. Das Opsonin ist also nicht hitzebeständig. Erhitztes Serum verhält sich ganz wie physiologische Lösung, und sie nehmen an, daß die gleichwohl noch stattfindende Phagozytose auf einen Rest von Opsonin an den gewaschenen Leukozyten zu beziehen sei.

2. Die wirksame Substanz nannten sie Opsonin, weil sie die Bakterien für die Phagozytose vorbereite (opsono ich koche vor). Der Index war nämlich viel größer, wenn das Serum unerhitzt den Bakterien zugesetzt und das Gemisch erst nach einer 15' langen Einwirkung erhitzt wurde, als wenn vorher erhitztes Serum verwendet wurde. Die von Opsonin gesetzte Wirkung mußte also an den Bakterien eintreten, nicht etwa an den Leukozyten.

3. Ob neben der Opsoninwirkung eine Stimulinwirkung des Serums vorhanden sei, ließ sich weder erweisen noch ausschließen. a) Selbst bei auf 115° erhitzten Kokken zeigte sich noch der Opsonineinfluß in gleicher Stärke. b) Elemente einer Tuscheemulsion statt der Kokken verwendet ergaben keine brauchbaren Zählresultate. c) Wurde von einem Opsonin-serum-Kokkengemisch nach möglichst langer Einwirkung (1 stündiger) die eine Hälfte erhitzt, die andere nicht, so war in der letzteren der Index immer höher und zwar gleichgültig, wie lange Zeit hindurch vorher die Einwirkung stattgefunden hatte.

4. Die Opsonine verschwinden außer durch Erhitzung auch beim Stehen, trotz Luft- und Lichtabschluß allmählich, werden ferner durch Digestion mit Typhuskulturen und mit Duboiagift zerstört.

In einer Reihe weiterer Publikationen haben Wright und Douglas gemeinsam und Wright allein die Ergebnisse ihrer Untersuchungen bei Immunisierung mit Staphylococcus und Tuberkulin TR mitgeteilt. Sie fanden, daß auch bei dieser erworbenen Immunität Opsonine in Betracht kämen, und zwar, daß sich eine Kurve des Opsoningehaltes im Verlaufe der Immunisierung konstruieren lasse, welche sich ganz analog der der Agglutinine bei Typhusimmunisierung verhalte. Auch der Gehalt an Opsonin nehme unmittelbar nach der spezifischen Injektion merklich ab, um alsbald über das frühere Maß hinaus zuzunehmen.

Sie haben speziell auch die Verhältnisse bei der lokalisierten menschlichen Tuberkulose eingehend untersucht und stellten nach ihrer Methode fest:

1. Im normalen, menschlichen Serum findet sich ein hitzeempfindlicher, direkt auf die Tuberkelbazillen wirkender Körper, ein Opsonin.

2. Die Intensität der Phagozytose *in vitro* war nur abhängig von der Herkunft des Serums, also dem Opsoningehalt — beim Kranken geringer als beim Gesunden — nicht aber von der Herkunft der Leukozyten.

3. Im Gegensatz zu der verringerten Phagozytose beim Kranken ließ sich durch fortgesetzte Injektionen von Tuberkulin TR der Index steigern, was auf einer Vermehrung des Opsonins beruhe.

4. Blutserum war deutlich wirksamer als Serum aus einem tuberkulösen Abzeileiter, dagegen nicht stärker als Stauungslymphe. Serum der Mutter war nicht merklich wirksamer als das des Neugeborenen.

5. Die Opsoninkurve des Serums bei Behandlung mit Tuberkulin TR verhält sich ganz parallel der Agglutininkurve, er zeigt stets eine der Injektion folgende negative und eine dann einsetzende höhere positive Phase.

Bulloch und Atkin haben diese Ergebnisse von Wright und Douglas nachgeprüft und völlig bestätigt. Sie zeigten aber auch durch den unmittelbaren Bindungsversuch, daß das Opsonin an die Bakterien gebunden werde, wofür jene nur einen indirekten Beweis erbracht hatten, ferner daß es durch Hitze völlig zerstört werde. Bulloch hat dann auch seinerseits den Opsoninindex bei den verschiedenen Formen der Tuberkulose geprüft und fand ihn in Übereinstimmung mit Wright bei Lupus meist unter dem normalen, aber parallel den Besserungen, bei chronischen und ausgeheilten Fällen von Lungentuberkulose unter oder gleich dem normalen, bei fortschreitenden Krankheitsfällen stets tief unter dem normalen Wert.

Unabhängig von all diesen Untersuchungen, doch im Anschluß an die älteren Versuche von Denys und Lecleff über das Streptokokkenimmuneserum haben neuerdings Neufeld und Rimpau diese Antikörper geprüft.

Das Serum ihrer gegen Streptokokken immunisierten Kaninchen hatte keinerlei baktericide und bakteriolytische Wirkung, ließ aber gewaschene Leukozyten und zwar auch normaler Kaninchen lebhaft phagozytieren, während unter dem Einfluß des normalen Serums keine Phagozytose eintrat. Sie behaupten, daß diese Eigenschaft des Immuneserums durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 59° nicht vernichtet werde und auf dem Vorhandensein eines an die Kokken herantretenden Immunkörpers beruhe, da wohl Bakterien, welche durch 20' im Serum digeriert und hernach gewaschen wurden, lebhaft von den Zellen aufgenommen wurden, während Leukozyten, die ebenso im Serum digeriert und hernach ge-

waschen wurden, frische Bakterien aufzunehmen nicht imstande waren. Sie halten auf Grund letzterer Beobachtung analog wie Denys eine Stimulinwirkung auf die Zellen für ausgeschlossen. Nach ihren Angaben sollen sogar avirulente Stämme im normalen Serum nicht phagozytiert werden. Das in vitro beobachtete Verhalten stimmte völlig mit dem im Bauchhöhlenexsudat verfolgten überein. Ganz analoge Verhältnisse wie bei Streptokokken fanden sie auch im Pneumokokkenimmunserum des Kaninchens. Mit aller Entschiedenheit haben sich die beiden Autoren in einer späteren Publikation gegen Wrights Behauptung verwahrt, daß ihre Ergebnisse eine Bestätigung seiner Opsonine seien, und insbesondere hervorgehoben, daß sie den Immunkörper im Gegensatz zu Wrights Opsonin thermostabil fanden, daß Wright die Bindung des Opsonins garnicht bewiesen habe, und daß alle seine systematischen Versuche mit normalen Menschenseris angestellt worden seien, daher nicht ohne weiteres mit den Befunden an Immunseris gleichgestellt werden könnten. In einer weiteren Mitteilung haben dann Neufeld und Rimpau ihre Auffassung über den Mechanismus dieser erworbenen Immunität genauer festgestellt. 1. Sie gewinnen die Vorstellung, daß die Wirkung des Immunserums auf der Besetzung jener Rezeptoren der Bakterien beruhe, welche ihre Virulenz bedingen. Folgerichtig müsse man gegen virulente Stämme nur mit virulenten Kulturen immunisieren. 2. Der Immunkörper wirke ausschließlich auf die Bakterien, denn es war vollkommen gleichgültig, von welchem Tier die verwendeten Leukozyten stammten. Auch menschliche Leukozyten phagozytierten unter dem Einflusse des Immunserums. 3. Wie schon erwähnt, fanden sie, daß auf keine Weise aus den Leukozyten Stoffe zu gewinnen seien, welche mit dem Immunkörper die Kokken extrazellulär aufgelöst hätten. 4. Die stark phagozytierenden Leukozyten schienen eine Neigung zur Haufenbildung zu besitzen. 5. Vereinzelt kam auch ohne spezifisches Immunserum starke Phagozytose vor, was einigermaßen der früheren Behauptung dieser Autoren, daß im normalen Serum nicht einmal avirulente Stämme phagozytiert werden, widerspricht.

Endlich haben Hektoen und Ruediger von den Untersuchungen Wrights und Douglas ausgehend, nach deren Methode eine Anzahl verschiedener normaler Sera auf ihren Gehalt an Opsoninen für Streptokokken untersucht. Sie fanden im Gegensatz zu Neufeld und Rimpau eine wesentliche Differenz im Verhalten virulenter und avirulenter Stämme, indem die letzteren in allen untersuchten Blutarten phagozytiert wurden, während sich bei virulenten Streptokokken deutliche Phagozytose nur in je einer Menschen- und Pferdeblutprobe, sehr geringe im Ratten- oder Kaninchenblut fand. Ganz unwirksam erwies sich Meerschweinchenblut.

Die Wirkung der Sera beruhe auf einem Opsonin. Rein gewaschene Leukozyten phagozytierten die Bakterien nicht ohne weiteres, dagegen wenn diese vorher in Serum digeriert und dann gewaschen waren (sensibilisierte Bakterien) und zwar mit Vorliebe gegenüber Carminkörnern. Sie fanden mehr Opsonin im Serum als in Peritonealflüssigkeit, die Opsoninwirkung stärker bei höherer als bei niedriger Temperatur, das Opsonin selbst ganz in Übereinstimmung mit Wright-Douglas thermolabil, auch wurde die einmal eingetretene Sensibilisierung der Bakterien durch nachträgliche Erhitzung nicht mehr aufgehoben, weshalb sie, Ehrlichs Anschauungen übertragend, dem Opsonin eine thermolabile opsoniphore und eine thermostabile haptophore Gruppe zuschrieben. Endlich zeigten sie, daß Metallsalzlösungen durchwegs die Phagozytose hemmen.

Bei diesem Stande widersprechender Ansichten nahm ich auf Metschnikoffs Anregung meine Untersuchungen¹ auf. Erst nach Abschluß des experimentellen Teiles derselben sind die nun zu besprechenden drei Publikationen erschienen und mir bekannt geworden. Ich konnte sie daher wohl bei der Besprechung, nicht aber bei Anordnung meiner Versuche berücksichtigen. Nur Löhleins Resultate, der vor mir am Institut Pasteur zu Paris seine Arbeiten durchgeführt hatte, waren mir ungefähr bekannt. In seiner seither erschienenen Mitteilung bestätigt er Metschnikoffs fundamentale Hypothese, daß Leukozyten an sich, auch wenn sie von jedem Rest anhaftenden Serums isoliert waren, eine gewisse Phagozytose leisten können, obgleich die von Wright entdeckte, Phagozytose befördernde Wirkung auch des normalen Serums nicht zu leugnen war. Auch Löhlein, der seine Versuche mit Meerschweinchen und Kaninchen machte, sah ganz in Übereinstimmung mit den meisten älteren Beobachtern völlige Analogie im Verhalten der Phagozytose in vitro und in vivo und eine starke Differenz in der Intensität zugunsten avirulenter Stämme. Er war auch bemüht, den Einfluß der Phagozytose auf die Verminderung der Zahl einer gegebenen Mikrobenmenge festzustellen, doch ließen seine Ergebnisse keine Schlüsse ziehen. Nur bei Milzbrand zeigte das Plattenzählverfahren eine deutliche Verminderung an. Doch gilt auch hier der seinerzeit von Metschnikoff selbst erhobene Einwand, daß die Resultate des Plattenversuches wegen der Interferenz agglutinierender Eigenschaften des Serums, sowie jener Kolonienverschmelzung, welche sich als Folge der räumlichen Massierung der Bakterien gerade durch die Phagozytose ergibt, keineswegs beweisend sein könnten.

¹ Diese Untersuchungen wurden im Institut Pasteur zu Paris im Laboratorium von El. Metschnikoff begonnen und auch zum größten Teil durchgeführt. Äußerer Umstände halber mußte ich sie aber im Herbst 1905 unterbrechen. Sie wurden dann im staatlichen Seruminstitute zu Wien fortgesetzt und abgeschlossen.

Dagegen haben Gruber und Futaki in ihrer diesen Fragen gewidmeten Publikation gerade die durch den Plattenzählversuch angezeigte Verminderung von Keimen in Leukozytenserumgemischen gegenüber der geringeren Wirkung des bloßen Serums bei Typhus als Beweis für die Bedeutung der Phagozytose für die Abwehr von Infektionen hervorgehoben, obwohl sie selbst in vitro ein Auswachsen der schon phagozytierten Bakterien beobachteten. Immerhin kann auf Grund dieser Beobachtung allein die Wirksamkeit der Phagozytose in vivo um so weniger negiert werden, als es sich in vitro um sicher beschädigte Zellen handelt, die überdies unter den unnatürlichen Bedingungen des Versuches alsbald absterben, ehe sie die aufgenommenen Mikroben vernichten konnten.

Gruber und Futaki haben aber auch an einer großen Zahl verschiedener Bakterien die Bedeutung des normalen Serums für die Intensität der Phagozytose untersucht und mit Ausnahme des *Vibrio Cholerae* asiat. und des *Bact. cholerae gallinarum* für alle die entschieden fördernde Wirkung des aktiven Serums feststellen können. Während bei Aufschwemmung der Bakterien in frischen Meerschweinchenserum bei Zusatz von Meerschweinchenleukozyten sehr lebhaft Phagozytose eintrat, fehlte sie in Emulsionen in erhitztem, inaktiviertem Serum ganz, oder war viel schwächer, wobei die Differenz bei virulenten Stämmen am auffälligsten war.

Obwohl die Autoren die Identität des Opsonins mit dem Alexin dahingestellt sein lassen wollen, schließen sie doch aus der im Tiere sofort eintretenden starken Phagozytose auf frei vorhandene Abwehrkörper. Auch sonst schließen sie die Herkunft des Alexins aus den Leukozyten aus, da auch sie aus Phagozyten keinerlei bakterizide Stoffe erhielten. Sie nehmen an, einerseits hemmten die Aggressine virulenter Mikroben die Phagozytose durch Bindung des Opsonins (Alexins), anderseits bestehe die Bedeutung des letzteren nicht so sehr darin, unmittelbar Bakterien zu vernichten, als vielmehr darin, Phagozytose anzuregen.

In die mannigfachen Widersprüche der bisherigen Ergebnisse bemühte sich G. Dean in einer Reihe von Untersuchungen Klarheit zu bringen. Die wichtigste strittige Frage erschien Dean, die betreffs der Identität oder Verschiedenheit des im normalen Serum enthaltenen Opsonins und jenes im Immunserum nachgewiesenen, die Phagozytose befördernden Faktors, der, wie schon eingangs erwähnt, ohne Beweis auch dem Ambozeptor gleichgesetzt wird. Er verglich daher das Serum normaler und immuner Pferde auf Grund des Index der Phagozytose, wie ihn Wright-Douglas berechnen. Dean selbst zieht zwar die Verlässlichkeit, ja die Durchführbarkeit dieser Zählungen in Zweifel, dennoch gründet er seine Folgerungen auf die betreffenden Ziffern. Zunächst wurde die an-

scheinende Differenz der Hitzebeständigkeit untersucht. Während sich bei den nach Wright-Douglas verwendeten kleinen Mengen im erhitzten Normalserum keinerlei Opsoninwirkung mehr zeigte, soll diese bei Anwendung größerer Mengen, gleichwie im Immunserum, ebenso wie wenn die Erhitzung erst während der Einwirkung auf die Bakterien erfolgte, keineswegs ganz ausgeblieben sein. Die letztere Beobachtung hatten aber, wie zitiert, schon Wright und Douglas, ferner Hektoen und Ruediger gemacht, nur hatten sie dieselbe anders gedeutet. Auch andere normale Sera sollen nach Dean ähnliche Resultate geben und er meint also, daß das Opsonin durch Erhitzen nur teilweise zerstört werde, so daß zwar kleine Mengen unwirksam werden, von größeren aber wie im Immunserum stets genügend übrig bleibe, um eine sichtbare Wirkung hervorzubringen. Freilich scheint gerade das Opsonin des normalen Pferdeserums eine ganz ungewöhnliche Konstitution zu besitzen, denn es war selbst in 4 Jahre altem Serum noch wirksam und gab auch nach Erhitzung noch sehr hohe Indexzahlen.

Dean glaubte aber auch das allmähliche Schwinden des Opsonins bei Erhitzung sowohl im normalen als auch im Immunserum des Kaninchen in zwei parallelen Kurven darstellen zu können.

Nach einem rapiden Abfall in den ersten 2 Minuten laufen diese fast horizontal weiter, nur geschieht dies beim Immunserum in mittlerer Höhe, beim Normalserum nur etwas über dem Nullpunkt. Gerade aus diesem doch zweifelhaften Parallelismus glaubt Dean auf die Identität der fraglichen Körper schließen zu können. Auch unterläßt er es Kontrollversuche anzugeben — falls er solche gemacht hat — darüber, ob der Index bei physiologischer Kochsalzlösung nicht schon ebenso hoch gewesen wäre wie beim erhitzten Normalserum.

Wie schon Hektoen und Ruediger gezeigt hatten, fand auch Dean, daß die Bindung des Opsonins bei 37° schneller erfolge als bei 6 bis 8°. Er machte ferner die Beobachtung, daß Serum oder Kochsalzlösung, durch welche mit Opsonin beladene Kokken durch 1 Stunde digeriert und dann abzentrifugiert worden waren, einen deutlich höheren Phagozytoseindex erhalten hatte, und schloß daraus auf eine Diffusion des Opsonins. Doch macht er keine Angabe, daß er sich gegen das Zurückbleiben sensibilisierter Kokken im Medium gesichert hätte. Ferner versuchte Dean auch einen direkten Beweis für die Identität der fraglichen Stoffe mindestens im Pferdeserum zu führen. Er hat Kokken in normalem Pferdeserum digeriert, dann abzentrifugiert und wiederholt gewaschen. Immunserum hat er dann einerseits mit so vorbehandelten, also Opsonin aus dem Normalserum tragenden, anderseits mit frischen Kokken digeriert und zentrifugiert, und den dadurch verursachten Abfall des Index festgestellt. Derselbe war

bei den frischen Kokken stets größer. Ebenso aber, wenn Dean die Vorbehandlung umgekehrt im Immunserum durchführte, und dann die Absorption aus dem Normalserum prüfte. Er schließt also: mit Opsonin aus Normalserum beladene Kokken absorbieren nicht den „Ambozeptor“ des Immunserums und umgekehrt, ergo sind die beiden identisch. Im Gegensatz zu den bisher zitierten Autoren konnte Dean eine wesentliche Differenz zwischen einem virulenten und avirulenten Stamme bezüglich der Phagozytose nicht finden. Er hat ferner auch in den Immunseris gegen Streptococcus, Typhus und Dysenterie bac. erhöhten Phagozytoseindex festgestellt, wobei er bei Typhus eine Neigung der phagozytierenden Leukozyten zur Haufenbildung beobachtete, wie sie Neufeld und Rimpau bei Streptokokken sahen.

Nach all diesen Versuchen gelangt Dean zu dem Schlusse: das Opsonin der natürlichen, wie der „Fixateur“ (Ambozeptor) der erworbenen Immunität seien identisch, das Komplement zur Vorbereitung der Phagozytose nicht unumgänglich erforderlich, wenngleich in dessen Zerstörung die Ursache des Abfalls des Phagozytoseindex bei Erhitzung zu vermuten sei. Die bei natürlicher Immunität nur geringe Menge des Fixateurs reiche nicht aus, Bakteriolyse herbeizuführen, wohl aber Phagozytose (Opsonin). Bei Infektionen mit virulenten Mikroben (Streptokokken) finde nach anfänglicher Phagozytose nicht irgend eine Anpassung der Kokken zwecks Abstoßung der Leukozyten statt, sondern diese erfolge einfach nach Konsumption des Fixateurs.

Die hier vorliegenden eigenen Untersuchungen hatten ausschließlich die Erforschung der Verhältnisse im normalen Serum, soweit dasselbe für die Phagozytose von Belang ist, zum Zweck, es wird also weiterhin von der von mehreren der zitierten Autoren aufgeworfenen Frage der Identität des im normalen und im Immunserum wirksamen Faktors nicht mehr die Rede sein.

Dagegen war es zunächst das Ziel dieser Versuche, das Verhältnis des Phagozytose fördernden Prinzips (Opsonins) zu den anderen, schon bekannten Fähigkeiten des normalen Serums, nämlich bakterizid oder bakteriolysisch zu wirken, aufzuklären. Es gelang nicht, diese Absicht auch nur einigermaßen durchzuführen. Es war nicht möglich mit den zur Entscheidung dieser Fragen tauglichen Bakterien, nämlich solchen, auf welche Serum auch bakteriolysisch wirkt, präzise Resultate betreffs der Opsonineinwirkung zu erhalten. Auch scheint mir nach der seither bekannt gewordenen Beobachtung von Kraus und Příbram über Mitablenkung von Agglutinin durch Präzipitinogen, die Möglichkeit einer Entscheidung auf dem von mir intendierten Wege der einseitigen Absorption überhaupt zweifelhaft. Es wäre nicht ausgeschlossen, daß trotz

Verschiedenheit beider Substanzen mit der Bindung der Opsonine die des Ambozeptors Hand in Hand geht. Dagegen gelang es, den Einfluß verschiedener bei der Phagozytose *in vitro* neben der Opsoninwirkung oder für dieselbe in Betracht kommender Umstände aufzuklären, einen gewissen Einblick in den Mechanismus der Opsoninwirkung zu gewinnen, und die Frage zu entscheiden, ob den Leukozyten an sich die Fähigkeit, Bakterien aufzunehmen, zukomme, oder, ob sie dazu stets der vorbereitenden Wirkung des Serums bedürfen.

Ich bediente mich grundsätzlich der von Wright und Douglas angegebenen Methode, doch empfahlen sich mir nach den Erfahrungen Löhleins und einiger eigener Vorversuche einige Modifikationen.

Sie betreffen zunächst die quantitativen Verhältnisse. Ich habe im allgemeinen kleinere Serummengen oder Serumverdünnungen verwendet. Ferner hielt ich die von jenen Autoren stets sorgfältig eingehaltene Bruttemperatur, nachdem ihr allgemein fördernder Einfluß einmal festgestellt war, für eine überflüssige Komplikation. Ferner wurden meistens aus dem Bauchhöhlenexsudat des Meerschweinchens isolierte Leukozyten und nur in einigen speziellen Versuchen solche aus Blut gewonnene verwendet. Endlich färbte ich im weiteren Verlauf meine Ausstrichpräparate zur Feststellung der Phagozytoseintensität nicht nach Leishman-Romanowski, sondern einfach mit Azur II., da ein wesentlicher Vorteil bezüglich der Distinktheit der Bilder in ersterer Färbung nicht zu finden war.¹ Völlig ablehnen aber mußte ich, als praktisch in den meisten Fällen ganz undurchführbar, die Zählmethode der englischen Autoren. Auch Dean hat (s. oben) darauf hingewiesen, aber daraus keine Konsequenzen gezogen. Bei einigermaßen höheren Zahlen ist die Zählung der phagozytierten Bakterien, besonders falls es sich nicht um die deutlich begrenzten Kokken handelt, einfach unmöglich.

Ferner muß ich dagegen den Einwand erheben, daß die Zahl der in den Leukozyten etwa distinkt sichtbaren Mikroben als Maß der phagozytierten gelten kann. Innerhalb der Phagozyten tritt nämlich die völlige Auflösung, mindestens aber verminderte Färbbarkeit der Bakterien oft sehr schnell und intensiv ein. Da überdies die im aktiven Serum digerierten Bakterien vielleicht nicht nur schneller phagozytiert, sondern auch intrazellulär rascher aufgelöst werden mögen, als die im inaktivierten Serum vorbehandelten, so kann das Zahlenbild geradezu das

¹ Ich habe seither in der von Pappenheim angegebenen Pyronin-Methylgrünfärbung bei Verwendung eines stark mit reinem Pyronin versetzten Gemisches eine zwar unzuverlässige, aber sehr oft schöne Bilder ergebende Methode gefunden, die mindestens bei Kokken eine Zählung nach Wright-Douglas möglich erscheinen läßt.

Gegenteil der wirklichen Verhältnisse ergeben. Endlich zwang die jedenfalls unendlich zeitraubende Zählmethode die Autoren, sich mit dem Durchschnitt von ganz wenigen Leukozyten zu begnügen. Nun sind aber die Unterschiede zwischen den einzelnen infolge der durchgemachten Behandlung begreiflicherweise sehr groß und genügen 20 derselben keineswegs, ein verlässliches Urteil zu gewinnen. Ich habe daher, wohl bewußt, daß sich auch gegen diesen Modus viele Bedenken ergeben, ein viel einfacheres Zählverfahren angewendet, das es mir mindestens möglich machte, viel mehr von den Phagozyten jedesmal in Rechnung zu ziehen, in der Regel 50 bis 100. Auch schien mir dabei die in der ungleichen intrazellulären Bakterienauflösung gelegene Fehlerquelle der Wrigthschen Methode eher vermieden. Ich habe nämlich den Prozentsatz der phagozytierenden Leukozyten jeweils festgestellt, und es zeigte sich, daß dieser innerhalb gleicher Bedingungen hinreichend konstant blieb. Freilich zu Vergleichen verschiedener Versuche untereinander scheint mir dieser Vorgang gar nicht brauchbar, denn die absolute Höhe der Prozentzahlen wird stets in erster Linie von der so verschiedenen vitalen Beschaffenheit der Leukozyten abhängen, ein Bedenken, das aber ebenso sehr die Methode von Wright und Douglas trifft. Die Untersuchungen erstreckten sich auf *Bac. Anthracis*, *Vibrio Cholerae*, *Bact. Coli*, *Streptococcus* und *Staphylococcus*. Es wurden, wenn nicht anders vermerkt, 24^h Agarkulturen frisch oder erhitzt zu Bakterien-Emulsionen in einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung verarbeitet, geprüft wurden damit Sera von Meerschweinchen, Kaninchen, Pferd, Ratte, Katze und Hund, ferner die Peritonealflüssigkeit vom Meerschweinchen, sowie Stauungsödem vom Kaninchen. Die Leukozyten stammten vom Meerschweinchen, Kaninchen, Ratte und Katze. Bei der großen Mehrzahl der Versuche wurde aber nur *Staphylococcus pyog. aur.* mit Serum und Leukozyten vom Meerschweinchen verwendet. Diese Leukozyten wurden 4 bis 6 Stunden nach steriler Injektion von 8 bis 10 ^{cem} kalter, physiologischer Lösung in das Peritoneum mit dünnen Pipetten entnommen, in physiologischer Lösung sogleich mindestens 3 mal gewaschen, wobei nur schwach zentrifugiert wurde, und schließlich in physiologischer Lösung ungefähr zur ursprünglichen Dichte aufgeschwemmt. Blut wurde je nach Möglichkeit aus der Karotis, aus Venen oder dem Herzen entnommen, und durch Gerinnen in engen Röhren ein ganz klares Serum erhalten, das in der Regel sofort oder nur 1 Tag alt verwendet wurde. Inaktiviert wurde es durch Erhitzung auf dem Wasserbade auf 60 bis 61° durch $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde.

I. Versuche mit verschiedenen Bakterien.

Die Angaben der Autoren ließen mich von vornherein vermuten, daß auch in Hinsicht der Opsonineinwirkung die Bakterien sich nach ihrer Art verschieden verhalten möchten. Die Mehrzahl der Untersucher vor allem Metschnikoff, dann von den schon zitierten Markl, Bail, Neufeld und Rimpau, Hektoen und Ruediger, Gruber und Futacki, und auch Löhlein haben generell einen Unterschied im Verhalten virulenter und nichtvirulenter Stämme festgestellt, dahingehend, daß virulente Mikroben mit und ohne Serumeinfluß gar nicht, oder doch relativ wenig phagozytiert würden. Dean allerdings konnte eine solche Differenz nicht konstatieren. Mir stand in dieser Richtung zu vergleichenden Versuchen geeignetes Material einer Bakteriengattung nicht zu Gebote. Dagegen waren die geprüften Bakterien verschiedener Gattung auch nach dieser Richtung different. Es wurden nämlich ein hochvirulenter *Streptococcus pyogenes*, ein mäßig virulenter *Bac. Anthracis*, ein schwachvirulenter *Vibrio Cholerae asiaticus* und ein avirulentes *Bact. Coli* nebeneinander verwendet (Versuch VII u. VIII). Ein gesetzmäßiges Verhalten gerade nach dieser Abstufung hat sich dabei nicht ergeben, vielmehr scheinen die vorhandenen Unterschiede durch andere Eigentümlichkeiten der Mikrobenarten bedingt zu sein, die sich auch in den übrigen Versuchen dieser Gruppe geltend machten (Versuch I bis VIII). Bei Benützung des virulenten *Streptococcus* fand sich, vorausgesetzt, daß genügend Kokken verwendet wurden, stets auch ohne Serum eine geringe Phagozytose, auf welche das Serum einen deutlichen, wenngleich mäßigen Einfluß hatte (Versuch III, VIIa und VIIIa, negativ Versuch VIIb wegen zu geringer Kokkenmenge). Dagegen sind die Resultate gerade bei dem avirulenten Kolistamm, sowohl was Phagozytose überhaupt, als auch was Opsoninwirkung betrifft, höchst inkonstant. Es finden sich zwar, wie es der Ansicht der meisten Autoren entspricht, meist sehr hohe Werte (bis 100 Prozent Versuch IV), daneben aber und zwar selbst bei großen Bakterienmengen (Versuch II) und auch gerade unter dem Einfluß des aktiven Serums (Versuch VIIc) sehr geringe Werte, oder gar keine „zählbare“ Phagozytose. Die Ursache hierfür sowohl, wie für die gleichfalls zweideutigen Befunde bei Cholera (Versuch VIIb und VIIIb) kann ich nur in der bakteriolytischen Fähigkeit des aktiven Serums vermuten, um so mehr als die mikroskopischen Bilder dafür sprechen. Im erhitzten Serum oder der physiologischen Lösung, wo dieser Faktor fehlte, blieb eine viel größere Mikrobenmenge zur Phagozytose übrig. Dadurch, und da die im aktiven Serum phagozytierten Bakterien vielleicht rascher verschwanden, erklären sich die sonst unverständlichen Ergebnisse, daß ohne aktives

Serum gelegentlich höhere Prozentzahlen vorkommen als mit diesem (Versuch VII b und c, VIII c). Für Cholera scheint mir gleichwohl im Gegensatz zur zitierten Angabe Grubers und Futakis der phagozytosefördernde Einfluß des Serums sehr wahrscheinlich (Versuch VIII b).

Andere Schwierigkeiten bot die exakte Feststellung der Intensität bei der Milzbrandphagozytose. Die diesem Bakterium eigene Ketten- und Knäuelbildung bewirkte eine so ungleiche Verteilung des Materials, daß selbst bei Berücksichtigung ungewöhnlich zahlreicher Leukozyten ein verläßlicher Index kaum zu finden war (Versuch I, V und VI a). Nur die Verwendung sehr großer Bakterienmengen scheint diesem Übelstand halbwegs abzuhelpen (Versuch VIII d. später XXIV). Die fördernde Kraft des aktiven Serums war aber fraglos zu konstatieren.

Bei vielen dieser Versuche ist gleichzeitig die Hitzebeständigkeit der Serumeigenschaft geprüft worden. Es ließ sich dann in allen Fällen, wo überhaupt eine phagozytosefördernde Fähigkeit des Serums gegenüber den Kontrollen in physiologischer Lösung nachweisbar war, der dies bewirkende Faktor (Opsonin) sicher durch Erhitzung auf 60° durch 15 Min. unwirksam machen. Einigemal wurden außerdem Sera verschiedenen Alters (Versuch I bis IV), ferner die bei der Leukozytengewinnung isolierte Peritonealflüssigkeit (Versuch I und IV) auf ihre phagozytoseerregende Fähigkeit untersucht, doch ließ sich daraus einstweilen kein Urteil gewinnen.

Obgleich alle bisher gewonnenen Resultate an Eindeutigkeit, wie an Konstanz viel zu wünschen übrig ließen, wurden dennoch zwei der bisher gebrauchten Bakterien, nämlich *Streptococcus* und *Koli* noch in einer weiteren Gruppe von Versuchen (Versuch IX bis XI) verwendet, deren Absicht über die Feststellung eines phagozytosefördernden Einflusses des Serums im allgemeinen hinausging. Sie sollten ferner über die so wichtige Hitzebeständigkeit dieser Eigenschaft, ihr Vorhandensein in anderen Körperflüssigkeiten (Peritonealflüssigkeit und Stauungsödem), endlich auch über die Bedeutung der Herkunft des Serums, indem solches vom Meerschweinchen und Kaninchen verglichen wurde, Auskunft geben. Auch die Ergebnisse dieser Versuche sind durchaus nicht befriedigend, doch stimmen sie im ganzen mit dem, was nach den vorhergehenden zu erwarten war, überein. *Streptococcus* ergab wieder eine bei entsprechender Kokkenmenge stets auch ohne Serum vorhandene Phagozytose, welche im aktiven Meerschweinchen Serum und in aktiver Peritonealflüssigkeit desselben deutlich, im aktiven Kaninchenserum oder im Stauungsödem dieses Tieres vielleicht infolge von Leukozytenschädigung, nicht sehr merklich gesteigert wurde. Erhitzt erzeugten alle diese Medien keine stärkere Phagozytose des *Streptococcus*, als sie in der Kontrolle in physiologischer Lösung auftrat, doch war sie auch niemals wesentlich geringer. Jedenfalls gewinnen also diese Medien durch Er-

hitzen nicht die Fähigkeit, die Phagozytose zu hemmen, wie auch Wright und Douglas feststellten. Dem gegenüber sind die Resultate bei Koli auch hier so inkonstant und vieldeutig, wie in den früheren Versuchen. Sicher ist nur die Tatsache, daß gegenüber dem Bact. Coli, vielleicht weil es avirulent war, den Leukozyten an sich, ohne Intervention des Serums, also in der physiologischen Lösung eine sehr beträchtliche Fähigkeit zu phagozytieren zukam (Versuch IX und XI). Ob dieselbe durch die geprüften Medien im aktiven Zustande gesteigert wurde, war nicht zu entscheiden. Die zahlenmäßige Betrachtung spricht dagegen. Doch kann ich auch hier die Vermutung nicht unterdrücken, daß diese Zahlen infolge anderer störender Eigenschaften der aktiven Medien, nämlich ihrer bakteriolytischen Fähigkeit, die sich direkt in einer deutlichen Verringerung und Deformierung der freien Bakterien kundgab, ein falsches Bild ergeben. Erhitzt zeigten alle diese Medien sicher keine Fähigkeit, die Phagozytose des Kolibakterium gegenüber der Kontrolle zu steigern. Falls also in den aktiven Medien ein Faktor in dieser Richtung wirksam gewesen wäre, dessen Einfluß jedoch bei dieser Methode nicht nachweisbar war, so ist auch er wie bei anderen Bakterien thermolabil. Zwischen den einzelnen untersuchten tierischen Flüssigkeiten war eine wesentliche Differenz, abgesehen von der eventuellen Schädigung der Leukozyten durch artfremde Medien, nicht ersichtlich. Immerhin scheint auch mir, wie Hektoen und Ruediger fanden, die Exsudatflüssigkeit etwas schwächer wirksam gewesen zu sein als das gleiche Serum. Jedenfalls aber haben die Resultate mit Streptococcus erwiesen, daß die phagozytosefördernde Fähigkeit (Opsonin) nicht dem Serum allein zukomme, sondern auch den Exsudaten und Transsudaten.

II. Versuche mit Staphylokokken.

Wenn überhaupt für die bisher untersuchten Bakterien Opsonine, wie sie Wright und Douglas für Staphylokokken gefunden hatten, im Serum anzunehmen waren, mußte aus den bisherigen Befunden gefolgert werden, daß ihre Wirksamkeit durch gewisse Eigenschaften der betreffenden Mikroben bald mehr, bald weniger paralysiert werde. Um diese Faktoren kennen zu lernen und meine bei der Deutung der bisherigen Resultate gewonnenen Anschauungen zu überprüfen, habe ich zu den weiteren Versuchen *Staphylococcus pyog. aur.* verwendet, das einzige Material, bei dem die Opsoninwirkung sicher zu erweisen war. Zwar hatten vorher Wright und Douglas dieselbe nur im Menschenblut untersucht, aber bei allen meinen folgenden Versuchen ließ sie sich ganz in Übereinstimmung mit den seither veröffentlichten Ergebnissen Gruber

und Futakis konstant im normalen Meerschweinchenserum erweisen. Bei einigen Versuchen habe ich noch vergleichsweise den *Streptococcus pyog.* herangezogen, sonst aber sind alle diesbezüglichen, wie auch die weiteren der eigentlichen Natur der Opsoninwirkung gewidmeten Untersuchungen mit Ausnahme des speziellen Versuches XXIV mit *Staphylokokken* ausgeführt worden. Dabei waren allerdings die Resultate nicht nur konstant, sondern auch viel prägnanter, die zugrunde liegenden mikroskopischen Zählungen verlässlicher. Doch hatte ich damit auf eine Entscheidung der prinzipiellen Frage, betreffs der Identität der Opsonine mit den normalen Ambozeptoren, verzichtet, da diese nur bei Bakterien, für welche das Serum auch bakteriolytisch wirkt, wenn überhaupt zu lösen wäre.

Die Resultate bei *Bact. Coli* hatten mich zuerst zur Annahme gedrängt, daß der jeweils für die Phagozytose verfügbaren Bakterienmenge die entscheidende Bedeutung für die Intensität derselben zukomme. Es wurde also versucht, diese Ansicht direkt zu erweisen, indem mit demselben Serum verschiedene, abgestufte Bakterienmengen der gleichen Quantität Leukozyten dargeboten wurden, wobei, wie der direkte Plattenzählversuch (Versuch XV) ergab, dem Meerschweinchenserum selbst jegliche keimvermindernde Fähigkeit gegenüber dem *Staphylococcus*, gleichwie gegenüber *Streptococcus* und Milzbrand fehlte. Das Ergebnis war vollkommen eindeutig (Versuch XII u. XIV) und läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß bei Verwendung genügend großer Bakterienmengen ohne Zusatz von Opsonin, also im inaktivierten Serum oder der physiologischen NaCl-Lösung, die absolute Intensität der Phagozytose viel größer war als bei Verwendung geringerer Quantitäten im aktiven, opsoninhalten Serum. Damit aber erhält die von mir oben entwickelte Anschauung über die Ursache der eigentümlichen Befunde bei Koli und Cholera eine wesentliche Stütze. Da bei ihnen dem aktiven Serum bakteriolytische, also keimvermindernde Fähigkeit zukam, ließ sich mit der gegebenen Methode eine Opsoninwirkung nicht nachweisen. Dagegen war dies bei Milzbrand und *Streptococcus* möglich, wo dem Serum jene Eigenschaft fehlte.

Andererseits kam ich nach den Resultaten der ersten Versuche (Versuch I—IV), wo *ceteris paribus* Sera derselben Art, aber verschiedenen Alters zur Vergleichung standen, zur Ansicht, daß der Opsoningehalt des Serums entweder sehr labil, oder sehr inkonstant sei. Letzteres mag jedenfalls zutreffen, doch auch ersteres entspricht einer Beobachtung von Wright und Douglas (s. oben). Bei der übereinstimmenden Inferiorität der älteren Sera war es wahrscheinlich, daß vorhandenes Opsonin, resp. die Fähigkeit des Serums, die Phagozytose zu fördern, selbst bei Aufbewahrung im Eisschrank, nach sehr kurzer Frist geschwunden ist. Freilich

steht dem eine exakte Behauptung Deans gegenüber, der in 4 Jahre altem Pferdeserum noch höchst wirksame Opsonine fand, doch scheint sich dieses Serum auch in anderer Hinsicht abweichend zu verhalten. Daher habe ich in einem besonderen Versuche (Versuch XIII) eine Reihe verschieden alter Sera sowohl vom Meerschweinchen als vom Kaninchen auf Staphylo- und Streptokokken einwirken lassen und mit Meerschweinchenleukozyten geprüft. Trotzdem die ältesten Sera beider Art nicht älter als 12 Tage waren, war in beiden schon nach dieser Zeit eine merkliche Abnahme ihrer Wirksamkeit zu beobachten. Dabei sind die Resultate auch nach anderer Richtung interessant. Während nämlich für Staphylokokken die Kaninchenserum die Phagozytose durch Meerschweinchenleukozyten fast ebenso fördern wie die gleich alten Meerschweinchen-sera, zeigten sich für Streptokokken wohl die letzteren wirksam, von den ersteren aber nur das ganz frische in schwachem Maße. Wahrscheinlich enthält das Kaninchenserum überhaupt nur schwach wirksames Opsonin gegen Streptokokken. Dazu kommt aber noch, daß das fremdartige Serum für die Leukozyten einen so schweren Eingriff in ihre Vitalität bedeuten mag, daß die dadurch bedingte Verringerung der Phagozytose nicht mehr ausgeglichen werden konnte.

Endlich mußte in diesem Zusammenhange die Frage einer genaueren Untersuchung unterzogen werden, welcher Grad von Erhitzung die phagozytosefördernde Fähigkeit des Serums mit Sicherheit zerstöre. Hatte sich doch bei dem eben zitierten Versuche gezeigt (Versuch XIIIa), daß das angewendete Ausmaß die Wirksamkeit des Kaninchenserums gegenüber Staphylokokken, die zweifellos sehr groß war, nicht aufgehoben hatte, so daß im erhitzten Kaninchenserum, in dem vielleicht auch die Schädigung der artfremden Leukozyten geringer war, noch sehr starke Phagozytose auftrat. Um mindestens für das Meerschweinchen-serum jenen Punkt zu fixieren, wurden von demselben Serum 6 nicht allzu differente Grade der Erhitzung unter Berücksichtigung der Dauer derselben hergestellt (Versuch XVI). Die vollkommen eindeutigen, weder nach der verwendeten Bakterienmenge, noch nach der Beobachtungsdauer wesentlich schwankenden Resultate bestätigen zunächst die von Wright-Douglas angegebene Thermolabilität des Opsonins im normalen Serum, rechtfertigen aber die von mir weiterhin stets gebrauchte Vorsicht, zu inaktivierende Sera bei 61° mindestens durch $\frac{1}{2}$ Stunde zu erhitzen. Es zeigte sich nämlich ganz unzweifelhaft, daß bei kurzdauernder Erhitzung (durch 10 Min.) auf 56° und sogar auf 61° die phagozytosefördernde Fähigkeit des Serums keineswegs völlig aufgehoben, wenn auch merklich herabgesetzt war. Im Gegensatz zu den oben zitierten Angaben Deans aber ergibt sich mindestens für Meerschweinchen-serum, daß die Zerstörung des Opsonins keineswegs

in den allerersten Minuten eine rapide, dann unmerkliche, sondern vielmehr eine allmähliche, bei genügender Erhitzung und längerer Dauer aber völlige ist. Der Opsoningehalt bleibt nicht etwa nach anfänglichem Abfall auf einem, wenn auch niedrigem Grade konstant, er muß vielmehr als Null betrachtet werden, da die Phagozytose in Röhrchen, welche entsprechend erhitztes Serum enthalten, nicht stärker ist als in Kontrollen mit physiologischer Salzlösung. Das ist der Fall nach halbstündiger Erhitzung auf 56° oder nach 10 Min. während zwischen 61 und 65° C.

Ein weiterer Versuch (Versuch XVII) galt insbesondere der Bestätigung des Befundes von Wright und Douglas, daß die Opsonineinwirkung in ganz gleicher Weise auf erhitzte Bakterien stattfindet, wie auf nicht erhitzte; diese Frage erschien ihnen für die Erklärung des Opsoninphänomens von größter Bedeutung. Auch für meine späteren Versuche war es von entscheidender Wichtigkeit, mit einem sicher während des Versuches konstant bleibenden Material arbeiten zu können, wie es die erhitzten Bakterien sind. Die zur Sicherheit in zwei Reihen mit verschiedener Bakterienmenge durchgeführte Untersuchung verifiziert völlig die Angabe jener Forscher, indem nicht nur das relative Verhältnis zwischen der Intensität der Phagozytose im aktiven und erhitzten Serum und in der physiologischen Salzlösung bei Verwendung unerhitzter, oder schwach erhitzter (nämlich wie das inaktivierte Serum auf 61° durch 1/2 Stunde) oder stark erhitzter (nämlich auf 120° durch 20 Minuten, also sicher sterilisierter) Bakterien bei Verwendung gleicher Mengen dasselbe war, sondern sogar die absolute Stärke der Phagozytose von der Beschaffenheit der Bakterien in dieser Hinsicht anscheinend unabhängig blieb. Überdies werden diese Befunde durch die gelegentlich späterer Versuche (Versuch XVIII und XXI) neuerdings angestellten Vergleiche zwischen unerhitztem und erhitztem Bakterienmaterial vollkommen bestätigt.

Die bisherige Untersuchung befaßte sich ausschließlich mit Verhältnissen, die sich auf das Serum oder die Bakterien bezogen, es war aber notwendig, auch den dritten an dem Opsoninphänomen beteiligten Faktor, die Leukozyten einer Prüfung zu unterziehen. Ich will hier anmerken, daß ich zwar in den weitaus überwiegenden Fällen, aber doch nicht ausnahmslos Bakterienphagozytose durch die polynukleären Leukozyten sah. Es zeigten sich nämlich gelegentlich, besonders in Versuchen mit *Bact. Coli* auch ganz deutliche Bilder, wo Bakterien innerhalb großer mononukleärer Zellen lagen, doch war es mir nicht möglich, diese Verhältnisse näher zu untersuchen. Die wichtigste hier auftauchende Frage war: Geschieht die Phagozytoseförderung durch ein aktives Serum nur für die Leukozyten der eigenen Gattung, oder auch für artfremde? Abgesehen von der so eminenten Bedeutung dieser Entscheidung für die praktische

Zulässigkeit einer Serumtherapie mit artfremdem Serum mußte sie auch für die ganze Auffassung des beobachteten Vorganges der Phagozytoseförderung ausschlaggebend sein. War in Anwesenheit eines aktiven Serums nicht nur die Phagozytose durch die eigenen, sondern wie die betreffenden Versuche (Versuch XIX u. XX) zeigen, auch durch fremde Leukozyten verstärkt, so konnte das nur durch eine Einwirkung auf die Bakterien (Opsoninwirkung) eine ausreichende Erklärung finden, da eine Stimulierung artfremder Leukozyten wohl eine unmögliche Annahme wäre. Umgekehrt kann aber auch aus der Erscheinung, daß die Phagozytoseförderung aller Sera immer für die homologen Leukozyten, und ebenso die Phagozytoseintensität der Leukozyten stets unter dem Einfluß der homologen Sera am stärksten war, wie ich im Gegensatz zu Neufeld und Rimpau (s. oben) konstatiere, keineswegs auf eine Stimulinwirkung der Sera gegenüber den arteigenen Leukozyten geschlossen werden. Die geringere Wirksamkeit heterologer Sera erklärt sich vielmehr ungezwungen aus der geschädigten Vitalität der Leukozyten im artfremden Medium, die durch die vorhandene Opsoninwirkung nur teilweise ausgeglichen wird. Die Richtigkeit dieser Erklärung beweist der Umstand, daß Differenzen in gleichem Sinne auch im inaktiven Serum eintraten, in welchen erwiesenermaßen Stimulinwirkung fehlt, während die angenommene Schädigung fremder Phagozyten vielleicht schwächer, aber nicht ausgeschlossen ist, ferner aber auch die direkte Beobachtung schwerster Veränderungen der Leukozyten im heterologen Serum in bezug auf Gestalt und Färbbarkeit im mikroskopischen Präparat. Im übrigen erwiesen sich alle hier (Versuch XIX und XX) untersuchten Sera, nämlich vom Meerschweinchen (gewöhnliches Serum und Zitratplasma, nach Wright und Douglas gewonnen durch Verdünnung des Blutes mit 2 Teilen 1proz. Natriumzitratlösung und Zentrifugieren) dann von Kaninchen, Ratte, Katze und Hund (sämtlich als Zitratplasma erhalten) als sehr wirksam in der Phagozytoseförderung gegenüber Staphylokokken und zwar auch für jene homologen Leukozyten (von Kaninchen, Ratte und Katze), die infolge ihrer Gewinnung aus dem Zitratblut durch das Zentrifugieren und Waschen sichtlich schwerer geschädigt waren als die aus dem Peritonealexsudat wie gewöhnlich stammenden Meerschweinchenleukozyten. Dabei zeigte sich in Übereinstimmung mit Wrights und Douglas' Befund zwischen dem gewöhnlichen Serum und dem Zitratplasma bei Verwendung gleicher Mengen kein Unterschied.

Nur in einem einzigen Falle war vielleicht die Schädigung der Leukozyten so schwer, daß es überhaupt zu keiner Phagozytose kam (Versuch XX Leukozyten der Katze in Rattenserum); freilich hat sich auch in einem späteren Versuche (Versuch XXV), wo in anderer Absicht

Pferdeserum und sonst gut phagozytierende Meerschweinchenleukozyten verwendet wurden, der Fall ergeben, daß die Phagozytose im aktiven Serum, welches nach den Versuchen Deans gerade die wirksamsten und resistantesten Opsonine enthält, geringer war als in Kontrollen mit Kochsalzlösung. Doch muß ich es unentschieden lassen, ob es sich dabei um eine allerdings nur funktionell erkennbare schwere Schädigung der Phagozyten handelte, oder ob der Opsoningehalt gerade dieses Pferdeserums abnorm gering war, oder ob hier ein Fall vorliegt, wo wirksame Opsonine die Bakterien für artfremde Leukozyten gar nicht opsonisieren. Jedenfalls ergibt sich aus solchen Resultaten die große Bedeutung der richtigen Wahl der Tiergattung, welche zur Gewinnung eines brauchbaren Immunserrums verwendet werden soll. Es wird danach eine selbstverständliche Forderung sein, daß Heilsera, mindestens sobald sie auf dem Wege gesteigerter Phagozytose wirken sollen, die menschlichen Leukozyten vor allem nicht schädigen, was sich einfach in vitro wird feststellen lassen. In diesem Sinne könnte dem homologen Serum eine Stimulinwirkung zugeschrieben werden, doch handelt es sich dabei nicht um eine effektive Förderung, sondern um das Fehlen der durch alle anderen Medien verursachten Schädigung.

Damit bin ich schon in die Erörterung der Hauptfrage dieser Untersuchung eingegangen. Worin besteht die Phagozytoseförderung durch das aktive Serum? Die eben besprochenen Versuche mit artfremden Leukozyten hatten schon den Schluß zugelassen, daß die fragliche Eigenschaft der Sera in ihrer Fähigkeit bestehe, Bakterien für die Phagozytose geeigneter zu machen, oder wie es Wright und Douglas nannten, zu „opsonisieren“. In einer ganzen Reihe von Versuchen habe ich getrachtet, dies direkt zu erweisen, wie zwar nicht Wright und Douglas, wohl aber Bulloch und Atkin schon getan hatten. Dabei bot sich Gelegenheit über die Fragen der Phagozytose ohne Serum, Stimuline und Phagozytosehemmung, Diffusion und Absorption der Opsonine, endlich Spezifität der Opsonine mehr oder weniger präzise Aufklärung zu erhalten.

Wright und Douglas hatten die Existenz und Wirkungsweise der Opsonine eigentlich allein aus der Beobachtung erschlossen, daß mit aktivem Serum eine Weile digerierte und dann erst erhitzte Staphylokokken lebhafter phagozytiert wurden als mit erhitztem Serum digerierte, oder mit aktivem Serum sofort erhitzte, oder einfach erhitzte Kokken in physiologischer Lösung.

Sie folgerten daraus, daß ein an sich thermolabiler Faktor des normalen Serums an den Kokken solche Veränderungen setze, daß sie durch nachträgliche Erhitzung nicht mehr beseitigt werden. Hektoen und Ruediger hatten ferner daraus, indem sie Ehrlichs Vorstellungen an-

wendeten, gefolgert, daß der wirksame Körper komplexer Natur sei, und zwar eine thermostabile haptophore und eine thermolabile opsoniphore Gruppe besitze. Die Berechtigung gerade dieser Zuteilung der Eigenschaften ist mir aus den Versuchen der Autoren nicht ersichtlich worden, mit demselben Recht hätten sie dieselbe umgekehrt treffen können.

Und selbst auf Grund meiner erweiterten Versuche bin ich nicht in der Lage, irgend ein derartiges Schema aufzustellen, wenngleich die Auffassung der beiden Forscher manche der folgenden Beobachtungen recht gut erklärt. Ich habe zunächst das hier zugrunde liegende Phänomen selbst nachgeprüft und nach einem negativen Ergebnis eines auch sonst zweifelhaften Versuches (Versuch XVIII) ein ganz eindeutiges, verlässliches, positives Resultat erhalten (Versuch XXI). Indes zeigt die genauere Betrachtung gerade dieses Versuches, daß so behandelte Kokken lange nicht so intensiv phagozytiert werden, als bloß im aktiven Serum befindliche, oder darin eine Weile digerierte, oder digerierte und dann gewaschene Kokken. Schließt man, wie schon Wright und Douglas getan und ein eigener späterer Versuch wieder bestätigt, das Entstehen von Phagozytose hemmenden Substanzen durch das Erhitzen aus, so bleibt nur die eine Erklärung, daß doch ein Teil der nach Digestion eingetretenen Opsoninwirkung durch Erhitzen zerstört wird. In welcher Weise dies geschieht, darauf deutet die weitere Beobachtung, daß solche nur „schwach sensibilisierte“ Kokken durch Zusatz von neuem opsoninhaltigem Serum keineswegs deutlich stärker sensibilisiert werden können. Das Opsonin findet also an ihnen keine freien Angriffspunkte. Andererseits werden die freien Opsonine eines Serums durch Erhitzung völlig zerstört. Um dies endgültig zu zeigen, habe ich verschiedene abgestufte Mengen inaktivierten Serums, teils dem aktiven Serum, teils der physiologischen Lösung der Kontrollen beigegeben (Versuch XXVI), oder die Bakterien erst längere Zeit im inaktivierten Serum digeriert, dann gewaschen und solche Bakterien mit frischen verglichen (Versuch XXI u. XXII). Immer zeigte sich, daß erhitztes Serum ebensowenig die Opsoninwirkung des aktiven Serums, wie an sich die Phagozytose hemmt. Durch die Erhitzung sind also die Opsonine nicht etwa nur in unwirksame Formen umgewandelt worden, sondern es ist von ihnen überhaupt nichts mehr nachzuweisen. Damit stimmt auch Bulloch und Atkins Befund, die ein Antiopsonin durch Behandlung mit erhitztem Serum nicht erhalten konnten. Andererseits hatten gerade diese Autoren auch schon einen direkten Beweis für die Existenz und Wirkungsweise der Opsonine erbracht, indem sie zuerst in normalem Serum digerierte, dann abzentrifugierte Kokken wiederholt mit physiologischer Lösung durchwuschen, bis in dem Medium sicher keine freien Opsonine vorhanden sein konnten, und so sensibilisierte Kokken mit

unbehandelten verglichen. In einer ganzen Reihe von Versuchen (Versuch XXI, XXII, XXIVb, XXV u. XXVIII) habe ich ihren Befund, daß so behandelte Kokken viel lebhafter phagozytiert werden als frische, also mit Opsonin beladen bleiben, bestätigen können.

Wenn ich dabei durchwegs bald mehr, bald weniger deutlich eine geringere Phagozytose solcher sensibilisierter Bakterien gegenüber den im aktiven Serum einfach belassenen fand (Versuch XXII), so war dies am ehesten durch den beim Zentrifugieren und Waschen unvermeidlichen Bakterienverlust, der sich qualitativ recht gut beobachten ließ, nicht aber durch Diffusion der Opsonine beim Waschen, wie Dean annehmen möchte, zu erklären. Für eine solche habe ich auch sonst keinerlei Anhaltspunkte. Einerseits ergaben selbst dreimal mit großen Quantitäten Salzlösung lange Zeit durchgewaschene Kokken nur wenig schwächere Phagozytose, wie es eben der etwas verringerten Menge entsprach, als gar nicht gewaschene (Versuch XXIVb u. XXVIII). Andererseits kann auch aus der Tatsache, daß bei neuem Zusatz von aktivem Serum in zwei Versuchen (Versuch XXV u. XXVIII) noch eine deutliche Steigerung der Phagozytose solcher sensibilisierter Kokken zu erzielen war, ebensowenig auf einen vorhergegangenen teilweisen Verlust der Opsonine, wie auf das Vorhandensein von Stimulinen im aktiven Serum geschlossen werden. Es genügt auch hier auf die schon wiederholt erwähnte, sicher erwiesene Eigenschaft des aktiven Serums hinzuweisen, das unschädlichste Medium für die homologen Leukozyten selbst im Vergleich zur physiologischen Lösung zu sein. Daß eine Ergänzung vorher diffundierter Opsonine dabei kaum anzunehmen war, scheint mir auch deshalb wahrscheinlich, weil mir eigene Versuche (Versuche XXIII u. XXVI) mit überraschender Präzision das Ergebnis brachten, daß die Stärke der Phagozytose von der Quantität des verwendeten aktiven Serums nicht in dem Maße abhängig war. Von einem überhaupt opsoninhaltigen Serum genügten schon minimale Mengen (bis $\frac{1}{100}$ gtt auf 45 gtt Medium), um gleich starke Phagozytose zu erregen, wie viel größere.

Dagegen habe ich es wiederholt mit Erfolg versucht, durch allerdings sehr große Quantitäten von Staphylokokken, welche durch das Serum durch lange Zeit durchzentrifugiert wurden, diesem die Fähigkeit, die Phagozytose zu fördern, zu nehmen, also die Opsonine zu entziehen (Versuch XXII, XXV u. XXVIII). Wenn es in einem Falle (Versuch XXIVa) nicht gelang, so kann einerseits bei der Natur dieser Frage ein negatives Ergebnis nichts beweisen, andererseits habe ich bei diesem Versuche zu der Annahme Grund, daß in dem „Absorptionsserum“ von seiner Präparierung her so viele sensibilisierte Kokken zurückgeblieben waren, daß sie und nicht die später geprüften Kokken das Bild einer starken Phagozytose er-

zeugten.¹ Schon der Verlauf dieser Versuche macht Deans seither bekannt gewordene Behauptung, daß er sogar quantitative Unterschiede in der Absorption seitens sensibilisierter Kokken (im normalen und im Immuns serum) einerseits, seitens frischer andererseits feststellen konnte, recht fraglich. Mir scheint es nicht ausgeschlossen, daß die Ursache der geringeren Absorption durch vorbehandelte Kokken in ihrer durch Verluste beim Waschen wesentlich verringerten Menge lag. Noch mehr widerspricht jener Auffassung Deans der bei denselben Gelegenheiten mit Erfolg unternommene Versuch, dem Serum seine Opsonine für Staphylokokken durch anderes, fein verteiltes Material organischer Natur, Aufschwemmungen von Milzbrandbaz. (Versuch XXVIII), oder Karmin (Versuch XXIVa), oder umgekehrt durch Staphylokokkenaufschwemmung die für Milzbrandbaz. (Versuch XXIVa) zu entziehen. Es soll aber mit dieser einstweilen noch vereinzelter Beobachtung keineswegs schon die viel bedeutsamere Frage der Spezifität der Opsonine des normalen Serums, bzw. ihrer Identität mit den sicher spezifischen „fixateuren“ der Immuns sera entschieden sein. Gleiches gilt von der Frage der Identität der Opsonine mit den Alexinen, letztere als Sammelbegriff der im normalen Serum in vitro nachweisbaren bakterienschädigenden Substanzen gebraucht. Da aber aktives Meerschweinchenserum weder selbst die Kolonienzahl von *Staphylococcus pyogenes aureus* beim Plattenversuch wesentlich gegenüber physiologischer Lösung vermindert, noch imstande war, inaktiviertes Pferdeserum zu reaktivieren, während es sicher Opsonine enthielt (Versuch XXV), muß ich einstweilen die Verschiedenheit dieser Körper, bzw. Funktionen des Serums für wahrscheinlicher halten. Was auch mit der früheren Feststellung übereinstimmt, daß gerade jene Bakterien, für welche bakteriolytische Eigenschaften des normalen Serums nachzuweisen sind (*Vibrio Cholerae*, *Bact. Coli*), in bezug auf Opsonine nicht nur die unklarsten, sondern auch die schlechtesten Resultate ergeben. Daneben besteht jedoch die Möglichkeit jener Erklärung, die schon Wright und Douglas gaben, daß es sich bei Opsoninen und Alexinen nur um die verschiedene Wirkungsweise von Substanzen derselben Art handelt, wie sie durch die Eigenart der Bakterien bedingt wird.

Zuletzt muß ich hier noch auf die vielumstrittene Frage der Phagozytose ohne Intervention des Serums eingehen. Metschnikoff nimmt eine primäre Fähigkeit der Leukozyten, auch virulente Mikroben zu

¹ Dagegen kann ich besonders auf Grund seitheriger Versuche die Möglichkeit nicht ausschließen, daß es sich bei den positiven Resultaten nicht um eine totale Absorption der Opsonine, sondern um die Abgabe von phagozytosehemmenden Substanzen seitens der durch-zentrifugierten Kokken handelte. Daß eine gewisse Absorption stattfindet, zeigen die Versuche jedenfalls.

phagozytieren, an und Löhlein hat dies nach vielen anderen neuerdings bestätigt. Wright und Douglas aber glaubten die so gedeuteten Befunde auf einen an den verwendeten Leukozyten haftenden Rest von Opsoninen zurückführen zu müssen, viele andere Autoren leugnen dieselben mindestens für virulente Bakterien.

Da ich in der beträchtlichen Reihe meiner Untersuchungen, die mit Material jeglichen Virulenzgrades vorgenommen wurden, bei Verwendung wenig geschädigter Phagozyten niemals weder im erhitzten Serum, noch in der physiologischen Lösung Phagozytose ganz vermißte, muß ich der fundamentalen Lehre Metschnikoffs zustimmen, daß den Leukozyten an sich die Fähigkeit, Bakterien zu phagozytieren zukomme. Für avirulente Mikroben (*Bact. Coli*) habe ich schon früher (s. oben) darauf hingewiesen, sie zeigte sich aber auch unzweideutig gegenüber den virulenten Staphylokokken. Hervorheben möchte ich aber noch zwei besondere Versuche nach dieser Richtung. In dem einen (Versuch XXIII) verglich ich das Verhalten von Leukozyten, welche 6 mal mit physiologischer Lösung gewaschen waren, mit solchen, die nur 3 mal gewaschen waren, es zeigte sich ein unbeträchtlicher Unterschied in der Stärke der Phagozytose zugunsten der letzteren, sehr wohl durch die stärkere Schädigung ersterer erklärlich. Aber auch diese zeigte sowohl in physiologischer Lösung, wie auch im inaktivierten Serum ganz deutliche Phagozytose, und wurde auch nur eine Spur aktiven Serums ($\frac{1}{100}$ gtt auf 45 gtt Medium) zugesetzt, so stieg die Intensität sehr beträchtlich. Es muß darnach wohl obige Auffassung Wrights und Douglas abgelehnt werden, denn selbst ein minimaler Serumrest müßte viel stärkere Phagozytose herbeiführen. Andererseits mußte ich an die Möglichkeit denken, daß der in allen Gemischen vorhandenen physiologischen Lösung eine schwache Fähigkeit zukomme, die Bakterien zur Phagozytose vorzubereiten, um so mehr als sie sich für die Leukozyten als nicht ganz indifferentes Medium erwiesen hatte. Zwar hatten schon Hektoen und Ruediger gezeigt, daß Metallsalzlösungen die Phagozytose nur hemmen, doch waren sie dabei gerade von der physiologischen Kochsalzlösung als dem indifferenten Medium ausgegangen. Die Hemmungen, die sie fanden, erklären sie selbst teils durch Schädigung der Leukozyten, teils durch Zerstörung der Opsonine, hier war dagegen die eventuelle Wirkung auf die Bakterien fraglich. Ich habe diesbezüglich die Phagozytose seitens ganz besonders sorgfältig gewaschener Leukozyten in Kochsalzlösungen von abgestufter Konzentration beobachtet, wobei ich den Gehalt von 0.3 Prozent bis 3.3 Prozent ansteigen ließ, also die physiologische Breite nach beiden Seiten überschritt. Die Intensität der Phagozytose war auch hier in Abwesenheit jedes Serumeinflusses ziemlich groß, die Unterschiede dagegen minimal. Es ergab sich nur, daß die über der

Dichte der physiologischen Lösung liegenden Werte vielleicht etwas günstiger wirkten, als die niedrigeren, nicht aber als diese selbst. Man kann daher dem physiologischen Medium kaum eine noch so geringe Fähigkeit, die Bakterien phagozytabel zu machen, zuschreiben.

Die Ursache der Phagozytose ohne Serum kann das nicht sein, diese ist vielmehr die primäre Fähigkeit der polynukleären Leukozyten, Bakterien und zwar auch virulente aufzunehmen. Bedenkt man, daß man es bei solchen Versuchen in vitro nie mit intakten Phagozyten zu tun hat, da dieselben stets mannigfachen Schädigungen (fremdes Medium, Temperaturschwankungen, Zentrifugieren) ausgesetzt werden, so wird man für die Verhältnisse in vivo der primären Avidität der Phagozyten eine noch höhere Bedeutung zuerkennen müssen.

Abschließend mögen hier noch einmal die wichtigsten Befunde und Schlußfolgerungen dieser Untersuchungen in Kürze zusammengestellt werden.

1. Es gibt eine Phagozytose avirulenter, mitunter aber auch virulenter Bakterien (Streptokokken und Staphylokokken) als primäre Fähigkeit der Leukozyten.

2. Bei Versuchen in vitro wird die Intensität der eintretenden Phagozytose bedingt:

a) gefördert durch die Fähigkeit des normalen, aktiven Serums, verschiedene Bakterien so zu verändern, daß sie darnach leichter phagozytiert werden (Opsonine). Ob auch die Avidität der Leukozyten direkt fördernde Substanzen (Stimuline) im aktiven Serum vorhanden sind, blieb unentschieden;

b) gehemmt durch jede funktionelle Schädigung der verwendeten Leukozyten z. B. durch artfremdes Serum, während sie im eigenen Serum, mangels solcher Einflüsse, am größten ist;

c) sie ist ferner abhängig von Art und Virulenz der geprüften Bakterien. Avirulente werden an sich viel lebhafter phagozytiert, als virulente, weshalb vielleicht der fördernde Einfluß der Opsonine bei ihnen weniger deutlich ist.

d) Außerdem kommt für den zahlenmäßigen Ausgang solcher Versuche auch die Menge der zur Phagozytose verfügbaren Bakterien, daher auch das Vorhandensein oder Fehlen bakteriolytischer, also keimvermindernder Eigenschaften des Mediums, wesentlich in Betracht.

3. Die Fähigkeit des normalen, aktiven Serums, die Bakterien zur Phagozytose geeigneter zu machen, läßt sich durch einen Gehalt an bestimmten Stoffen erklären. Diese sind entweder neue, mit den bekannten

bakteriotropen Substanzen des normalen Serums (Alexin, Zytase) nicht identische Körper (Opsonine) oder sie sind mit diesen Substanzen identisch. Bei letzterer Annahme müßte deren Wirkungsweise verschiedenen Bakterien gegenüber verschieden sein, manchen gegenüber bakteriolytisch oder bakterizid, anderen gegenüber opsonisch. Gegenüber jenen Bakterien, auf welche deutlich Opsoninwirkung stattfindet, zeigte sich keine der anderen (bakteriolytischen oder bakteriziden) Fähigkeiten des Serums.

4. Die Opsoninwirkung besteht nicht in einer Schädigung der Bakterien, sondern nur in einer solchen Veränderung derselben, daß sie besser phagozytiert werden (sensifizierte Bakterien) und zwar

a) auch wenn das Serum wieder entfernt und durch physiologische Lösung ersetzt wurde, oder wenn es nach längerer Einwirkung erhitzt wurde;

b) auch durch Leukozyten anderer Tiere, als von welchen das Serum stammt.

5. Die Opsonine verschwinden aus dem normalen Meerschweinchen-serum und mehreren anderen Seris:

a) allmählich bei Aufbewahrung und zwar in relativ kurzer Zeit (14 Tage);

b) sie werden bei Erhitzung auf Temperaturen über 56° im Verlauf 1/2 Stunde, über 65° nach 10 Minuten völlig zerstört;

c) sie werden an die Bakterien, auf welche sie wirken, gebunden und können, falls solche in großen Massen durch lange Zeit digeriert werden, dem Serum entzogen werden;

d) sie werden auch durch anderes fein verteiltes, organisches Material (z. B. fremde Bakterien, Karminpulver) absorbiert. Eine Nichtspezifizität der Opsonine für die einzelnen Bakterienarten läßt sich daraus nicht folgern.

6. Die Opsoninwirkung findet auf erhitzte Bakterien ebenso statt wie auf nicht erhitzte. Dagegen steigert sie nicht die Phagozytose sensifizierter und dann erhitzter Bakterien, die besser phagozytiert werden als bloß erhitzte, aber schlechter als bloß sensifizierte. Durch Erhitzung wird also ein Teil, aber nicht die ganze eingetretene Opsoninwirkung aufgehoben.

7. Die Opsoninwirkung ist relativ in hohem Grade unabhängig von der Quantität des verwendeten Serums, es genügen ganz kleine Mengen.

8. Das erhitzte, inaktive Serum enthält auch keinerlei hemmende Faktoren weder für die Phagozytose selbst, noch für den Eintritt der Opsoninwirkung, ist also ein völlig indifferentes Medium.

Versuch I.

Altes Meerschweinchenserum (SI) seit 10 Tagen im Eisschrank aufbewahrt.

Frisches Meerschweinchenserum (SII) vom selben Tage.

Meerschweinchenleukozyten (L) 5 Stunden nach intraperitonealer Injektion von je 5^{cem} physiol. Lösung zwei Meerschweinchen mittels feiner Kapillarpipetten entnommen, in physiol. Lösung von 38° aa aufgeschwemmt und bei mäßiger Geschwindigkeit zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit (Exsudatflüssigkeit) abgesaugt und durch physiol. Lösung ersetzt; das Sediment darin vollkommen aufgeschwemmt und auf gleiche Weise noch zweimal gewaschen, zuletzt das Sediment in einem dem Exsudatquantum gleichen Volumen physiol. Lösung aufgeschwemmt.

Milzbrandaufschwemmung (B) 1 Öse einer 24stünd. Agarkultur von Milzbrand in 5^{cem} physiol. Lösung aufgeschwemmt. (Virulenz: 1/4 Öse + Meerschweinchen von 450^{grm} in 2 Tagen.)

In kleine Glaseprouvetten wird zuerst tropfenweise ein bestimmtes Quantum B, dann je 3 gtt SI, SII, Exsudatflüssigkeit oder physiol. Lösung gefüllt, hierauf alle Röhrchen mit physiol. Lösung ad 1^{cem} aufgefüllt, dann erst rasch die bestimmte Menge L zugesetzt und nach gutem Durchschütteln bei 38° aufbewahrt. Mittels Platinöse werden gleich nach Zusatz von L (I) und 1/2 Stunde später (II) Proben zu Ausstrichen entnommen, diese mit Azurblau II gefärbt. Von 50 gezählten Leukozyten hatten in Prozenten phagozytiert:

		3 gtt SI	3 gtt SII	3 gtt Exs.-Fl.	Physiol. Lösg.
1 gtt B + 3 gtt L	I	0 Prozent	4 Prozent	0 Prozent	0 Prozent
	II	8 „	14 „	0 „	0 „
3 gtt B + 1 gtt L	I	0 „	0 „	0 „	0 „
	II	0 „	12 „	0 „	0 „

In allen Präparaten nur sehr spärliche, vereinzelte Milzbrandfäden.

Versuch II.

Altes Meerschweinchenserum (SI) seit 15 Tagen im Eisschrank.

Frisches Meerschweinchenserum (SII) seit 2 Tagen im Eisschrank.

(SIII) vom selben Tage.

Meerschweinchenleukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat wie im Vers. I.

Koliaufschwemmung (B) 5 Ösen einer 24stündig. Agarkultur in 5^{cem} physiol. Lös. Zu den auf je 1^{cem} mit physiol. Lös. aufgefüllten Bakterien-Serumgemischen zuletzt je 3 gtt L zugesetzt. Präparate nach 1/2 Stunde bei 38°. Von 50 Leukozyten hatten phagozytiert:

	3 gtt SI	3 gtt SII	3 gtt S III	Physiol. Lösg.
3 gtt B	0 Prozent	0 Prozent	70 ¹ Prozent	0 Prozent
1 gtt B	0 „	4 „	4 „	0 „

¹ Gegenüber den sonst spärlichen hier zahllose Bakterien, intra- u. extrazellulär. — In allen Präparaten die Leukozyten von stark gefärbten Granulis erfüllt (vielleicht Bakterienreste). Die Bakterien oft in Haufen angeordnet.

Versuch III.

Altes Meerschweinchenserum (SI) seit 18 Tagen im Eisschrank.
 Frisches " (SII) vom selben Tage.
 Erhitztes " (SIII) durch 15' auf 60° erhitztes SII.
 Meerschweinchenleukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, viermal gewaschen.

24stünd. Bouillonkultur von Streptococcus pyogenes (virulent).

Sonst wie Versuch I und II. Präparate nach 1/2 Stunde bei 38°.

Von 100 Leukozyten hatten phagozytiert:

	2 gtt SI	2 gtt SII	2 gtt SIII	Physiol. Lösg.
2 gtt B + . . . + 4 gtt L	0 Prozent	8 Prozent	4 Prozent	2 Prozent
4 gtt B + . . . + 2 gtt L	0 „	12 „	4 „	4 „

In allen Präparaten viele extrazelluläre Kokken.

Versuch IV.

Altes Meerschweinchenserum (SI) seit 5 Tagen im Eisschrank.

Frisches " (SII) vom selben Tage.

Peritonealflüssigkeit (Exfl.) durch Abzentrifugieren der Leukozyten aus dem Peritonealexsudat vom Meerschweinchen, 6 Stunden nach Injektion von 7^{cem} kalter physiol. Lösung gewonnen, aa mit physiol. Lösung verdünnt.

Meerschweinchenleukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, viermal gewaschen.

Koliaufschwemmung (B): Ganze 24stünd. Agarkultur in 3^{cem} physiol. Lösung.

Bakterien-Serumgemische je auf 1^{cem} mit physiol. Lösung aufgefüllt, dann Leukozyten zugesetzt.

Präparate sofort (I) und nach 1/2 Stunde bei 38° (II).

Von 50 Leukozyten hatten phagozytiert:

I. Präparat sofort.

	2 gtt SI	2 gtt SII	4 gtt Exfl.	Physiol. Lösg.
2 gtt B + 4 gtt L	12 Prozent	20 Prozent	50 Prozent	50 Prozent
2 gtt B + 2 gtt L	20 „	30 „	60 „	20 „
4 gtt B + 2 gtt L	40 „	40 „	100 ¹ „	80 „

II. Präparat nach 1/2 Stunde.

	2 gtt SI	2 gtt SII	4 gtt Exfl.	Physiol. Lösg.
2 gtt B + 4 gtt L	40 Prozent	100 ¹ „	100 Prozent	20 Prozent
2 gtt B + 2 gtt L	60 „	60 „	100 „	90 „
4 gtt B + 2 gtt L	80 „	80 „	100 ¹ „	100 „

¹ Fast alle Leukozyten mit Bakterien vollgepfropft. — Auch außer den phagozytierten Bakterien in vielen Leukozyten aller Präparate Granula (Bakterienreste?) und Bakterien in allen Stadien der Auflösung (verminderter Färbbarkeit, Deformierung). Überall auch zahllose extrazelluläre Bakterien.

Versuch V.

Frisches Meerschweinchenserum (SI) vom selben Tage.
 Erhitztes „ (SII) auf 60° durch $\frac{1}{2}$ Std. erhitztes SI.
 Meerschweinchenleukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, viermal gewaschen.
 24 stündige Bouillonkultur von Milzbrand (B).
 Alle Röhrchen mit physiol. Lösung auf 1.5^{cem} aufgefüllt.
 Präparate nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 38°.

6 gtt B + 2 gtt L			2 gtt B + 6 gtt L		
2 gtt SI	2 gtt SII	2 gtt phys. Lsg.	2 gtt SI	2 gtt SII	2 gtt phys. Lsg.
ø Prozent	ø Prozent	ø Prozent	ø Prozent	ø Prozent	ø Prozent

Durchwegs nur ganz vereinzelte Milzbrandfäden, daher keine Phagozytose.

Versuch VI.

Frisches Meerschweinchenserum (SI) vom selben Tage.
 Erhitztes „ (SII) durch $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° erhitztes SI.
 Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 5 mal gewaschen.
 Bakterienaufschwemmungen (B) je 3 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur
 in 3^{cem} physiol. Lösung. a) Milzbrand, b) Streptococcus pyogenes.
 Alle Röhrchen auf 1^{cem} aufgefüllt, wie in den vorherigen Versuchen.
 Präparate nach $\frac{1}{2}$ Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

a)

(Milzbrand)	2 gtt SI	2 gtt SII	Physiol. Lösg.
1 gtt B + . . . + 2 gtt L	4 Prozent	2 Prozent	ø Prozent
1 gtt B + . . . + 4 gtt L	6 „	ø „	8 „

b)

(Streptococcus pyog.)	2 gtt SI	2 gtt SII	Physiol. Lösg.
4 gtt B + 4 gtt L	4 Prozent	ø Prozent	ø Prozent
2 gtt B + 2 gtt L	4 „	ø „	ø „

In allen Präparaten sehr spärlich Bakterien.

Versuch VII.

Frisches Meerschweinchenserum (SI) vom selben Tage
 Erhitztes „ (SII) durch $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° erhitztes SI. } je

Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat viermal mit nicht erwärmter physiol. Lösung gewaschen, je 4 gtt.

Bakterienaufschwemmungen von 24 stünd. Agarkulturen in je 5^{cem} physiologischer Lösung von a) Streptococcus pyogenes (ganze Kultur), b) Vibrio cholerae (Saigon), c) B. coli (je 3 Ösen). Auf 1^{cem} aufgefüllt, bei 38° aufbewahrt. Präparate nach $\frac{1}{2}$ Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

Bakterien	a) Streptococcus			b) Cholera			c) Koli		
	SI in Proz.	SII in Proz.	ph. Lös. in Proz.	SI in Proz.	SII in Proz.	ph. Lös. in Proz.	SI in Proz.	SII in Proz.	ph. Lös. in Proz.
2 gtt	10	2	0 ¹	4 ²	0 ¹	10	0 ¹	6	12 ³
4 gtt	16	2	4	8 ²	6 ²	4 ²	10 ³	10	24 ⁴

¹ Weder freie, noch phagozytierte Bakterien im Präparat.

² Sehr spärlich extrazelluläre, vereinzelt intrazelluläre Vibrionen sichtbar.

³ Wenige extrazelluläre Bakterien, in den Leukozyten vielfach stark gefärbte Granula (Bakterienreste?), intakte Bakterien intrazellulär nur vereinzelt.

⁴ Die meisten Leukozyten von den „granulis“ erfüllt, viele enthalten vereinzelte, andere haufenweise intakte Bakterien.

Versuch VIII.

Frisches Meerschweinchenserum (SI) vom selben Tage.

Erhitztes „ (SII) auf 63° durch 1/2 Std. erhitztes SI.

Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, viermal mit unerwärmter physiol. Lösung gewaschen.

Bakterien (B): Aufschwemmungen von je 3 Ösen der 24 stünd. Agar-kulturen in 5^{cem} physiol. Lösung.

Auf 1^{cem} aufgefüllte Röhrchen bei 38° aufbewahrt.

Nach 1/2 Stunde Präparate.

4 gtt L + . . .	a) Streptococcus		b) Vibrio Cholerae		c) Bact. Coli		d) Bac. Anthracis	
	4 gtt in Proz.	8 gtt in Proz.	4 gtt in Proz.	8 gtt in Proz.	4 gtt in Proz.	8 gtt in Proz.	4 gtt in Proz.	8 gtt in Proz.
4 gtt SI	24	32	18 ¹	48 ¹	24 ³	48	30	40
4 gtt SII	8	16	6	12 ²	20 ⁵	30 ⁵	4 ⁵	4 ⁵
Physiol. Lösg.	8	24	0	16	40 ⁴	24	10 ³	4

¹ Extrazelluläre Vibrionen in allen Stadien der Auflösung, intrazellulär nur spärlich intakte Vibrionen, häufig „Granula“.

² Zahllose, intakte freie Vibrionen.

³ Wenige, intakte freie Bakterien.

⁴ Sehr wenige freie Bakterien, doch einzelne Leukozyten mit Bakterien, andere mit „Granula“ vollgepfropft.

⁵ Sehr zahlreiche, intakte freie Bakterien.

Versuch IX.

Frisch. Meerschw.-Ser. (SI) vom selben Tage. Erhitzt. Meerschw.-Ser. (S II) auf 63°
 „ Kaninch.-Ser. (SIII) „ Kaninchen-Ser. (SIV) durch 1/2 Stunde erhitzt.

Frische Meerschw.-Peritonealflüssigkeit (Pf) durch Abzentrifugieren der Leukozyten aus aa mit physiol. Lösung verdünntem Exsudat.

Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 4 mal mit physiol. Lösung kalt gewaschen.

Bakterienaufschwemmungen (B) von je 3 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur in 3^{cem} physiol. Lösung.

Röhrchen auf 1^{cem} aufgefüllt, bei 38° gehalten, nach 1/2 Stunde Präparate:

Je 4 gtt	Je 50 Leukozyten gezählt	SI Proz.	SII Proz.	SIII Proz.	SIV Proz.	Pf. Proz.	Phys. Lösg.
a) Streptococcus pyogenes	2 gtt Ser. (4 gtt Pf.) + + + 2 gtt L	60*	16	16 ¹	20 ²	24 ³	12
	4 gtt Ser. (8 gtt Pf.) + + + 4 gtt L	48 ⁴	24 ⁵	4 ¹	0 ⁶	40 ³	22
b) Bact. coli	2 gtt Ser. (4 gtt Pf.) + + + 2 gtt L	32 ⁷	72 ⁸	32 ¹	60 ⁶	60 ⁹	68*
	4 gtt Ser. (8 gtt Pf.) + + + 4 gtt L	60*	46	48	26 ⁸	40 ⁷	48 ¹⁰

* Viele Leukozyten mit Bakterien vollgepfropft.

¹ Leukozyten fast durchwegs schlecht gefärbt, viele deformiert oder in Zerfall; sehr wenig freie Bakterien (Kokken) sichtbar.

² Vergleichsweise gut erhaltene Leukozyten, spärlich Kokken.

³ Viele Leukozyten enthalten stark gefärbte Granulierungen, die wahrscheinlich keine Kokken sind.

⁴ Wenige gut gefärbte Kokken, dagegen intra- und extrazellulär massenhaft körniger Detritus (Kokkenreste?).

⁵ Reichlich gut gefärbte Kokken, meist in Haufen.

⁶ Gut erhaltene Leukozyten, mäßig viele freie Kokken.

⁷ Wenig freie Bakterien intakt, meist in Zerfall und schlecht gefärbt.

⁸ Massenhaft freie, intakte Bakterien.

⁹ Massenhaft freie Bakterien, aber diese wie die intrazellulären in allen Stadien der Auflösung.

¹⁰ Bakterien meist in Haufen, sehr reichlich.

Versuch X.

Frisches Meersch.-Ser. (SI) } vom selben Tage
" Kaninch.-Ser. (SIII) }

Frische Meersch.-Peritonealflüssigkeit (Pf. I) aus dem Peritonealexsudat in Verdünnung 1:3 mit (6 Promille Kochsalz- + 10 Promille Natriumcitratlösung aa) durch Abzentrifugieren der Leukozyten. } auf 60° durch 1/2 Stunde erhitzt } SII
SIV
Pf. II
Ödf. II

Frische Kaninchen-Ödemflüssigkeit (Ödf. I) aus dem Stauungsödem am Ohr nach 2 tägiger elastischer Umschnürung. 1:1 mit Kochsalz-Citratlösung verdünnt.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 4 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmungen (B) in je 5^{cem} physiol. Lösung: a) ganze 24 stünd. Agarkultur von Streptococc. pyog., b) 3 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur von B. coli.

Je 4 gtt B + 2 gtt Serum (od. 4 gtt Ödf. od. 8 gtt Pf., od. phys. Lsg.) + 4 gtt L. Röhrchen auf 1^{cem} aufgefüllt, bei Zimmertemperatur gehalten. Präparate nach 1 1/2 Stunde.

	Meerschw.		Kaninchen		Meerschw.		Kaninchen		Phys. Lös. in Proz.
	SI i. Proz.	SII i. Proz.	SIII in Proz.	SIV in Proz.	Pf. I in Proz.	Pf. II in Proz.	Ödfl. I in Proz.	Ödfl. II in Proz.	
a) Streptoc. pyogen.	4 ¹	4 ³	4 ¹	0	4 ²	0	4	4	2
b) Bacter. coli	28	20	14	8	— ⁴	12	21	10	12

¹ Sehr wenige, gut erhaltene Kokken; massenhaft freier, feinkörniger Detritus.

² Fast keine Kokken.

³ Zahlreiche Kokken, in den angehäuften Leukozyten unverhältnismäßig stärkere Phagozytose.

⁴ Präparat verdorben.

In nach 15 stündiger Aufbewahrung angefertigter Präparaten die Leukozyten stark deformiert, in ihnen, dann auch frei in den erhitzten Seris stark vermehrte Kokken.

Versuch XI. (1 Tag nach dem X.)

Frisches Meerschw.-Ser. (SI) vom selben Tage.

„ „ „ (SII) „ Vortage (V. X.) im Eisschrank.

Frische Peritonealflüssigkeit (Pf. I) vom Meerschw. aus dem Peritonealexsudat 1:1 mit (6 Promille Kochsalz- + 10 Promille Natriumcitratlösung aa) verdünnt vom selben Tage.

Kaninchen-Ser. (SIII) vom Vortage (V. X.) im Eisschrank.

Kaninchen-Ödemflüssigkeit (Ödfl. I) vom Vortage (V. X.) im Eisschrank (1:1 mit Kochsalz-Citratlösung).

Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 3 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmungen (B) je einer 24 stünd. Agarkultur in 5^{cem} physiol. Lösung von: a) Streptococcus pyog., b) Bact. coli.

Je 10 gtt B + 4 gtt Ser. (od. 8 gtt Ödfl. od. Pf. od. phys. Lsg.) + 6 gtt L. auf 1^{cem} aufgefüllt, bei Zimmertemperatur gehalten. Präparate sofort [nur bei a)] und nach 1/2 Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

Je eine Hälfte un-
erhitzt, die
andere durch
1/2 Stunde
auf 61°
erhitzt.

	Meerschw. SI		Meerschw. SII		Meerschw. Peritonfl.		Kaninchen SIII		Kaninchen Ödfl.		Physiol. Lös. in Prozenten
	nicht erh. Proz.	er- hitzt Proz.	nicht erh. Proz.	er- hitzt Proz.	nicht erh. Proz.	er- hitzt Proz.	nicht erh. Proz.	er- hitzt Proz.	nicht erh. Proz.	er- hitzt Proz.	
a) { Sofort . . .	7	6	7	8	5	3	13	6	4	6	9
{ Nach 1/2 Std.	20	8	22	7	12	4	15	6	13	5	4
b) Nach 1/2 Std.	42 ¹	40	40	48 ²	32	38	32 ¹	26	36	36	44 ³

¹ Manche Leukozyten enthalten neben deutlichen Stäbchen auch zahlreiche, gut gefärbte, verschieden große und geformte Körnchen.

² Besonders große Mengen auch freier Bakterien.

³ Viele Leukozyten undeutl. begrenzt, weniger gut gefärbt, von Körnchen erfüllt.

Versuch XII.

Frisches Meersch.-Ser. (SI) vom selben Tage.

Erhitztes " " (SII) auf 61° durch 1/2 Stunde.

Frische Kaninchen-Ödemflüssigkeit (Ödfl.) aus dem Stauungsödem am Ohr nach 2 tägiger elastischer Umschnürung; 1:1 mit Kochsalz-Citratlösung verdünnt.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat 5 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmung (B) einer 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 5^{ccm} physiol. Lösung.

Röhrchen auf 1^{ccm} aufgefüllt. Präparate sofort und nach 1/2 Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

Je 5 gtt L	1 gtt B				5 gtt B				15 gtt. B			
	SI	SII	Ödfl.	phys. Lösg.	SI	SII	Ödfl.	phys. Lösg.	SI	SII	Ödfl.	phys. Lösg.
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Sofort	2	0	0	0	6	0	6	0	20	8	6	8
Nach 1/2 St.	16	0	0	0	24	8	—	0	36	12	32	16

Versuch XIII.

Verschieden alte Sera. 1. vom Kaninchen (K.). 2. vom Meerschweinchen (M.).

SI = 12 Tage, SII = 6 Tage, SIII = 4 Tage, SIV = 2 Tage alt; SV = vom selben Tage, SVI = durch 1/4 Stunde auf 61° erhitztes SV. Die alten Sera im Eisschrank aufbewahrt. Je 3 gtt Serum.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 4 mal gewaschen, je 5 gtt.

Bakterienaufschwemmungen je einer 24 stünd. Agarkultur in 5^{ccm} physiol. Lösung von a) Staphylococc. pyog. aur., b) Streptococc. pyog. je 10 gtt.

Auf 1^{ccm} aufgefüllt; Präparate nach 1/2 Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

	K. SI	K. SII	K. SIII	K. SIV	K. SV	K. SVI
a) Staphyloc.	50 Proz.	72 Proz.	80 Proz.	72 Proz.	76 Proz.	72 Proz. ¹
b) Streptococ.	8 „	4 „	10 „	16 „	30 „	8 „

	M. SI	M. SII	M. SIII	M. SIV	M. SV	M. SVI	Phys. Lösg.
a) Staph.	60 Proz.	80 Proz.	80 Proz.	84 Proz.	88 Proz.	32 Proz.	20 Pr.
b) Strept.	48 „	64 ² „	56 ² „	60 ² „	60 ² „	18 „	16 „

¹ Zahllose Kokken.

² Viele Leukozyten in Auflösung, auch viele Kokken schlecht gefärbt.

Versuch XIV.

Frisches Meersch.-Ser. (SI) vom selben Tage.

Erhitztes " " (SII) auf 61° durch 1/2 Stunde erhitztes SI.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 4 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmungen von einer 24stünd. Agarkultur von *Staphylococcus pyog. aur.*

B₁ = Aufschwemmung von 5 Ösen in 5^{cem} physiol. Lösung.

B₂ = " " " 1 Öse " 25 " "

Röhrchen auf 1^{cem} gefüllt. Präparate sofort und nach 1/2 Stunde, je 5 gtt Serum (ph. Lsg.) + x gtt B + 5 gtt L. 100 Leukozyten gezählt.

	5 gtt B ₁ (125)			1 gtt B ₁ (25)			1 gtt B ₂ (1)		
	SI in Proz.	SII in Proz.	ph. Lös. in Proz.	SI in Proz.	SII in Proz.	ph. Lös. in Proz.	SI in Proz.	SII in Proz.	ph. Lös. in Proz.
Sofort	8	8	14	3	2	6	2	0	3
Nach 1/2 St.	56	20	20	24	5	8	3	0	1

Versuch XV (Plattenversuch) zugleich mit Versuch XIV.

Gemische von frischem oder auf 61° durch 1/2 Stunde erhitztem Meerschw.-Serum (5 gtt) und Bakterienaufschwemmung (10 gtt) von 1. *Staphylococc. p. aur.*, 2. *Streptococc. pyg.*, 3. Milzbrand. (Je eine 24stünd. Agarkultur in 5^{cem} physiol. Lsg. = B₁; auf 1:9 ph. Lsg. verdünnt = B₂). Aussaat je 1 Öse auf eine Agarplatte. I. Aussaat 5 Minuten, II. Aussaat 1/2 Stunde nach Zusatz des Serums. Platten nach 24 Stunden im Brutofen. Zählung nirgends möglich.

	<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i>			
	B ₁ + fr. S.	B ₁ + erh. S.	B ₂ + fr. S.	B ₂ + erh. S.
I. Aussaat	∞	∞	∞	∞
II. Aussaat	∞	-∞	∞	-∞

	<i>Streptococcus pyogenes</i>				Milzbrand	
	B ₁ + fr. S.	B ₁ + erh. S.	B ₂ + fr. S.	B ₂ + erh. S.	B ₁ + fr. S.	B ₁ + erh. S.
I. Aussaat .	∞	∞	dichter Rasen	dichter Rasen	∞	∞
II. Aussaat .	∞	-∞	dichter Rasen	schütterer Rasen	∞	dichter Rasen (-∞)

Versuch XVI.

Frisches Meerschw.-Serum vom selben Tage.

S₁ = nicht erhitzt,

S₂ = auf 56° durch 10 Min., S₄ = auf 61° durch 10 Min.,

S₃ = " " " 1/2 Std., S₅ = " " " 1/2 Std.,

S₆ = " 65° " 10 Min.,

S₇ = " " " 1/2 Std.,

} erhitztes S₁.

Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat 3 mal gewaschen. Bakterienaufschwemmung (B) einer 24stünd. Agarkultur von *Staphylococcus pyog. aur.* in 5^{cem} physiol. Lösung. Je 5 gtt Serum, 12 gtt Leukozyten und I. 15 gtt Bact. oder II. 3 gtt Bakt. + 12 gtt physiol. Lösung.

Alle Röhrchen enthalten gleiche Volumina. Präparate nach $\frac{1}{2}$ Stunde und nach 1 Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

		S_1 nicht erhitzt	S_2 56°, 10'	S_3 56°, $\frac{1}{2}^h$	S_4 61°, 10'
I. 15 gtt B	{ n. $\frac{1}{2}$ Std.	66 Prozent	28 Prozent	16 Prozent	28 Prozent
	{ „ 1 „	80* „	46 „	24 „	50 ¹ „
II. 3 gtt B +	{ „ $\frac{1}{2}$ „	36 „	18 „	12 „	20 „
12 gtt ph. Lös.	{ „ 1 „	52 „	24 ² „	16 „	28 „

		S_5 61°, $\frac{1}{2}^h$	S_6 65°, 10'	S_7 65°, $\frac{1}{2}^h$	Phys. Lös.
I. 15 gtt B	{ n. $\frac{1}{2}$ Std.	18 Prozent	12 Prozent	14 Prozent	18 Prozent
	{ „ 1 „	20 „	16 „	20 „	24 „
II. 3 gtt B +	{ „ $\frac{1}{2}$ „	14 „	12 „	12 „	12 „
12 gtt ph. Lös.	{ „ 1 „	16 „	16 „	14 „	20 ³ „

* Viele Leukozyten mit Kokken vollgepfropft.

¹ Auch massenhaft freie Kokken, in den Leukozyten viele Granula.

² Auffallend wenig freie Kokken sichtbar.

³ Leukozyten meist schlecht gefärbt, die zu Haufen angeordneten zeigen stärkere Phagozytose.

Versuch XVII.

Frisches Meerschw.-Serum (SI) vom selben Tage.

Erhitztes „ „ (SII) auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitztes SI.

Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 3 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmung (B) 9 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 2^{ccm} physiol. Lösung in drei gleiche Portionen geteilt.

B_1 = unveränderte (lebende) Aufschwemmung.

B_2 = durch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 61° erhitzte Aufschwemmung. Kontrolle steril.

B_3 = „ $\frac{1}{2}$ „ „ 120° „ „ „

Präparate nach $\frac{1}{2}$ Stunde und nach 1 Stunde.

15 gtt L + 5 gtt Serum (phys. Lös.)	B_1 (lebende Kultur)			B_2 (auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt)			B_3 (auf 120° durch $\frac{1}{2}$ Std. erhitzt)		
	S_1	S_2	phys. Lös.	S_1	S_2	phys. Lös.	S_1	S_2	phys. Lös.
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
+ 15 gtt B nach $\frac{1}{2}$ Stunde	60	22	16	64	22	20	56	22	22
+ 3 gtt B + 12 gtt ph. Lös. nach $\frac{1}{2}$ Std.	8	2	4	12	2	6	8	2	6
+ 3 gtt B + 12 gtt ph. Lös. nach 1 Std.	26	6	8	24	10	8	16	6	6

Versuch XVIII.

Frisches Meersch.-Serum (SI) vom selben Tage (wie gewöhnlich durch Gerinnung erhalten).

Erhitztes Meersch.-Serum (SII) auf 61° durch 1/2 Stunde erhitztes SI.

Frisches Meersch.-Citratserum (SIII) Meersch.-Blut + aa Natriumcitratlösung 1 Prozent, zentrifugiert.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 3 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmung (B), je 10 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 5^{ccm} phys. Lösung. (Verunreinigt.)

BI = unveränderte Aufschwemmung B; BII = durch 1/2 Stunde auf 61° erhitzte Aufschwemmung B, je 10 gtt B + [(5 gtt SI od. SII + 5 gtt ph. Lösg.) od. 10 gtt SIII] + 10 gtt L.

Präparate nach 1/4 Stunde; 50 Leukozyten gezählt.

BI + SI, 1/2 Stunde digeriert	dann L	40 Prozent ¹
BI + SI, 1/2 Std. diger., durch 1/2 Std. auf 61° erhitzt	dann L	12 ² „
BI + SII, 1/2 Stunde digeriert	dann L	6 „
BI + SI	sofort L	40 „
BI + SII	sofort L	12 „
BI + SIII	sofort L	28 ² „
BI + physiol. Lösung	sofort L	30 ¹ „
BII + SI, durch 1/2 Stunde digeriert	dann L	40 „
BII + SI, 1/2 Std. digeriert, durch 1/2 Std. auf 61° erhitzt	dann L	32 „
BII + physiol. Lösung	sofort L	30 ¹ „

¹ Zahllose freie Stäbchenbakterien (Koli?) in den Phagozyten, ferner Körner, die nicht Kokken sind.

² Spärlich Leukozyten, auch wenig freie Kokken.

Versuch XIX.

Frische Sera verschiedener Tiere, alle vom selben Tage.

SI = Meersch.-Serum wie gewöhnl. gewonnen 1:2 mit phys. Lösg. verdünnt.

SII = „ -Citratserum a. d. m. 2 Teil. 1proz. Natr.-Citratlsg. versetzt. Blut.

SIII = Kaninch.- „ „ „ „ „ „ „ „

SIV = Ratten- „ „ „ „ „ „ „ „

Von jedem Serum ein Teil unerhitzt, der andere durch 1/2 Stunde auf 61° erhitzt.

Leukozyten verschiedener Tiere.

LI = Meersch.-Leukozyten aus dem Peritonealexsudat nach Injektion physiol. Lösung, 3 mal gewaschen.

LII = Kaninchen-Leukozyten aus Citratblut durch wiederholtes Zentrifugieren in den obersten Schichten des Sediments isoliert und 3 mal gewaschen.

LIII = Ratten-Leukozyten aus Citratblut, wie LII gewonnen.

Bakterienaufschwemmung (B): 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 5^{ccm} physiol. Lösung je 15 gtt Serumverdünnung (= 5 gtt reines Serum) + 5 gtt B + 15 gtt L.

Präparate nach 1/2 Stunde, 50 Leukozyten gezählt.

		unerhitzt				erhitzt				phys. Lös.
		SI Proz.	SII Proz.	SIII Proz.	SIV Proz.	SI Proz.	SII Proz.	SIII Proz.	SIV Proz.	
Leukozyten	Meersch. LI	66	72	46	50	36	36	24	8	20
	Kaninchen LII	+*	+*	60 ¹	+*	ø*	ø*	12 ¹	ø*	ø*
	Ratte LIII	—*	+*	+*	80 ¹	ø*	—*	ø*	10 ¹	—*

¹ Spärliche, teilweise stark deformierte Leukozyten.

* In diesen Präparaten war eine Zählung nicht durchführbar, da die schwere Schädigung der Phagozyten die Erkennung der Zellgrenzen in den meisten Fällen unmöglich machte. Schätzungsweise bedeutet + häufige, deutliche Phagozytose; — gelegentliche, aber sichere Phagozytose, ø keine sichere Phagozytose.

Versuch XX.

Sera verschiedener Tiere (je 15 gtt).

S₁: Frisches Meersch.-Ser. durch Gerinnung gewonnen mit 2 Teilen physiol. Lösung verdünnt.

S₂: „ Katzen-Citratser. aus Blut m. 2 Teil. 1proz. Citratlsg. versetzt u. zentrif.

S₃: „ Hunde- „ „ „ „ „ „ „ „ „ „

S₄: 1 Tag alt. Kaninch.- „ „ „ „ „ „ „ „ „ „

S₅: 1 „ „ Ratten- „ „ „ „ „ „ „ „ „ „

Von jedem Serum ein Teil unerhitzt, der andere auf 61° durch 1/2 Stunde erhitzt.

Leukozyten verschiedener Tiere (je 15 gtt).

LI: Meersch.-Leukozyten aus dem Peritonealexsudat nach Injektion, 3 mal gewaschen.

LII: Katzen-Leukozyten aus dem Citratblut durch wiederholtes Zentrifugieren in den obersten Schichten des Sediments angereichert, 5 mal mit physiol. Lösung gewaschen.

Bakterienaufschwemmung (B) 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 5^{cem} physiol. Lösung je 15 gtt B. Präparate nach 1/4 und 3/4 Stunde. 50 Leukozyten gezählt.

		unerhitzt					erhitzt					phys. Lös.
		S ₁ Proz.	S ₂ Proz.	S ₃ Proz.	S ₄ Proz.	S ₅ Proz.	S ₁ Proz.	S ₂ Proz.	S ₃ Proz.	S ₄ Proz.	S ₅ Proz.	
Meerschw.	LI	72	24	56	—	—	12	10	16	—	—	12
	LII	88*	56	74*	—	—	18	16	28	—	—	20
Katze	LII	24	20	12	4 ³	ø ³	6	8	2	ø ²	ø ³	4
	LII	(52) ¹	72	50	12 ²	ø ³	(16) ¹	12	16	8 ²	ø ³	20

* Viele Leukozyten mit Kokken vollgepfropft.

¹ Wenige Leukozyten (nicht 50), diese aber scheinbar gut erhalten.

² Leukozyten sehr deformiert, schlecht gefärbt. (Verunreinigung mit Koli? durch das Serum.)

³ Leukozyten sehr deformiert, äußerst spärlich, aber auch sehr wenig Kokken sichtbar.

Versuch XXI.

Frisches Meersch.-Serum (SI) vom selben Tage.

Erhitztes " " (SII) auf 61° durch 1/2 Stunde erhitztes SI.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat 3 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmungen von je 10 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 10^{cem} physiol. Lösung.

BI = lebende Bakt.-Aufschw. BII = auf 61° durch 1/2 Stunde erhitzte Bakt.-Aufschw. Ein Teil der Aufschwemmung (BII) wurde mit dem entsprechenden Quantum SI oder SII durch 1 Stunde digeriert, dann von jedem Gemisch eine Partie auf 61° durch 1/2 Stunde erhitzt, die andere mit physiol. Lösung 3 mal unter möglichster Vermeidung von Bakterienverlust gewaschen und dann in dem ursprünglichen Volumen physiol. Lösung aufgeschwemmt. Alle Röhrchen erhalten 5 gtt L, 15 gtt Serum (oder physiol. Lösung) und 10 gtt Bakt. Präparate sofort und nach 1/2 Stunde.

vorher digeriert durch	10 gtt BII + 15 gtt SI		10 gtt BII + 15 gtt SII			10 gtt B + 15 gtt Ser. (Lsg.)	
	sofort	nach 1/2 ^h	sofort	nach 1/2 ^h		sofort	nach 1/2 ^h
1/4 ^h	40 Proz.	72 Proz.	14 Proz.	24 Proz.	Bakt. I + {	—	—
1 ^h	40 „	78 „	12 „	28 „		8 Proz.	18 Proz.
1 ^h und erhitzt	32 „ ²	44 „	12 „	24 „		16 „	24 „
1 ^h erhitzt, dann + 15 gtt SI	30 „	40 „	24 „	46 „	Bakt. II + {	32 „ ⁴	78 „
1 ^h u. gewaschen	30 „ ¹	62 „ ¹	— ³	28 „ ¹		14 „	26 „
1 ^h gewaschen, dann + 15 gtt SI	28 „ ¹	60 „ ¹	12 Proz.	36 „ ¹		16 „ ⁴	28 „ ⁴

¹ Deutlich verminderte Bakterienmenge; die Kokken schlechter gefärbt.

² Massenhaft angehäuften Kokken.

³ Fast keine Leukozyten oder Bakterien, unbrauchbar.

⁴ Viele Leukozyten schlecht gefärbt, deformiert.

Versuch XXII.

Sera: SI: Frisches unverändertes Meersch.-Serum vom selben Tage.

SII: Auf 61° durch 1/2 Stunde erhitztes SI.

AS₃: Absorptionsserum erhalten aus SI durch sukzessiven Zusatz von 120 gtt Bakterien in drei Portionen, digerieren lassen durch je 1/2 Stunde, dann jedesmaliges Abzentrifugieren (durch 1 Stunde bei höchster erreichbarer Geschwindigkeit, trotzdem in Kontrollausstrichen aus der überstehenden Serumflüssigkeit immer noch spärliche Kokken), hierauf weiterer B.-Zusatz. Ursprünglich 25 gtt SI verwendet; durch die Verdünnung mit physiol. Lösung entspricht 10 gtt AS₃ = 1 gtt SI.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat 3 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmung (B) von 10 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 10^{cem} physiol. Lösung, durch 1/2 Stunde auf 61° erhitzt (Kontrollplatten steril).

A. S.: Absorptionsserum wie in Vers. XXII aus 30 gtt SI durch sukzessiven Zusatz, Digerieren lassen, Abzentrifugieren und Wiederaufschwemmen von:

a) 240 gtt Bakt.-Aufschw. (B St) ergibt A S B,

b) 215 gtt sterile, feinste Karminpulveraufschw. in phys. Lsg. ergibt A S C. Meerschw.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat 4 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmungen: B St einer 24 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 20^{ccm} phys. Lösung durch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 120° erhitzt.

BM einer Milzbrandkultur analog B St.

BS₁ (Bakteriensediment) direkt aus dem Sediment nach Abzentrifugieren der behufs Gewinnung von A S B zuerst zugesetzten Portion B St (90 gtt B St + 30 gtt SI), und Wiederaufschwemmen in 90 gtt phys. Lsg.

BS₃ (Bakteriensediment) nach 3 maligem Waschen in physiol. Lösung aus der Hälfte von BS₁ (45 gtt).

Es entspricht ungefähr 1 gtt SI = 10 gtt A S B = 8 gtt A S C, ferner kam auf 3 gtt B Sediment 1 gtt SI. In jedes Röhrchen ad 50 gtt Serum + phys. Lsg. entsprechend 5 gtt SI, dann 15 gtt Bakt.-Aufschw. + 10 gtt L.

Präparate nach $\frac{1}{4}$ Stunde. — In 50 Leukozyten gezählt.

	I			II	
	+ B St	+ BM		BS ₁	BS ₃
	Proz.	Proz.		Proz.	Proz.
50 gtt A S B	82 ¹	20 ³	50 gtt ph. Lösung . . .	54	44
40 gtt A S C + 10 gtt ph. Lsg.	48 ²	20 ²	5 gtt SI + 45 gtt ph. Lsg.	60	52
5 gtt SI + 45 gtt „ „	68	52	5 gtt S II + 45 gtt „ „	60	52
5 gtt S II + 45 gtt „ „	30	16			
50 gtt ph. Lösung . . .	24	22			

¹ Kolossale Bakterienmengen.

² Frei und intrazellulär, massenhaft feine Karminkörnchen, die die Zählung behindern.

³ Kokken aus dem Serum stammend im Präparat.

Versuch XXV.

Sera: CSI = frisches Meerschw.-Serum vom Vortage.

CSII = auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitztes CSI.

Pf. SI = frisches Pferdeserum 3 Tage alt, auf Eis aufbewahrt.

Pf. SII = auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitztes Pf. SI.

AS = Absorptionsserum aus 30 gtt CSI durch mehrstündiges Digerieren und Abzentrifugieren von sukzessive in vier Portionen zugesetzten und wieder entfernten 400 gtt BII 1 gtt AS entspricht $\frac{1}{16}$ gtt CSI.

Allen diesen Seris fehlt nach dem Plattenversuch einzeln und in Kombination (Pf. SII + CSI) jede bakterizide Fähigkeit gegenüber Kontrollen mit physiol. Lösung für die verwendeten Staphylokokken.

Leukozyten (L) vom Meerschweinchen aus dem Peritonealexsudat, 3 mal gewaschen, je 20 gtt.

Bakterienaufschwemmungen: BII von 10 Ösen einer 24 stünd. Agarkultur von *Staphylococc. pyog. aur.* in 10^{cem} phys. Lösung, durch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 120° erhitzt.

BS₃ aus dem Sediment nach Abzentrifugieren der ersten Portion BII bei Gewinnung des AS (45 gtt BII + 30 gtt CSI) durch 3 mal wiederholtes Waschen in physiol. Lösung erhalten in der ursprünglichen Dichte aufgeschwemmt (3 gtt BS₃ entspricht 2 gtt CSI).

Präparate sofort und nach 1 Stunde. — 50 Leukozyten gezählt.

20 gtt L +	+ 10 gtt BII						+ 10 gtt BS ₃		
	2 gtt Pf.SI + 30 gtt ph. Lsg. in Prozenten	2 gtt Pf.SI + 30 gtt ph. Lsg. in Prozenten	2 gtt CSI + 30 gtt ph. Lsg. in Prozenten	2 gtt CSII + 30 gtt ph. Lsg. in Prozenten	32 gtt ph. Lsg. in Prozenten	32 gtt AS in Prozenten	2 gtt CSI + 30 gtt ph. Lsg. in Prozenten	2 gtt CSII + 30 gtt ph. Lsg. in Prozenten	32 gtt ph. Lsg. in Prozenten
sofort	18 ¹	8	24	4	10	16	24 ²	16	20
nach 1 Std.	26 ¹	8	78	20	30	14 ²	90*	60	60

* Viele Leukozyten mit Kokken vollgepropt.

¹ Leukozyten nach Form und Färbung gut erhalten.

² Sehr spärliche, und schlecht gefärbte Kokken.

Versuch XXVI.

S₁ = frisches Meersch.-Serum vom Vortage.

S₂ = auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitztes S₁.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudat, 3 mal gewaschen.

Bakterienaufschwemmung (B) einer 24 stünd. Agarkultur von *Staphylococcus pyog. aur.* in 5^{cem} physiol. Lösung.

Zuerst in alle Röhrechen 10 gtt B, dann Serum + physiol. Lösung (zusammen 15 gtt) zuletzt 10 gtt Leukozyten.

Präparate nach $\frac{1}{2}$ Stunde. — 50 bis 100 Leukozyten gezählt.

X = 15 gtt - Serum- quantität	0 gtt S ₂ Prozent	$\frac{1}{10}$ gtt S ₂ Prozent	1 gtt S ₂ Prozent	10 gtt S ₂ Prozent	15 gtt S ₂ Prozent	
X gtt ph. Lsg.	40	40	44	36	32	$\frac{1}{10}$ gtt S ₁ + X gtt ph. Lsg.
5 gtt S ₁ + (X-5) gtt ph. Lösung	92*	92*	90*	92* ¹	—	1 gtt S ₁ + X gtt ph. Lsg.
						15 gtt S ₁
						84 Proz.
						96 „ *
						96 „ *

* Manche Leukozyten mit Kokken vollgepropt.

¹ Leukozyten auffallend deformiert, schlecht gefärbt und undeutlich begrenzt.

Versuch XXVII.

Salzlösungen verschiedener Konzentration, hergestellt durch entsprechende Verdünnung einer gesättigten sterilen NaCl-Lösung mit sterilem, destillierten Wasser. Je 1^{cem} Salzlösung.

Meersch.-Leukozyten aus dem Peritonealexsudat 4 Stunden nach Injektion von 10^{cem} kalter physiol. NaCl-Lösung (0.85 prozent.), 3 mal in physiol. Lösung gewaschen, dann in 3^{cem} derselben aufgeschwemmt. Je 5 gtt.

Bakterienaufschwemmung einer 48 stünd. Agarkultur von Staphylococcus pyog. aur. in 3^{cem} einer 0.85 prozent. NaCl-Lösung. Je 5 gtt.

Präparate nach 1/2 Stunde. — 50 Leukozyten gezählt. In Lösungen vom NaCl-Gehalt:

Gehalt:	0.33proz.	0.5proz.	0.6proz.	0.67proz.	0.8proz.	0.85proz.	1proz.	2proz.	3proz.
	28 Proz. ¹	32 Proz. ¹	34 Proz.	38 Proz.	36 Proz.	40 Proz.	42 Proz.	44 Proz.	44 Proz.

¹ Leukozyten stark deformiert.

Versuch XXVIII.

Sera: SI = aktives (2 Tage altes) Meersch.-Serum im Eisschrank aufbewahrt.

SII = erhitztes Meersch.-Ser.; durch 1/2 Stunde auf 61° erhitztes SI.

ASSt = Staphyloc. Absorptionsserum wie in Vers. XXII und XXIV aus 5 gtt SI + 125 gtt BSt.

ASM = Milzbrand Absorptionsserum wie in Vers. XXII und XXIV aus 5 gtt SI + 125 gtt BM.

Die Bakterienaufschwemmungen wurden in 3 Partien sukzessive verwendet.

Meersch.-Leukozyten (L) aus dem Peritonealexsudate, 3 mal gewaschen, je 6 gtt.

Bakterienaufschwemmungen: BSt von vier ganzen 48stünd. Agarkulturen von Staphylococcus pyog. aur. in 7^{cem} physiol. Lösung, durch 1 Stunde auf 120° erhitzt (steril).

BM von drei ganzen 48stünd. Agarkulturen von Milzbrand in 10^{cem} physiol. Lösung durch 1 Stunde auf 120° erhitzt (steril).

BS₁ aus dem Sediment aus 2^{cem} BSt + 5 gtt SI (behufs Gewinnung von ASSt als erste Portion durch 1 Stunde digeriert und abzentrifugiert) in 2^{cem} physiol. Lösung aufgeschwemmt.

BS₃ aus BS₁, 3 mal in physiol. Lösung gewaschen und wieder im gleichen Volumen aufgeschwemmt.

1^{cem} Serum oder B.-Aufschw. = 25 gtt; 25 gtt (= 1^{cem}) AS stammt aus 1 gtt SI, ferner da auf 2^{cem} (= 50 gtt) B je 5 gtt SI verwendet wurden, entsprechen 10 gtt BS je 1 gtt SI.

Auf jedes Röhrchen 10 gtt Bakt.-Aufschw., dann 1^{cem} (Serum + physiol. Lösung), dann 6 gtt L.

Präparate nach 1/2 Stunde. — 50 bis 100 Leukozyten gezählt.

	1 ^{cem} phys. Lösg.	1 gtt SI + + 24 gtt phys. Lösg.	1 gtt SII + + 24 gtt phys. Lösg.	10 gtt SI + + 15 gtt phys. Lösg.	1 ^{cem} AS St	1 ^{cem} AS M
10 gtt BSt	32 Prozent	70 Prozent	34 Prozent	78 Prozent	36 Prozent	36 Prozent
10 gtt BS ₁	68 „	78 „				
10 gtt BS ₃	64 „	80 „				

Literatur-Verzeichnis.

Bordet, Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. *Annales de l'Institut Pasteur*. T. IX. p. 462. — Mode d'action des sérums préventifs. *Ebenda*. T. X. p. 193. — Sérum streptococcique. *Ebenda*. T. XI. p. 177.

Bulloch and Atkin, *Proceed. of the roy. soc.* Vol. LXXIV. p. 379.

Bulloch, Opsonic index in cases of tuberculosis. *Lancet*. 1905. I. p. 160.

Dean, Eine Experimentaluntersuchung über die die Phagozytose beeinflussenden Substanzen im Serum. *Centralblatt für Bakteriologie*. I. Ref. 1905. S. 349 u. 449.

Denys et Lecleff, Sur le mécanisme de l'immunité chez le lapin vacciné contre le streptocoque pyogène. *La cellule*. T. XI. p. 175.

Gruber u. Futaki, Seroaktivität u. Phagozytose. *Münchener med. Wochenschrift*. 1906. S. 249.

Hektoen and Ruediger, Studies in phagocytosis. *Journ. of infect. diseases*. II. p. 128.

Kraus und Pflibram, Über Beziehungen der Immunkörper zur präzipitogenen Substanz des Blutserums (Bakterienagglutinenen). *Centralblatt für Bakteriologie*. I. Orig. 1905. Bd. XXXIX. S. 72.

Levaditi, État de la cytase dans le plasma. *Annales de l'Institut Pasteur*. T. XV. p. 897.

Löhlein, Phagocytose des microbes pathogènes in vitro. *Ebenda*. T. XIX. p. 647.

Markl, Mechanismus der künstlichen Immunität gegen Pest. *Diese Zeitschrift*. 1903. S. 244.

Mennes, Das Antipneumokokkenserum und der Mechanismus der Immunität des Kaninchens gegen den Pneumococcus. *Ebenda*. Bd. XXV. S. 413.

Metschnikoff, *Immunität bei Infektionskrankheiten*. 1905.

Neufeld und Rimpau, Über die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokkenimmunserums. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1904. Nr. 40 u. 52. — Weitere Mitteilungen über die Immunität gegen Streptokokken und Pneumokokken. *Diese Zeitschrift*. Bd. II. S. 281.

Ruediger, The mechanism of streptococcus infection. *Journ. of the Amer. med. ass.* Vol. XLIV. p. 3.

Wright, A. E., Notes on the treatment of furunculosis, sycosis, acme by the inoculation of a staphylococcal vaccine. *Lancet*. 1902. I. p. 874. — A note on the serum reaction of tubercle. *Ebenda*. 1903. I. p. 1299. — Inoculations in cases of staphylococcal infection. *Ebenda*. 1904. I. p. 159. — On certain new methods of blood examination. *Ebenda*. 1904. I. p. 215. — Opsonins and their relation to immunity. *Ebenda*. 1904. II. p. 411.

Wright, A. E. and Douglas, An experimental investigation of the rôle of the blood fluids in connection with phagocytosis. *Proceed. of the roy. soc.* Vol. LXXII. p. 357. — On the action exerted upon the tubercle bacillus by human blood fluids (Opsonins). *Lancet*. 1904. II. p. 1138. — *Proceed of the roy. soc.* Vol. LXXIII. p. 129. Vol. LXXIV. p. 151.