Über thermostabile bakterizide Stoffe des Blutserums.

Von

Yoshijiro Ikegami.

(池上 芳次郎)

(Aus Prof. T. Kumagai's medizinischer Klinik der
Tohoku Universität zu Sendai.)

Schon früher wurde es von zahlreichen Autoren bestätigt, dass verschiedene Körperflüssigkeiten auf verschiedene Mikroorganismen abtötend wirken. Besonders wurde die bakterizide Fähigkeit des Blutes zuerst von Fodor (1887)¹⁾ und Nuttall (1888)²⁾ nachgewiesen und die Bakterizidie des Blutserums zuerst von Behring (1888)³⁾ und Buchner (1889).^{4,5)} Buchner nannte diesen im normalen frischen Blutserum enthaltenen bakteriziden Stoff "Alexin" und, auf seine vergleichenden Versuche der bakteriziden Wirkung des Serums mit der des Exsudates gestützt, glaubte er, dass die Alexine aus den lebenden Leukozyten sezerniert werden könnten. Hahn,⁷⁾ der zuerst nur bei reinen Leukozyten, welche aus den Exsudaten gewonnen waren, die bakterizide Wirkung prüfte, nahm an, dass die Serumalexine und die bakteriziden Leukozytenstoffe ganz identisch wären. Schattenfroh⁸⁻¹¹⁾ fand, dass zwischen Alexinen und Leukozytenstoffen einige wichtige Verschiedenheiten vorhanden sind, trotzdem betrachtete er die Leukozytenstoffe als die Quelle der Alexine.

Seit der grundlegenden Arbeit Schattenfrohs beschäftigten sich zahlreiche Forscher¹²⁻²⁶⁾ mit diesen Leukozytenstoffen. Vor allem entdeckte Pettersson,²⁷⁻³⁰⁾ dass diese Leukozytenstoffe von Alexinen ganz verschieden sind, und auf Grund seiner Versuche nannte er diese Stoffe "Endolysin," weil diese Stoffe erst nach grosser Schädigung der Leukozyten aus diesen austreten und darin irgendwie dem Endoenzym ähnlich sind. Auch Schneider⁴⁰⁻⁴³⁾ wies nach, dass diese beiden Stoffe ganz verschieden sind, aber im Gegensatz zu Pettersson dachte er, dass die Leukozytenstoffe von lebenden Leukozyten sezerniert werden, und, von diesem Gedanken

ausgehend, nannte er diese Stoffe "Leukin." Kling⁴⁰⁾ untersuchte verschiedene Eigenschaften der Leukozytenstoffe und kam zu gleichen Resultaten wie Pettersson.

Über thermostabile bakterizide Serumstoffe berichteten schon Behring und Nissen,⁴⁵⁾ Bonaduce⁴⁶⁾ und Pirenne,⁴⁷⁾ und in neuerer Zeit wurden diese Serumstoffe noch eingehender von Dold,⁴⁸⁾ Seiffert,⁴⁹⁻⁵¹⁾ Schou,⁵²⁾ Selter⁵³⁻⁵⁴⁾ und Pettersson⁵⁵⁾ untersucht, und infolgedessen zog dieses Thema die Aufmerksamkeit aller Welt auf sich. Über die Frage der Eigenschaften dieser Stoffe ist aber bisher nur wenig berichtet worden. Unsere nachfolgenden Versuche beziehen sich auf diesen Punkt.

Methodik.

Bevor wir auf unsere Versuche eingehen, müssen wir kurz die Methodik besprechen. Zu den Versuchen benutzten wir, neben Menschensera, Sera von Kaninchen, Meerschweinchen, Hunden, Hammeln, Rindern, Pferden u. Schweinen. Das Blut wurde beim Menschen aus den Hautvenen der Ellenbeuge, beim Kaninchen aus Ohrvenen, beim Meerschweinchen aus dem Herzen, beim Hunde aus Femoralisvenen und beim Hammel aus Jugularisvenen steril entnommen. Beim Rinde, Pferde und Schweine wurde das Blut beim Schlachten der Tiere möglichst steril aufgefangen. Das aus diesem Blute gewonnene frische Serum wurde in Mengen von 0,5 ccm in schmale Reagenzröhrchen gefüllt und teils direkt, teils nach Inaktivierung durch meistens halbstündiges Erwärmen im Wasserbad bei 56°C zu Versuchen benutzt.

Als Testbakterien wählten wir in der Regel Bac. Typhi aus, aber bei ganz besonderen Versuchen benutzten wir noch verschiedene andere Bakterienarten. Wir benutzten zur Prüfung immer die Bakterien von 24 stündiger Bouillonkultur im Brutschrank bei 37°C.

Als Prüfungsmethode der bakteriziden Wirkung wurde die Buchner'sche Plattenmethode gewählt, aber in Einzelheiten etwas verschieden ausgeführt. Wir gaben eine kleine Öse aus einer Bouillonkultur von Testbakterien auf 5 ccm Bouillon und beimpften hiervon eine kleine Öse voll in die zu prüfenden Serumröhrchen. Zur Kontrolle wurde 0,5 ccm Bouillon mit der gleichen Bakterienmenge beimpft. Sofort nach der Beimpfung wurde eine kleine Öse den Röhrchen entnommen und bei Streptococcus, Pneumokokken besonders dem auf 50°C gelösten Blutagar und bei anderen Bakterienarten dem auf 50°C gelösten gewöhnlichen Nähragar beigemischt und in eine Petri'sche Schale ausgegossen, und dann wurden

alle Schalen in dem Brutschrank bei 37°C 24—48 Stunden lang gelassen. Nach der Beimpfung kamen sämtliche Röhren in den Brutschrank bei 37°C und nach bestimmter Zeit, d.h. nach 4 oder 14 und 24 Stunden, wurde obiges Verfahren wiederholt. Darauf wurden die auf den Platten gewachsenen Kolonien gezählt, und nach der Kolonienzahl beurteilten wir die bakterizide Wirkung der Sera. Als Massstab der bakteriziden Wirkung bestimmten wir der Einfachheit halber Folgendes: Wenn die Kolonienzahl nach 24 stündiger Bebrütung null oder weniger als diejenige der sofort nach der Bakterienbeimpfung ausgeführten Plattenkultur war, so sind diese Sera bakterizid; wenn erstere Zahl höher als letztere ist, so sind die Sera entwicklungshemmend; wenn erstere reichlich (mehr als etwa Tausend) oder gar unzählbar ist, dann sind die Sera nicht bakterizid.

Tabelle I.

Menschenserum: aktiv und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert, 0,5 ccm benutzt.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Menschen-Nr.	Krankheitsname	Kolonienzahl auf den Platten					
		sofort nach Aussaat		nach 4 Stunden		nach 24 Stunden	
		aktiv	in-aktiv	aktiv	in-aktiv	aktiv	in-aktiv
1	Typhus abdominalis	18	23	0	40	0	11
2	Typhusreconvalescenz	2	28	0	22	0	3
3	Paratyphus B	—	23	—	29	—	0
4	do	—	46	—	48	—	3
5	Appendicitis	1	0	0	3	0	0
6	do	—	21	—	32	—	0
7	Dysenterie	—	24	—	17	—	0
8	do	—	38	—	32	—	1
9	Lungentuberculose	10	8	0	41	0	3
10	do	—	34	—	22	—	0
11	do	—	46	—	77	—	0
12	Spitzenkatarrh	1	12	7	34	0	2
13	do	3	21	0	51	0	0
14	Nephritis chronica	0	13	0	38	0	2
15	do	—	31	—	45	—	2
16	do	—	12	—	19	—	3
17	Magenkrebs	0	7	0	16	0	2
18	Magengeschwür	7	11	0	18	0	0
19	do	—	28	—	29	—	1
20	Morbus Basedowii	83	63	0	128	0	reichl.
21	Pleuritis exsudativa	0	21	0	19	0	15
22	Amyotr. Lateralisclerose	35	32	0	43	0	26
23	Spast. Spinalparalyse	4	73	0	84	0	reichl.
24	Gesund	4	11	0	11	0	0
25	do	2	5	0	14	0	3
26	do	6	9	0	12	0	1
27	do	10	5	0	13	0	0
28	do	10	10	0	15	0	0

Bei Ausführung dieser Methode müssen wir besonders folgende zwei Punkte berücksichtigen: erstens, dass die Zahl der eingesäten Bakterien sehr gering d.h. einige Hunderte, sein muss, weil die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe nur in ziemlich beschränkter Menge vorhanden sind; zweitens, dass auf alle Fälle die Prüfung mit der 24 Stunden im Brutschrank belassenen Probe gemacht werden muss, weil es ziemlich langer Zeit bedarf, bis die höchste Wirksamkeit erreicht ist.

**I. Untersuchungen über thermostabile bakterizide Serumstoffe
sowohl der Menschen als der Tiere, im Vergleich
mit den Serumalexinen.**

Vor allem untersuchten wir, in welchen Menschen- und Tierarten diese Serumstoffe gefunden werden und auch, wie weit diese mit den Serumalexinen zu vergleichen sind.

Versuch 1.

Zu diesem Zweck prüften wir mit frischen Sera und solchen, deren Alexine durch $\frac{1}{2}$ stündige Erhitzung bei 56°C vernichtet worden waren.

Sämtliche Versuchsergebnisse sind in Tabelle I u. II enthalten. Aus Tabelle I lässt sich Folgendes zusammenfassen: alle 18 aktiven Sera sowohl der Gesunden als auch der Kranken besitzen bakterizide Fähigkeit gegenüber Typhusbazillen, aber von den untersuchten 28 inaktiven Sera wirken 26 bakterizid, nur zwei (Nr. 20 u. 23) nicht. Tabelle II zeigt die Ergebnisse der Tiersera. Alle aktiven Tiersera haben bakterizide Wirkung auf Typhusbazillen, aber bei inaktiven Sera ist es ganz verschieden. Alle 6 inaktiven Schweinesera wirken bakterizid. Von 5 Hundesera besitzen 4 bakterizide Wirkung, aber 1 wirkt entwicklungshemmend. Von 4 Pferdesera wirken 1 bakterizid, aber die anderen 3 nicht bakterizid. Von 6 Hammelsera wirken 2 entwicklungshemmend, aber die anderen 4 nicht keimtötend. Die Sera von anderen Versuchstieren (5 Kaninchen, 4 Meerschweinchen und 4 Rindern) wirken sämtlich nicht bakterizid.

Bei diesen Versuchen von Menschen und Tieren war es besonders auffallend, dass die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe nicht immer mit Serumalexinen zusammen vorhanden waren und dass bei allen aktiven Sera die Wirkung sehr schnell eintrat, d.h. die Kolonienzahl schon nach 4 Stunden nicht oder nur vereinzelt gefunden wurde, aber dass bei inaktiven Sera die Kolonienzahl sich nach 4 Stunden nicht verminderte, sondern vielmehr etwas vermehrte und erst nach 24 Stunden die Bakterizidie sich äusserte.

Tabelle II.

Tierserum: aktiv und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert, 0,5 ccm benutzt.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Tierarten	Tier-Nr.	Kolonienzahl auf den Platten					
		sofort nach Aussaat		nach 4 Stunden		nach 24 Stunden	
		aktiv	in-aktiv	aktiv	in-aktiv	aktiv	in-aktiv
Schwein	1	3	12	0	25	0	0
	2	2	7	0	13	0	8
	3	13	13	0	32	0	0
	4	25	32	0	44	0	4
	5	29	22	0	62	0	10
	6	20	54	0	71	0	7
Hund	1	34	47	7	73	0	42
	2	80	54	8	135	0	645
	3	44	81	0	14	0	11
	4	16	15	5	16	0	0
	5	13	13	8	30	0	0
Pferd	1	—	24	—	30	—	reichl.
	2	—	9	—	16	—	reichl.
	3	5	4	0	18	0	4
	4	4	7	0	19	0	1000
Hammel	1	28	56	2	126	0	493
	2	20	66	0	78	0	∞
	3	91	96	1	181	0	∞
	4	37	9	3	45	0	∞
	5	40	13	0	61	0	42
	6	38	30	1	57	0	∞
Kaninchen	1	9	10	0	23	0	∞
	2	2	13	0	48	0	∞
	3	8	24	0	90	0	∞
	4	14	2	4	19	0	∞
	5	9	5	2	14	0	∞
Meerschweinchen	1	7	0	8	13	0	reichl.
	2	13	4	5	37	0	∞
	3	—	20	—	154	—	∞
	4	—	22	—	152	—	∞
Rind	1	5	9	0	16	0	reichl.
	2	8	28	0	38	0	reichl.
	3	1	8	0	22	0	∞
	4	7	11	0	13	0	reichl.

II. Über die Beziehung der Immunität zu thermostabilen bakteriziden Serumstoffen.

Nach Seiffert,^{49,51)} der die bakterizide Wirkung gegenüber verschiedenen Bakterienarten mit inaktiven Sera von zahlreichen Menschen- und Tierarten prüfte, findet ein bestimmter Zusammenhang zwischen thermostabilen bakteriziden Serumstoffen und natürlicher und künstlich erzeugter Immunität statt, d.h. wenn ein endotoxinbildender Erreger durch ein inaktives Serum von einem Organismus abgetötet wird, so ist dieses Individuum für diesen Erreger empfänglich, aber wenn dieser Erreger nicht abgetötet wird, so zeigt das, dass dieser Organismus durch diesen Erreger nicht infizierbar ist, aber beim Erreger von septikämischer Natur ist dieses Verhältnis gerade umgekehrt, und Seiffert gelang es nicht, beim Erreger der Toxikose ein bestimmtes Verhältnis festzustellen. Er untersuchte noch eingehender diese Korrelation mit Typhusbazillen und wies nach, dass, während normale Menschensera auf Typhusbazillen bakterizid wirken, die Sera von den Menschen, die an Typhus erkrankt oder gegen Typhus schutzgeimpft waren, keine Wirkung haben. Diese Erscheinung hat daher klinisch grosse Bedeutung, um die Empfänglichkeit eines Individuums für Typhuserkrankung zu erkennen. Aber Schou⁵²⁾ und Selter⁵³⁾ fanden durch Nachprüfung diese Seiffertschen Versuche nicht bestätigt.

Wir stellten die folgenden Versuche an, um die interessanten Seiffertschen Untersuchungen nachzuprüfen.

Versuch 2.

In erster Linie prüften wir die bakterizide Kraft der inaktiven Sera von Typhuskranken, von früher an Typhus Erkrankten und von gegen Typhus Schutzgeimpften. Tabelle III lässt erkennen, dass unter den geprüften 28 Sera nur die zwei, welche von Typhuskranken im Rekonvaleszenzstadium entnommen waren, entwicklungshemmend, aber die anderen bakterizid wirken.

Versuch 3.

Ferner führten wir den folgenden Versuch aus, um festzustellen, ob die thermostabilen Stoffe der Hundesera, welche von vornherein bakterizide Fähigkeit gegen Typhusbazillen haben, durch Immunisierung des Hundes mit Typhusbazillen verloren gehen.

Tabelle III.

Menschenserum: $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert, 0,5 ccm benutzt.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Menschen-Nr.	Art der Sera		Kolonienzahl auf den Platten		
			sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
1	Typhus abdom.,	2. Woche	33	56	6
2	" "	3. "	23	40	11
2	" "	5. "	11	21	1
3	" "	4. "	9	31	0
4	" "	5. "	37	35	8
4	Typhus-Rekonvaleszenz,	" "			
5	" "	7. "	20	22	0
6	" "	6. "	7	27	0
7	" "	6. "	36	35	2
8	" "	6. "	16	39	7
8	" "	7. "	43	43	15
9	" "	8. "	28	22	3
9	" "	11. "	14	7	0
10	Typhus abdom., vor 2 Jahren		9	11	1
11	" "	" 4 "	17	17	0
12	" "	" 8 "	25	62	0
13	Schutzimpfung mit Typhusbazillen, vor 4 Monaten		4	8	4
14	" "	" " "	11	4	4
15	" "	" " "	20	18	0
16	" "	" " "	19	9	10
17	" "	" 6 "	8	167	6
18	" "	" 11 "	12	19	78
19	" "	" " "	5	27	2
20	" "	" 1 Jahre	24	44	2
21	" "	" " "	26	36	48
22	" "	" " "	33	37	4
23	" "	" " "	33	38	0
24	" "	" " "	9	11	1
25	" "	" 3 Jahren	17	34	8

Wir impften einen Hund mit bei 60° $\frac{1}{2}$ St. lang erhitzten Typhusbazillen, zuerst mit $\frac{1}{2}$ Agar und dann nach einer Woche mit 1 Agar. Einerseits beobachtete man den Grad der Immunisierung an der Agglutinationsreaktion, anderseits prüfte man die bakterizide Wirkung der inaktiven Sera, welche nach mehreren kleinen Pausen dem Hunde entnommen worden waren.

Aber, wie Tabelle IV u. Tabelle V zeigen, blieb jede Wirkung aus, es zeigte sich weder eine Vermehrung noch eine Verminderung.

Tabelle IV.

Hund: Nr. I; ♂, weiss, 5,5 kg.

Serum: $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert, 0,5 ccm benutzt.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Zeit	Agglutinationstiter	Kolonienzahl auf den Platten		
		sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
vor Injektion	1:50 (—)	12	7	1
vor Injektion	1:50 (—)	8	13	12
$\frac{1}{2}$ Schrägagar von Typhusbazillen s.c. injiziert.				
nach 1 Woche	1:2 000	22	20	0
nach 1 Woche 1 Schrägagar von Typhusbazillen s.c. injiziert.				
nach 2 Wochen	1:10 000	15	15	0
nach 4 Wochen	1:5 000	17	9	0
nach 5 Wochen	1:2 000	31	106	38
nach 12 Wochen	1:200	20	26	18
nach 13 Wochen	1:200	17	28	17
nach 14 Wochen	1:100	8	6	5

Tabelle V.

Hund: Nr. II; ♂, braun, 8 kg.

Serum: $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert, 0,5 ccm benutzt.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Zeit	Agglutinationstiter	Kolonienzahl auf den Platten		
		sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
vor Injektion	1:50 (—)	3	7	9
vor Injektion	1:50 (—)	9	7	78
$\frac{1}{2}$ Schrägagar von Typhusbazillen s.c. injiziert.				
nach 4 Tagen	1:200	4	12	12
„ 1 Woche	1:1 000	8	22	8
nach 1 Woche 1 Schrägagar von Typhusbazillen s.c. injiziert.				
nach 11 Tagen	1:1 000	7	11	24
„ 2 Wochen	1:2 000	12	32	22
„ 18 Tagen	1:1 000	8	0	0
„ 3 Wochen	1:1 000	7	4	44
„ 4 Wochen	1:1 000 ($\pm$)	0	2	6
„ 32 Tagen	1:500	3	2	0
„ 5 Wochen	1:500	8	4	6
„ 39 Tagen	1:500	17	10	0
„ 6 Wochen	1:500	3	18	35
„ 46 Tagen	1:200	8	32	4
„ 7 Wochen	1:200	18	17	9
„ 53 Tagen	1:200	15	24	3
„ 8 Wochen	1:200	10	26	4
„ 9 Wochen	1:200	11	11	3
„ 10 Wochen	1:200	3	7	0
„ 12 Wochen	1:200	6	15	4

Nach den Seiffertschen Untersuchungen besitzen inaktive Sera von gegen Typhus unempfindlichen Tieren keine bakterizide Wirkung auf Typhusbazillen, aber unsere Untersuchung (Versuch 1, Tabelle II) zeigt, dass die inaktiven Sera von Schweinen und Hunden, welche beide gegen Typhus unempfindlich sind, keimtötend wirken.

Gestützt auf obige Versuche können wir den Schluss ziehen, dass thermostabile bakterizide Serumstoffe, im Gegensatz zu Seiffert, in keiner Beziehung zur natürlichen oder künstlich erzeugten Immunität stehen.

III. Sind thermostabile bakterizide Serumstoffe mit den bakteriziden Leukozytenstoffen identisch?

Die vielen Verschiedenheiten der Eigenschaften zwischen bakteriziden Leukozytenstoffen und Serumalexinen wurden von zahlreichen Forschern aufgezählt, und es wurde bestätigt, dass die beiden Stoffe nicht zu identifizieren sind, aber über die Eigenschaften der thermostabilen bakteriziden Serumstoffe und ihre Beziehung zu den bakteriziden Leukozytenstoffen wurden nur wenige Berichte veröffentlicht. Dold⁴⁸⁾ wies nach, dass die bakterizide Wirkung von Blut, Plasma und Serum der Menschen gegen virulente Pneumokokkenstämme beim akuten fieberhaften Zustande sich vermehrt. Ferner entdeckte er, dass, weil diese Stoffe durch halbstündiges Erhitzen bei 56°C nicht zerstört werden, diese Stoffe mit Leukin im Sinne Schneiders identisch sind.

Selter⁵⁴⁾ stellte vergleichende Versuche an über die bakterizide Wirkung zwischen den thermostabilen menschlichen Serumstoffen und den aus frischem Abszesseiter extrahierten Leukozytenstoffen, die von dem betreffenden Menschen entnommen wurden, und fand zwischen diesen beiden Stoffen folgende drei gemeinsame Eigenschaften—erstens: Dass beide Stoffe gleich thermostabil sind, aber die Serumstoffe erst nach halbstündigem Erhitzen bei 70°C ihre Wirkung verlieren und die Wirkung der Leukozytenstoffe gar erst durch halbstündiges Erhitzen bei 80°C zerstört wird; zweitens: Dass beide Stoffe auf eingesäte Bakterien in der Regel gleichartig wirken, d.h. auf Dysenterie- u. Pseudodysenteriebazillen stärker als auf Typhusbazillen, Paratyphus-A-bazillen, Paratyphus-B-bazillen u. Colibazillen; drittens: Dass beide Stoffe durch das Absorptionsverfahren mit Bakterien nicht absorbiert werden können. Dadurch glaubte Selter, dass diese beiden Stoffe identisch sind und nicht zur Rezeptorengruppe nach Ehrlich, sondern zum einfach gebauten, fermentartigen Antikörper gehören. Neuerdings wurde von Pettersson⁵⁵⁾ behauptet, dass im Serum

zwei verschiedene bakterizide Stoffe vorhanden sind: der eine sei das Buchnersche Alexin (α -Lysin), der andere β -Lysin. Wir können annehmen, dass dieses sogenannte β -Lysin seiner Eigenschaft nach mit dem Leukozytenstoff identisch ist.

Folgende Versuche wurden angestellt, um zu prüfen, ob die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe und die bakteriziden Leukozytenstoffe gemeinsame Eigenschaften haben und ob beide Stoffe identisch sind.

Gewinnungs- und Prüfungsmethoden der Leukozytenstoffe. Die bakterizide Kraft und die Eigenschaften der Leukozytenstoffe setzen verschiedene Bedingungen voraus; besonders sind sie abhängig von den Tierarten, von denen Leukozyten gewonnen werden, und den Extraktionsmethoden der Leukozyten und den Arten der Testbakterien. Für unsere Untersuchungen wählten wir als Versuchstiere zur Gewinnung von Leukozyten Kaninchen aus, weil es, wie allgemein bekannt, bei Kaninchen verhältnismässig leicht ist, von für die Bakterizidie störend wirkenden Erythrozyten freie polymorphkernige Leukozyten zu gewinnen, und weil auch von Kaninchenleukozyten extrahierte bakterizide Stoffe im allgemeinen stärker als solche von anderen Tieren wirken.

Unter den vielen Methoden zur Extrahierung bakterizider Stoffe aus Leukozyten sind die Buchnersche und Schneidersche als die zwei besten bekannt. Aber für unsere Versuche ist die Schneidersche Methode nicht geeignet, weil bei ihr die Leukozytenstoffe durch Digestion in Leukozyten aufschwemmender Kochsalzlösung unter Zusatz von inaktivem 5% Serum gewonnen werden. Daher kann Zusatz von Serum, auch wenn es wenig und inaktiv ist, irgend einen Einfluss auf die eigentliche Wirkung der Leukozytenstoffe ausüben. Demgemäss wählten wir die Buchnersche Methode aus.

Um leukozytenreiches Exsudat zu bekommen, injiziert man am Morgen 50 ccm Bouillon in die Bauchhöhle von Kaninchen und am Abend wieder eine gleiche Menge; dann kann man am nächsten Morgen gewöhnlich das Exsudat entnehmen. Hierauf lässt man das Kaninchen innerhalb 24 Stunden aus Arteria carotis verbluten. Dann wird durch aseptische Operation die Bauchhöhle geöffnet und mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült. Das mit der Spülflüssigkeit verdünnte Exsudat wird abpipettiert und dann sofort zentrifugiert. Die durch die Zentrifugierung angesammelten Leukozyten werden wiederum in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und wieder zentrifugiert. Dieses Verfahren wird noch zweimal wiederholt. Auf diese Weise werden Leukozyten von Bouillonresten und anderen Substanzen befreit.

Die Exsudatzellen, die durch diese Methode gewonnen werden, bestehen fast ausschliesslich aus pseudococinophilen Leukozyten, aber ausserdem findet man noch, aber nur ganz spärlich, grosse mononukleäre Leukozyten, Lymphozyten und Erythrozyten.

Die so gewonnenen Leukozyten werden dann nach der Buchnerschen Methode extrahiert. Die Leukozyten werden in einigen ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und diese Aufschwemmung wird 20 Minuten im Eiskochsalzgemisch gefroren und danach 10 Minuten lang in 37°C warmem Wasser aufgetaut. Dieses Verfahren wird dreimal wiederholt, dann wird 20 Minuten lang bei 37°C digeriert und durch starke Zentrifugierung völlig klarer Extrakt gewonnen.

Bei diesem Verfahren muss man besonders darauf achten, die Digestion über eine halbe Stunde lang durchaus zu vermeiden, weil durch zu lange dauernde Digestion Bakteriennährstoffe aus spontan absterbenden Leukozyten in die Flüssigkeit übertreten.

Wenn man dieses Extrakt bei 56°C oder bei noch höherer Temperatur erhitzt, wird es getrübt. Diese Trübung ist durch nochmalige Zentrifugierung zu beseitigen.

Was die Prüfungsmethode der bakteriziden Wirkung von Leukozytenstoffen anbetrifft, so ist die gleiche Methode wie bei den thermostabilen bakteriziden Serumstoffen angewandt worden.

A. Resistenz gegen Erwärmung beider Stoffe.

Eine ausgezeichnete Eigenschaft der bakteriziden Leukozytenstoffe liegt in ihrer Thermostabilität, aber ihr Grad ist je nach den Tierarten, aus denen Leukozyten gewonnen werden, und je nach der Gewinnungsmethode der Leukozytenstoffe sehr variabel. Über die Hitzebeständigkeit der Kaninchenleukozytenstoffe selbst wurden verschiedene Berichte veröffentlicht. Nach Untersuchungen von Schattenfroh,⁸⁾ der die bakterizide Wirkung auf Typhusbazillen mit den durch seine eigene Extraktionsmethode gewonnenen Kaninchenleukozytenextrakten prüfte, geht die Wirkung durch halbstündiges Erwärmen bei 56°C verloren. Schneider^{46,47)} wies nach, dass durch die Buchnersche Methode gewonnene Kaninchenleukozytenextrakte durch $\frac{1}{2}$ –1 stündiges Erhitzen bei 55°–60°C ihre Wirksamkeit auf Typhusbazillen zuweilen vollständig oder teilweise verlieren, aber durch seine eigene Methode gewonnenes Extrakt erst bei 80°C. Nach Zinsser²¹⁾ geht ihre Wirkung gegenüber Typhusbazillen bei 75°C verloren, und nach Manwaring²⁴⁾ ist ihre Kraft bei 80°C noch

nicht vollständig zerstört. Inbetreff der Thermoresistenz der bakteriziden Serumstoffe gibt es nur eine Angabe von Selter,⁵⁴⁾ nach welcher die bakterizide Wirkung der Menschensera durch Erhitzen bei 65°—70°C vollständig zerstört wird.

Tabelle VI.

Kaninchen: ♂, weiss, 1,8 kg.

Leukozytenextrakt: 0,21 g Leukozyten in 3 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 10 Stunden	nach 24 Stunden
0,5 ccm akt. Leuk.-Extrakt	2	0	0
„ „ Leuk.-Extrakt bei 56°C erhitzt	12	reichl.	∞
„ „ „ „ 65°C „	7	∞	∞
„ „ „ „ 70°C „	13	∞	∞
„ „ „ „ 80°C „	7	∞	∞
„ „ akt. Kan.-Serum	10	0	0
„ „ Kan.-Serum bei 56°C erhitzt	9	479	∞
„ „ 0,85 % Kochsalzlösung	8	∞	∞

Tabelle VII.

Kaninchen: ♂, bunt, 1,9 kg.

Leukozytenextrakt: 0,36 g Leukozyten in 4 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 14 Stunden	nach 24 Stunden
0,5 ccm akt. Leuk.-Extrakt	1	0	0
„ „ Leuk.-Extrakt bei 56°C erhitzt	5	18	0
„ „ „ „ 65°C „	4	16	12
„ „ „ „ 70°C „	11	∞	∞
„ „ „ „ 80°C „	3	∞	∞
„ „ akt. Kan.-Serum	15	0	0
„ „ Kan.-Serum bei 56°C erhitzt	8	reichl.	∞
„ „ 0,85 % Kochsalzlösung	7	reichl.	∞

Versuch 4.

Durch Injektion von Bouillon in die Bauchhöhle eines Kaninchens gewonnene Leukozyten wurden nach Buchnerscher Methode extrahiert.

Dieses Leukozytenextrakt wurde in Mengen von 0,5 ccm in kleine Glasröhrchen gefüllt und bei verschiedenen Temperaturen im Wasserbad 30 Minuten lang erwärmt und dann nach Beseitigung der durch Erwärmung hervorgebrachten Trübung mittels Zentrifugierung seine bakterizide Wirkung auf Typhusbazillen geprüft. Gleichzeitig wurde noch das beim Verbluten des Kaninchens aus Arteria carotis gewonnene Blutserum in gleicher Weise geprüft.

Unsere Versuchsergebnisse (Tabelle VI u. VII) zeigen, dass während Kaninchensera durch halbstündiges Erhitzen bei 56°C ihre Wirksamkeit immer verloren, die Wirkung der Leukozytenstoffe bald durch Erhitzen bei 56°C, bald bei 70°C verloren ging.

Tabelle VIII.

Menschensera: Nr. I; H. N., ♂, Typhusrekonvaleszenz.

Nr. II; G. K., ♂, Tabes dorsalis.

Nr. III; T. S., ♂, Hirntumor.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Sera		Kolonienzahl auf den Platten		
		sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
Nr. I.	0,5 ccm akt. Serum	9	1	0
	" " Serum bei 56°C erhitzt	11	6	11
	" " " " 60°C "	7	18	21
	" " " " 65°C "	25	18	reichl.
	" " " + 0,5 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 65°C erhitzt	8	13	∞
	" " " + 1 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 70°C erhitzt	12	65	∞
Nr. II.	0,5 ccm akt. Serum	6	6	0
	" " Serum bei 56°C erhitzt	5	6	1
	" " " " 60°C "	8	7	1
	" " " " 65°C "	4	16	reichl.
	" " " + 0,5 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 70°C erhitzt	10	48	∞
Nr. III.	0,5 ccm akt. Serum	11	1	0
	" " Serum bei 56°C erhitzt	5	7	3
	" " " " 60°C "	1	8	0
	" " " " 65°C "	10	15	21
	" " " + 0,5 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 70°C erhitzt	12	32	∞

Versuch 5.

Menschensera werden dickflüssig oder koagulieren durch halbstündiges Erhitzen bei 65°—76°C. Deshalb setzten wir gleich vor dem Erhitzen der Sera bei 65°C oder noch höherer Temperatur 0,5 ccm oder 1 ccm physiologische Kochsalzlösung zu. Da die zu prüfenden Sera mit physiol. NaCl-Lösung zweifach oder dreifach verdünnt waren, entnahmen wir bei der Ausführung des Plattengiessens 2 Ösen aus den zweifach verdünnten Sera und 3 Ösen aus den dreifach verdünnten Sera, wonach die Bakterienzahl der unverdünnten Sera gleich sein muss.

Tabelle VIII zeigt, dass die Wirkung der 3 Krankensera durch Erhitzen bei 65°—70°C vollständig zerstört war. Dieses Resultat stimmt also mit dem Selterschen Ergebnis⁵⁴⁾ überein.

Tabelle IX.

Serum: Nr. I; Hund, ♀, bunt, 5 kg.

Nr. II; Hund, ♂, bunt, 6,5 kg.

Nr. III; Hund, ♂, weiss, 6,2 kg.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Sera		Kolonienzahl auf den Platten		
		sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
Nr. I.	0,5 ccm akt. Serum	9	0	0
	„ „ Serum bei 56°C erhitzt	6	2	2
	„ „ „ „ 60°C „	8	13	875
	„ „ „ „ 65°C „	3	6	∞
	„ „ „ + 0,5 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 65°C erhitzt	3	48	∞
	„ „ „ + 0,5 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 70°C erhitzt	7	70	∞
Nr. II.	0,5 ccm akt. Serum	7	2	0
	„ „ Serum bei 56°C erhitzt	4	18	251
	„ „ „ „ 60°C „	5	11	51
	„ „ „ „ 65°C „	11	17	∞
	„ „ „ + 0,5 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 65°C erhitzt	10	14	∞
	„ „ „ + 1 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 70°C erhitzt	13	87	∞
Nr. III.	0,5 ccm akt. Serum	16	3	0
	„ „ Serum bei 56°C erhitzt	13	32	0
	„ „ „ „ 60°C „	21	48	205
	„ „ „ „ 65°C „	16	93	∞
	„ „ „ + 1 ccm physiol. NaCl-Lös. bei 70°C erhitzt	16	120	∞

Versuch 6.

Mit der gleichen Methode, wie bei dem vorigen Versuche, wurde die Hitzebeständigkeit des Hundserums geprüft.

Tabelle IX zeigt, dass die Wirkung der 3 Hundesera durch halbstündiges Erhitzen bei 60°C teilweise und durch das bei 65°C vollständig zerstört wurde.

B. Haltbarkeit der Bakterizidie im Eisschrank.

Schneider⁴¹⁾ bestätigte, dass Kaninchenleukozytenextrakte, die 9 Monate lang im Eisschrank aufbewahrt waren, noch bakterizide Kraft gegen Typhusbazillen hatten.

Versuch 7.

Bei diesem Versuche wurden Kaninchenleukozytenstoffe auch durch die Buchnersche Methode gewonnen. Leukozytenextrakte wurden in Mengen von 0,5 ccm in schmale Glasröhrchen gefüllt und vor dem Einstellen in den Eisschrank $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C erhitzt, dann wurden alle diese Röhrchen, mit Wachs wohl verschlossen, im Eisschrank aufgehoben.

Tabelle X.

Kaninchen: ♂, weiss, 1,86 kg.

Leukozytenextrakt: 0,35 g Leukozyten in 4,5 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Kan.-Leuk.-Extrakte	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 15 Stunden	nach 24 Stunden
0,5 ccm inakt. Leuk.-Extrakt, sofort	2	0	0
" " " " " ,1 Monat alt	20	2	0
" " " " " ,2 Monaten alt	2	112	reichl.

Tabelle X zeigt, dass die Wirksamkeit der Kaninchenleukozytenextrakte nach 1 Monat unverändert blieb, aber nach 2 Monaten vollständig erloschen war.

Versuch 8.

3 Krankensera wurden $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C erhitzt und dann in wohlgeschlossenen Röhrchen im Eisschrank aufbewahrt.

Tabelle XI.

Menschensera: Nr. I; H.S., ♂, Amyotrophische Lateralsklerose.

Nr. II; G.S., ♂, Magenkrebs.

Nr. III; S.O., ♂, Paroxysmale Hämoglobinurie.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Sera		Kolonienzahl auf den Platten		
		sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
Nr. I.	0,5 ccm inakt. Menschenserum, sofort	5	23	0
	„ „ „ „ „ 2 Wochen alt	6	21	6
	„ „ „ „ „ 1 Monat „	4	13	5
	„ „ „ „ „ 2 Monaten „	26	20	20
Nr. II.	„ „ „ „ „ sofort	15	24	2
	„ „ „ „ „ 2 Wochen alt	9	28	0
	„ „ „ „ „ 1 Monat „	3	9	2
	„ „ „ „ „ 2 Monaten „	21	23	130
	„ „ „ „ „ 3 „ „	3	14	67
Nr. III.	„ „ „ „ „ sofort	6	8	0
	„ „ „ „ „ 2 Wochen alt	5	17	0
	„ „ „ „ „ 1 Monat „	8	14	0
	„ „ „ „ „ 2 Monaten „	21	8	24
	„ „ „ „ „ 3 „ „	10	10	11

Tabelle XI zeigt uns, dass die Menschensera nach 2 oder 3 Monaten ihre bakterizide Wirkung noch fast unverändert bewahrt hatten.

C. Extraktion mittels Äthers.

Von Manwaring,²⁴⁾ Schneider⁴¹⁾ und Kling⁴⁴⁾ ist bestätigt, dass die bakteriziden Leukozytenstoffe durch Extraktion mittels Äthers nicht in Äther übergehen, sondern sich ungeschwächt im Rückstand finden. Pettersson³³⁾ untersuchte die Löslichkeit dieser Stoffe in Alkohol und in einer Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Äther und kam zu gleichen Resultaten wie die obigen drei Forscher.

Daraus zogen diese vier Autoren den Schluss, dass die Leukozytenstoffe nicht als Lipoiden zu betrachten seien.

Versuch 10.

2 cem inaktives Menschenserum wurde nach gleicher Methode wie beim vorigen Versuche extrahiert, aber die im Trockenschrank getrockneten Mengen wurden in diesem Versuche nicht in 1 cem physiol. Kochsalzlösung, sondern in 1 cem Bouillon gelöst.

Tabelle XIII.

Menschensera: Nr. I; K.O., ♀, 39 Lj., Magenkrebs.

Nr. II; K.N., ♀, 46 Lj., Tabes dorsalis.

Nr. III; T.T., ♂, 30 Lj., Beri-Beri.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 14 Stunden	nach 24 Stunden
2 cem inakt. Nr. I. Serum, Extraktionsrückstand mit Äther	9	17	40
„ „ „ „ „ , Ätherextrakt	10	∞	∞
Ätherkontrolle	13	∞	∞
0,5 cem inakt. Nr. I. Serum	20	8	0
„ „ Bouillon	33	∞	∞
2 cem inakt. Nr. II. Serum, Extraktionsrückstand mit Äther	16	10	300
„ „ „ „ „ , Ätherextrakt	7	∞	∞
Ätherkontrolle	12	∞	∞
0,5 cem inakt. Nr. II. Serum	17	10	0
„ „ Bouillon	17	∞	∞
2 cem inakt. Nr. III. Serum, Extraktionsrückstand mit Äther	19	16	6
„ „ „ „ „ , Ätherextrakt	13	∞	∞
Ätherkontrolle	12	∞	∞
0,5 cem inakt. Nr. III. Serum	15	3	0
„ „ Bouillon	10	∞	∞

Tabelle XIII zeigt, dass die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe wie die Leukozytenstoffe mittels Äthers nicht extrahierbar sind, sondern im Rückstand bleiben, während ihre Wirksamkeit nur etwas abgeschwächt wurde.

Aus obigen Versuchen geht hervor, dass die Leukozytenstoffe und die thermostabilen Serumstoffe, da sie durch Äther nicht extrahierbar sind, nicht zu den Lipoiden gehören. In dieser Beziehung besitzen diese beiden Stoffe dieselbe Eigenschaft wie die Fermente.

D. Filtrierbarkeit.

Schneider⁴¹⁾ wies nach, dass die bakteriziden Kaninchenleukozytenstoffe den Berkefeldschen Filter ungeschwächt passieren, aber nach Manwaring'schen Untersuchungen²⁴⁾ gehen diese Stoffe nicht durch diesen Filter hindurch. Pettersson³³⁾ prüfte die Filtrierbarkeit mit Chamberland- und Berkefeld- Filtern und fand, dass die Leukozytenstoffe diese beiden Filter bald vollkommen, bald garnicht passieren, dagegen den Pukall'schen Filter stets nicht passieren. Diese Pettersson'schen Versuche wurden auch von Kling⁴⁴⁾ bestätigt. Durch obige Versuche können wir nicht mit Sicherheit sagen, ob die bakteriziden Leukozytenstoffe filtrierbar sind oder nicht. Nach den Selterschen Versuchen⁵⁴⁾ passieren die thermostabilen bakteriziden Menschenserumstoffe den Berkefeld'schen Filter.

Versuch 11.

Die durch die Buchnersche Methode gewonnenen Kaninchenleukozytenextrakte wurden nach halbstündigem Erhitzen bei 56°C zur klaren Flüssigkeit zentrifugiert und dann durch eine neue, sterilisierte Chamberlandsche Kerze filtriert.

Tabelle XIV.

Leukozytenextrakte: Nr. I; Kaninchen, ♂, braun, 1,8 kg.

0,6 g Leukozyten in 5 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Nr. II; Aus 3 Kaninchen gesammelte 2,3 g Leukozyten in 12 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 14 Stunden	nach 24 Stunden
0,5 ccm inakt. Nr. I. Leuk.-Extrakt, nicht filtriert	10	87	4
" " " " " " , filtriert	5	∞	∞
" " Bouillon " " " " " "	4	∞	∞
" " inakt. Nr. II. Leuk.-Extrakt, nicht filtriert	3	0	0
" " " " " " " " , filtriert "	4	0	0
" " " " " " " " , filtriert "	10	∞	∞
" " " " " " " " , filtriert "	13	∞	∞
" " Bouillon " " " " " "	15	∞	∞

Tabelle XIV zeigt, dass die Kaninchenleukozytenstoffe ihre Bakterizidie gegenüber Typhusbazillen durch Filtrieren mittels der Chamberlandschen Kerze total verlieren.

Versuch 12.

Menschensera, die $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C erhitzt waren, passierten den neuen sterilisierten Chamberlandschen Filter.

Tabelle XV.

Menschensera: Nr. I; K.E., ♂, 25 Lj., Spitzenkatarrh.

Nr. II; K.N., ♀, 41 Lj., Ulcus ventriculi.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 14 Stunden	nach 24 Stunden
0,5 ccm inakt. Nr. I. Serum, nicht filtriert	13	37	96
" " " " " , filtriert	15	19	14
" " Bouillon	18	∞	∞
" " inakt. Nr. II. Serum, nicht filtriert	15	2	0
" " " " " , filtriert	11	2	0
" " Bouillon	12	∞	∞

Nach Filtrierung hatten die Menschensera, wie Tabelle XV zeigt, ihre bakterizide Wirkung ohne Veränderung beibehalten.

Versuch 13.

Tabelle XVI.

Hundesera: Nr. I; Hund, ♂, braun, 5,5 kg.

Nr. II; Hund, ♀, braun, 6,8 kg.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
0,5 ccm inakt. Nr. I. Serum, nicht filtriert	16	—	493
" " " " " , filtriert	28	—	79
" " Bouillon	8	—	∞
" " inakt. Nr. II. Serum, nicht filtriert	6	18	141
" " " " " , filtriert	2	8	63
" " Bouillon	6	49	∞

Die inaktiven Hundesera hatten auch durch Filtrieren ihre Wirkung nicht verloren (Tabelle XVI).

Unsere Resultate zeigen also, dass durch Filtrierung mittels der Chamberlandschen Kerze die Leukozytenstoffe ihre Wirkung verlieren, aber die thermostabilen Serumstoffe ihre Wirksamkeit noch unverändert besitzen. Wodurch dieser Unterschied zwischen den beiden Stoffen hervorgerufen wird, können wir dadurch erklären, dass dieselben Stoffe in verschiedenen Medien verschiedenes Verhalten zeigen. Eine analoge Erscheinung finden wir bei der Absorption des Ambozeptors durch Kaolin. Kaolin absorbiert aus dem unverdünnten Serum keinen Ambozeptor, während es ihn aus dem verdünnten stark absorbiert.

E. Bakterizidie gegenüber verschiedenen Bakterienarten.

Die bisher angeführten Untersuchungen wurden nur mit Typhusbazillen gemacht. Bei den folgenden Versuchen wurde die bakterizide Wirkung der Leukozytenstoffe und der Serumstoffe auf verschiedene Bakterienarten geprüft, und dafür wählten wir als Testbakterien ausser Typhusbazillen *Bac. Paratyphi A*, *Bac. Paratyphi B*, *Bac. dysenteriae Shiga*, *Bac. dysenteriae Flexner*, *Bac. coli communis*, *Bac. diphtheriae*, *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis*, *Staphylococcus aureus pyogeni*, *Streptococcus hämolyticus pyogeni* und *Pneumococcus aus.*

Bei den Untersuchungen mit Strepto- und Pneumokokken wurde Blutagar und für die anderen Bakterien gewöhnliches Nähragar als Nährboden angewandt, welcher bei der bakteriziden Prüfung zum Plattengiessen benutzt werden muss.

Bei allen folgenden Versuchen wuchsen alle anderen geprüften Bakterien, bloss abgesehen von *Bac. diphtheriae*, bei Kontrollversuchen nach 24 Stunden immer reichlich oder unendlich. Daher konnten wir ohne weiteres die bakterizide Kraft der zu prüfenden Flüssigkeiten je nach der gewachsenen Kolonienzahl auf den Platten richtig beurteilen. Aber nur die Diphtheriebazillen wuchsen bei Kontrollversuchen sehr ungleichmässig, bald gar nicht, bald reichlich, daher sind die mit diesen Bazillen geprüften Resultate unsicher. Aus diesem Grunde wurden die mit diesen Bazillen ausgeführten Versuche von den Tabellen ausgeschlossen.

1. Kaninchenleukozytenextrakte.

Aus den Berichten, die über die Bakterizidie der Kaninchenleuko-

Tabelle XVII.

Nr. I: Kaninchen; ♂, weiss, 1,86 kg.

0,35 g Leukozyten in 4,5 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Nr. II: Kaninchen; ♀, weiss, 1,5 kg.

0,28 g Leukozyten in 4 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Nr. III: Kaninchen; ♀, weiss, 1,6 kg.

0,31 g Leukozyten in 7 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Nr. IV: Kaninchen; ♂, braun, 1,65 kg.

0,5 g Leukozyten in 5,5 ccm physiol. Kochsalzlösung extrahiert.

Testbakterien	Nr. der zu prüfenden 0,5 ccm inakt. Leuko- zytenextrakte	Kolonienzahl auf den Platten		
		sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
Bac. Typhi	Nr. I.	2	0	0
	„ II.	10	0	0
Bac. Paratyphi A	„ I.	11	1	0
	„ III.	11	39	0
Bac. Paratyphi B	„ I.	6	1092	∞
	„ IV.	5	5	∞
Bac. dysenteriae Shiga	„ II.	9	0	0
	„ IV.	17	13	5
Bac. dysenteriae Flexner	„ III.	8	9	0
	„ IV.	33	6	0
Bac. coli communis	„ II.	7	1	0
	„ IV.	17	3	0
Bac. subtilis	„ II.	0	0	0
	„ IV.	3	0	0
Bac. anthracis	„ III.	0	0	0
	„ IV.	2	0	0
Staphylococ. aureus pyogeni	„ II.	10	2	40
	„ III.	2	4	1
	„ IV.	26	10	162
Streptococ. hämolyt. pyogeni	„ III.	1	2	80
	„ IV.	3	2	168
Pneumococcus	„ III.	0	0	0
	„ IV.	16	14	273

zytenextrakte gegenüber verschiedenen Bakterienarten veröffentlicht worden sind, zitieren wir hier nur die folgenden, die das gleiche Versuchsmaterial benutzten wie wir: die Kaninchenleukozytenextrakte wirken bakterizid auf Typhusbazillen (Kling,⁴⁰ Zinsser,²¹ Manwaring,²⁴ Schneider⁴²), auf Heubazillen (Kling⁴¹), auf Milzbrandbazillen (Pettersson,³⁰ Schneider,⁴¹ Kling⁴¹), auf Staphylokokken (Zinsser,²¹ Schneider⁴¹), auf Streptokokken (Pettersson,³² Schneider⁴¹) und auf Pneumokokken (Pettersson,³² Schneider,⁴¹ Dold⁴⁸).

Versuch 14.

Die durch die Buchnersche Methode gewonnenen Kaninchenleukozytenextrakte wurden nach halbstündigem Erhitzen bei 56°C geprüft, weil die Kraft der Leukozytenstoffe mit den bereits alexinfreien thermostabilen Serumstoffen verglichen werden musste.

Nach Tabelle XVII können wir sagen, dass die Leukozytenstoffe auf *Bac. Typhi*, *Bac. Paratyphi A*, *Bac. dysenteriae Shiga*, *Bac. dysenteriae Flexner*, *Bac. coli communis*, *Bac. subtilis* u. *Bac. anthracis* bakterizid, auf *Staphylococcus aureus pyogeni* und *Pneumococcus* bald bakterizid, bald entwicklungshemmend, auf *Streptococcus hämolyticus pyogeni* nur entwicklungshemmend und auf *Bac. Paratyphi B* nicht abtötend wirken. Unsere Resultate zeigen also, dass ausser *Bac. Paratyphi B* alle anderen geprüften Bakterienarten mehr oder weniger von diesen Stoffen abgetötet werden, aber die Stärke dieser Kraft gegen einzelne Bakterienarten je nach den Leukozytenextrakten leicht schwankt.

2. Kaninchensera.

Versuch 15.

Frische Kaninchensera wurden in aktivem und durch halbstündiges Erhitzen bei 56°C inaktiviertem Zustande bakterizider Prüfung unterzogen.

Sämtliche Resultate sind in Tabelle XVIII zusammengestellt.

Aktive Kaninchensera haben keine bakterizide Wirkung auf *Staphylo-* und *Pneumokokken*, aber auf die übrigen 9 Bakterienarten wirken sie bakterizid. Im Gegensatz zu den aktiven Sera wirken inaktive Sera abtötend nur auf *Bac. dysenteriae Flexner*, *Bac. anthracis* und *Streptococcus*, nicht aber auf die anderen Bakterienarten.

Tabelle XVIII.

Kaninchenserum : aktiv und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert, 0,5 ccm benutzt.

Testbakterien	Nr. und Art der Kaninchen	Kolonienzahl auf den Platten					
		sofort nach Aussaat		nach 14 Stunden		nach 24 Stunden	
		aktiv	in-aktiv	aktiv	in-aktiv	aktiv	in-aktiv
Bac. Paratyphi A	Nr. 1; ♂, schwarz, 1,65 kg	7	14	1	∞	0	∞
	„ 2; ♀, braun, 1,55 kg	8	11	0	258	0	∞
Bac. Paratyphi B	„ 3; ♂, braun, 1,6 kg	16	24	10	∞	6	∞
	„ 4; ♀, weiss, 1,5 kg	17	39	1	∞	0	∞
Bac. dysenteriae Shiga	„ 5; ♂, braun, 1,64 kg	3	3	4	reichl.	3	∞
	„ 6; ♀, grau, 1,67 kg	3	2	1	35	0	105
	„ 7; ♂, weiss, 1,69 kg	5	4	0	reichl.	0	∞
Bac. dysenteriae Flexner	„ 8; ♀, weiss, 1,55 kg	11	8	0	5	0	0
	„ 9; ♂, braun, 1,6 kg	5	2	0	2	0	0
	„ 10; ♂, braun, 1,5 kg	—	10	—	2	—	0
	„ 11; ♀, braun, 1,5 kg	—	5	—	5	—	9
Bac. coli communis	„ 12; ♂, bunt, 2,3 kg	6	10	0	∞	0	∞
	„ 13; ♀, weiss, 2 kg	12	11	0	∞	0	∞
	„ 14; ♀, grau, 2,4 kg	4	13	0	∞	0	∞
Bac. subtilis	„ 15; ♀, schwarz, 1,7 kg	0	1	2	∞	1	∞
	„ 16; ♀, braun, 1,75 kg	0	2	1	7	0	∞
	„ 17; ♂, braun, 2,9 kg	—	3	—	0	—	∞
Bac. anthracis	„ 18; ♂, braun, 1,5 kg	0	1	0	1	3	0
	„ 19; ♀, braun, 1,5 kg	0	1	1	0	0	0
	„ 20; ♀, braun, 1,5 kg	—	1	—	1	—	0
Staphylococ. aureus pyogeni	„ 21; ♀, bunt, 1,35 kg	10	19	∞	∞	∞	∞
	„ 22; ♀, bunt, 1,8 kg	13	15	∞	∞	∞	∞
Streptococ. hämolyticus pyogeni	„ 23; ♀, braun, 1,8 kg	3	3	1	7	0	0
	„ 24; ♂, braun, 1,7 kg	2	1	5	15	8	0
	„ 25; ♀, braun, 1,5 kg	—	1	—	0	—	0
	„ 26; ♂, braun, 1,6 kg	—	2	—	0	—	0
Pneumococcus	„ 27; ♀, braun, 1,6 kg	6	11	50	∞	reichl.	∞
	„ 28; ♂, braun, 1,6 kg	9	4	37	∞	∞	∞

Unsere Ergebnisse stimmen im allgemeinen mit denen anderer Forscher (Buchner,⁶⁾ Pettersson,^{30,32)} Kling,⁴⁴⁾ Dold,⁴⁸⁾ Seiffert,⁴⁹⁾ Schou,⁵²⁾ Esch,²⁶⁾ Selter⁵³⁾ u.a.) überein, besonders wurde bestätigt, dass inaktive Kaninchensera bakterizid (Bonaduce⁴⁶⁾) oder entwicklungshemmend (Pfeiler⁵⁶⁾) auf *Bac. anthracis* wirken. Seiffert⁴⁹⁾ berichtet aber über die Bakterizidie der Sera gegen *Streptococcus*, dass sie höchstens nur gegen besondere Streptokokkenstämme entwicklungshemmend wirkten. Unseren Resultaten nach wirken sie bakterizid. Dieser Widerspruch liesse sich durch die Verschiedenheit der Stämme erklären.

Dass inaktive Kaninchensera auf *Bac. dysenteriae* Flexner abtötend wirken, wurde, soweit mir bekannt, bis jetzt noch nicht berichtet.

3. Menschensera.

Versuch 16.

Aktive und durch halbstündiges Erhitzen bei 56°C inaktivierte Krankensera wurden in frischem Zustande zur Prüfung der bakteriziden Wirkung auf verschiedene Bakterienarten benutzt.

Unsere Versuchsergebnisse sind in Tabelle XIX vermerkt.

Die geprüften 3 aktiven Sera haben alle bakterizide Kraft gegen 8 Bakterienarten, aber nicht gegen Staphylo-, Strepto- und Pneumokokken. Auf Streptokokken wirkt 1 Serum bakterizid und 2 Sera garnicht, aber auf Staphylo- und Pneumokokken wirken alle Sera garnicht bakterizid. Alle diese inaktiven Sera wirken bakterizid auf *Bac. Typhi*, *Bac. Paratyphi A*, *Bac. dysenteriae* Shiga, *Bac. subtilis* u. *Bac. anthracis*, aber auf *Bac. dysenteriae* Flexner wirken sie wachstumshemmend, auf *Bac. Paratyphi B* u. *Bac. coli communis* entwicklungshemmend oder nicht bakterizid, auf *Streptococcus* bakterizid oder garnicht und zuletzt auf Staphylo- u. *Pneumococcus* nicht bakterizid. Demnach wirken die aktiven Sera immer auf die geprüften Bakterien entweder bakterizid oder garnicht, nur abgesehen von Streptokokken, aber bei inaktiven Sera ist ihre Wirkung sehr verschieden, nicht nur je nach den Bakterienarten, sondern auch noch etwas schwankend je nach dem einzelnen Serum.

Mit den bereits veröffentlichten Resultaten der hier genannten Forscher (Dold,⁴⁴⁾ Seiffert,⁴⁹⁾ Schou,⁵²⁾ Selter^{53,54)}) stimmen unsere im allgemeinen überein, nur wirken nach den Selterschen Versuchen die inaktiven Sera bakterizid auf Staphylokokken, während unsere Ergebnisse sich mit den Seiffertschen decken und das Gegenteil zeigen. Weiter

Tabelle XIX.

Menschen: Nr. I; S.S., ♂, 54 Lj., Tabes dorsalis.

Nr. II; I.O., ♂, 28 Lj., Phthisis pulmonum.

Nr. III; K.K., ♂, 25 Lj., Myeloische Leukämie.

Menschenserum: aktiv und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert,
0,5 ccm benutzt.

Testbakterien	Menschen-Nr.	Kolonienzahl auf den Platten					
		sofort nach Aussaat		nach 14 Stunden		nach 24 Stunden	
		aktiv	in- aktiv	aktiv	in- aktiv	aktiv	in- aktiv
Bac. Typhi	Nr. I.	2	19	3	14	0	4
	„ II.	17	15	0	36	0	3
	„ III.	22	41	2	13	0	0
Bac. Paratyphi A	„ I.	1	18	0	13	0	5
	„ II.	18	7	0	7	0	3
	„ III.	33	27	0	38	0	14
Bac. Paratyphi B	„ I.	1	16	0	125	3	313
	„ II.	4	11	0	reichl.	1	∞
	„ III.	55	70	0	328	0	reichl.
Bac. dysenteriae Shiga	„ I.	0	6	0	2	0	3
	„ II.	2	2	0	7	0	5
	„ III.	11	20	0	45	0	34
Bac. dysenteriae Flexner	„ I.	5	2	0	0	4	5
	„ II.	12	3	0	6	0	20
	„ III.	34	39	3	44	5	63
Bac. coli communis	„ I.	0	17	0	30	0	52
	„ II.	19	3	0	2	0	reichl.
	„ III.	17	44	0	181	0	192
Bac. subtilis	„ I.	1	1	0	0	0	0
	„ II.	2	3	0	1	0	6
	„ III.	3	4	2	0	0	0
Bac. anthracis	„ I.	1	1	0	0	0	0
	„ II.	0	0	0	0	0	0
	„ III.	1	1	0	3	0	0
Staphylococ. aureus pyogeni	„ I.	35	34	3	reichl.	reichl.	∞
	„ II.	45	3	∞	reichl.	∞	∞
	„ III.	22	24	∞	∞	∞	∞
Streptococ. hämolyt. pyogeni	„ I.	2	1	36	58	∞	∞
	„ II.	3	2	7	6	0	1
	„ III.	2	1	reichl.	reichl.	∞	reichl.
Pneumococcus	„ I.	7	3	reichl.	reichl.	∞	∞
	„ II.	11	4	34	reichl.	∞	∞
	„ III.	10	11	13	∞	∞	∞

können wir die Frage entscheiden, ob diese thermostabilen menschlichen Serumstoffe durch Leukozytose hervorrufende Krankheiten sich vermehren oder nicht, weil das Serum Nr. III in Tabelle XIX einem an myeloischer Leukämie Erkrankten entnommen wurde und dabei die Leukozytenanzahl in seinem Blute 139,400 in 1 cmm betrug. Wie die Tabelle zeigt, findet im Vergleich mit anderen Fällen keine Vermehrung der Stoffe bei diesem Falle statt. Daraus geht hervor, dass diese Stoffe sich nicht durch Leukozytose vermehren, sondern dass ihre Vermehrung durch etwaige Reize hervorgerufen wird, die auf Leukozyten wirken, wie z.B. die Dold'schen Fälle, bei denen sich die thermostabilen bakteriziden Stoffe gegenüber virulenten Pneumokokken beim akuten fieberhaften Zustande im Blute vermehrten.

Wenn wir die Wirksamkeit zwischen Kaninchenleukozytenstoffen und inaktiven Kaninchenserumstoffen vergleichen, wirken erstere nicht nur auf alle Bakterienarten, die durch letztere abgetötet werden, sondern noch auf andere Bakterienarten, welche durch letztere nicht angegriffen werden.

Über die bakterizide Kraft der menschlichen Leukozytenextrakte berichtete Rubritius,²²⁾ dass die von menschlichen tuberkulösen Senkungsabszessen gewonnenen Leukozyten, welche in verschiedenen Flüssigkeiten aufgeschwemmt worden waren, starke bakterizide Wirkung auf Milzbrandbazillen und avirulente Staphylo- und Streptokokken haben.

Selter,⁵⁴⁾ der auch Leukozyten von menschlichen Abszesseitern gewann, bestätigte, dass die aus diesen Leukozyten extrahierten Stoffe auf Typhus-, Paratyphus-B-, Coli-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen bakterizid wirken und dass diese Stoffe thermostabil sind.

Danach kann man sagen, dass die menschlichen Leukozyten auch bakterizide Stoffe gegenüber verschiedenen Bakterienarten abgeben und diese zum Teile im Serum gefunden werden.

F. Zeitverlauf der Bakterizidie.

Früher, im I. Kapitel, berührten wir kurz den zeitlichen Unterschied der bakteriziden Wirkung zwischen Serumalexinen und thermostabilen Serumstoffen, und damals nahmen wir an, dass, während bei aktiven Sera ihre Bakterizidie gegen Typhusbazillen in der Regel schon nach 4 Stunden erzielt wird, bei inaktiven Sera die eingesäten Bazillen nach 4 oder 14 Stunden noch nicht abgetötet sind, sondern sich vielmehr etwas vermehren und erst nach 24 Stunden vernichtet werden.

Nun betrachten wir weiter, ob dieser Unterschied ausser bei Typhus-

bazillen noch bei anderen Bakterien gefunden werden kann, und ferner wollen wir den zeitlichen Verlauf der keimtötenden Kraft der Leukozytenextrakte kennen lernen.

1. Kaninchensera.

Da inaktive Kaninchensera nur auf *Bac. dysenteriae* Flexner, *Bac. anthracis* und *Streptococcus* bakterizid wirken (Tabelle XVIII), so können wir den obengenannten Unterschied nur bei diesen 3 Bakterienarten beobachten. Die Milzbrandbazillen werden sowohl durch aktive wie auch inaktive Sera schon nach 14 Stunden abgetötet, während Streptokokken und Flexnersche Dysenteriebazillen erst nach 24 Stunden vernichtet werden, wobei es auffallend ist, dass sie sich in manchen Fällen nach 14 Stunden eher etwas vermehren.

2. Menschensera.

Inaktive Menschensera wirken, wie Tabelle XIX zeigt, ausser auf Typhusbazillen, auf *Bac. Paratyphi A*, *Bac. dysenteriae* Shiga, *Bac. subtilis* und *Bac. anthracis* bakterizid, und bei den ersten 2 Bakterienarten findet sich obengenannter Unterschied in der Tat, aber die 2 letzteren Bakterienarten werden durch aktive und inaktive Sera innerhalb 14 Stunden abgetötet.

3. Leukozytenextrakte.

Durch Leukozytenextrakte werden Typhusbazillen (Tabelle V, VII, X, XII, XIV u. XVII), *Bac. Paratyphi A* und *Bac. dysenteriae* Flexner (Tabelle XVII) nach 4 Stunden je nach den Extrakten bald rasch, bald langsam abgetötet, aber *Bac. dysenteriae* Shiga, *Bac. coli*, *Bac. subtilis* und *Bac. anthracis* (Tabelle XVII) werden immer rasch in gleich langer Zeit abgetötet. Über Staphylo- und Pneumokokken können wir nichts Sicheres sagen.

Betreffs der langsam wirkenden Eigenschaft der Leukozytenextrakte behauptet Pettersson,³⁹⁾ dass diese langsamere Wirkung der Leukozytenstoffe im Vergleich mit Serumalexinen das eigentliche Unterscheidungsmerkmal zwischen beiden Stoffen ist, aber Schneider⁴²⁾ nahm dies nicht an, sondern glaubte, dass diese Wirkung nur auf einer geringeren keimtötenden Kraft der Leukozytenextrakte Petterssons beruht. Weil²⁰⁾ erkannte auch die Petterssonsche Behauptung nicht an und meinte, dass

dies sicherlich nur ausnahmsweise zutrifft. Wir können durch unsere Versuche mit Sicherheit annehmen, dass sowohl inaktive Sera als auch Leukozytenextrakte auf einige Bakterienarten langsamer als Serumalexine wirken; da diese Stoffe in den Sera in geringer und relativ bestimmter Menge enthalten sind, so ist diese Erscheinung bei inaktiven Sera konstant sichtbar, doch bei Leukozytenextrakten kommt diese langsame Wirkung auf eine bestimmte Bakterienart je nach den Extraktarten nicht immer zum Vorschein, da ihre Menge sehr variabel ist. Darnach kann man sagen, dass diese Erscheinung nur dann zustande kommt, wenn diese Stoffe in relativ geringer Menge vorhanden sind. Deshalb darf man überhaupt bei Ausführung der bakteriziden Prüfung thermostabiler Serumstoffe oder Leukozytenstoffe nicht vergessen, die Prüfung nach 24 Stunden wiederum anzustellen, denn sonst kann man nicht mit Sicherheit ihre Bakterizidie bestimmen.

Durch die bisher ausgeführten vergleichenden Untersuchungen zwischen thermostabilen Serumstoffen und Leukozytenstoffen sehen wir, dass diese beiden Stoffe gemeinsame Eigenschaften haben und wahrscheinlich identisch sind. Aber die Frage, ob diese Serumstoffe von den lebenden Leukozyten ins Blut abgegeben werden oder beim Zerfall der Leukozyten frei werden, können wir nicht sicher entscheiden.

Die Frage, was diese Stoffe sind, können wir hier auch nicht beantworten, aber wir vermuten, dass es sich wahrscheinlich um einen fermentartigen Körper handelt.

Zum Schlusse müssen wir betonen, dass ausser Opsonin und Alexin bakterizide Stoffe, die von Leukozyten abstammen, sicherlich in normalen Sera von Menschen und gewissen Tierarten vorhanden sind und diese auch als Schutzapparat des Organismus gegen verschiedene Bakterienarten eine Rolle spielen.

IV. Sind thermostabile bakterizide Stoffe in besonderen Organen auffallend zahlreich enthalten?

Aus der Erkenntnis, dass die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe aus Leukozyten abstammen, erhebt sich natürlich die Frage, ob diese Stoffe in hämatopoetischen Organen in besonders grosser Menge gefunden werden. Früher bestätigte Hankin,⁵⁷⁾ dass der von Rattenmilz durch eine bestimmte Methode gewonnene Eiweisskörper Milzbrandbazillen vernichtende Kraft besitzt und dass diese Kraft durch Kochen völlig zerstört wird.

Aber nach der Petterssenschen Arbeit⁵⁰⁾ wirken die durch die Buchnersche Methode erhaltenen Bouillonextrakte von Milz oder Knochenmark der mit Milzbrandbazillen immunisierten Kaninchen und Ziegen nicht bakterizid auf Milzbrandbazillen. Über diese Frage wurden folgende Untersuchungen angestellt.

Versuch 17.

1. Zuerst wurden Presssäfte aus verschiedenen Organen von Kaninchen und Hund zur bakteriziden Prüfung gegenüber Typhusbazillen hergestellt. Kaninchen oder Hund wurde aus Karotis verblutet, und darauf wurden ihnen verschiedene Organe möglichst aseptisch entnommen. Einzelne Organe wurden unter Zusatz einiger ccm physiologischer Kochsalzlösung möglichst zerkleinert und dann aus dieser Masse die Organsäfte mittels Presse herausgedrückt.

Die so gewonnenen Organsäfte wurden durch starke Zentrifugierung von Gewebsfetzen befreit. Diese Säfte wurden dann, je 1 ccm, in kleine Glasröhrchen abpipettiert und nach halbstündigem Erhitzen bei 56°C zur Prüfung benutzt.

Tabelle XX.

Nr. I: Kaninchen; ♀, weiss, 1,65 kg.

Nr. II: Hund; ♀, schwarz, 13 kg.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 14 Stunden	nach 24 Stunden
1 ccm Nr. I. Presssaft der beiden Lungen	3	∞	∞
" " " " des Herzens	6	∞	∞
" " " " der Leber	12	∞	∞
" " " " der Milz	9	∞	∞
" " " " der beiden Nieren	10	∞	∞
" " " " des l. Oberschenkelknochens	9	∞	∞
" " Bouillon	4	∞	∞
" " Nr. II. Presssaft der beiden Lungen	4	∞	∞
" " " " des Herzens	6	∞	∞
" " " " der Leber	4	∞	∞
" " " " der Milz	4	∞	∞
" " " " des Pankreas	14	∞	∞
" " " " der beiden Nieren	14	∞	∞
" " " " des Markes der beiden Ober- u. Unterschenkelknochen	1	∞	∞
" " Bouillon	2	∞	∞

Tabelle XX zeigt, dass alle Presssäfte der verschiedenen Organe von Kaninchen und Hund ohne Ausnahme keine bakterizide Wirkung gegenüber Typhusbazillen haben.

2. Dann wurden die durch obige Methode gewonnenen Presssäfte durch dieselbe Extraktionsmethode wie die bei der Gewinnung von Leukozytenextrakten extrahiert und diese Extrakte nach halbstündigem Erhitzen bei 56°C geprüft.

Tabelle XXI.

Nr. I: Kaninchen: ♂, bunt, 1,43 kg.

Nr. II: Hund; ♂ 12 kg.

Aussaat: Bouillonkultur von Bac. Typhi.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 14 Stunden	nach 24 Stunden
1 ccm Nr. I. Extrakt der beiden Lungen	4	∞	∞
" " " " des Herzens	8	∞	∞
" " " " der Leber	71	∞	∞
" " " " der Milz	5	∞	∞
" " " " der beiden Nieren	4	∞	∞
" " " " des r. Oberschenkelknochens	7	∞	∞
" " Bouillon	6	∞	∞
" " Nr. II. Extrakt der beiden Lungen	5	∞	∞
" " " " des Herzens	5	267	∞
" " " " der Milz	10	∞	∞
" " " " des Pankreas	12	∞	∞
" " " " der beiden Nieren	6	∞	∞
" " " " des Markes der beiden Ober- u. Unterschenkelknochen	8	254	∞
" " Bouillon	2	∞	∞

Aber wie Tabelle XXI zeigt, haben sämtliche Extrakte von Kaninchen und Hunden keine Typhusbazillen vernichtende Kraft. Unsere Ergebnisse blieben immer negativ. Ob daran die Methode schuld ist oder ob die Organe in der Tat keine bakterizide Stoffe als solche enthalten, können wir vorläufig noch nicht entscheiden.

Zusammenfassung.

1. Die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe gegenüber Typhusbazillen sind bei Menschen konstant vorhanden, aber bei Tieren werden sie nur in bestimmten Tieren gefunden, d.h. von den geprüften Tieren, Schweinen, Hunden, Pferden, Hammeln, Kaninchen, Meerschweinchen

und Rindern, haben nur Schweine und Hunde dauernd diese Stoffe in ihren Sera, die anderen Tiere haben sie nur vorübergehend oder sehr schwach oder garnicht.

2. Diese Serumstoffe haben keine Beziehung zur natürlichen oder künstlich erzeugten Immunität. Wenn sie auch in einem Tier gegen eine Bakterienart bakterizid wirken, so spricht das doch noch nicht dafür, dass das entsprechende Tier für diese Bakterienart empfänglich ist, was Seifert einst behauptet hat. Und diese Stoffe bleiben auch nach künstlicher Immunisierung ohne Veränderung.

3. Folgende Eigenschaften besitzen Serumstoffe und bakterizide Leukozytenstoffe gemeinsam.

- a. Beide Stoffe sind thermostabil.
- b. Beide Stoffe behalten ihre Bakterizidie nach langdauerndem Aufenthalt im Eisschrank ohne Veränderung.
- c. Beide Stoffe werden nicht mittels Äthers extrahiert, sondern bleiben unverändert im Rückstand.
- d. Alle durch thermostabile Serumstoffe abgetötete Bakterien werden immer auch von Leukozytenstoffen vernichtet.
- e. Eine langsamere bakterizide Wirkung von Serum- und Leukozytenstoffen im Vergleich mit Serumalexinen ist sicherlich vorhanden, wenn diese Stoffe mit geeigneten Bakterien und in nicht zu grosser Menge geprüft werden.
- f. Die Serumstoffe passieren durch die Chamberlandsche Kerze, aber die Leukozytenstoffe sind nicht filtrierbar. Diese Differenz zeigt nicht die Verschiedenheit der beiden Stoffe, sondern wird durch die Verschiedenheit der Medien, in denen sich die beiden Stoffe befinden, hervorgerufen.

Also sind bakterizide Serumstoffe und Leukozytenstoffe höchstwahrscheinlich identisch.

4. Diese thermostabilen bakteriziden Stoffe können in Organen nicht nachgewiesen werden.

Literatur.

- (1) Fodor, Deut. med. Wochenschr., 1887, **13**, 745.
- (2) Nuttall, Zeitsch. f. Hyg., 1888, **4**, 352.
- (3) Behring, Centralbl. f. klin. Med., 1888, **9**, 681.
- (4) Buchner, Centralbl. f. Bakt. u. Parasit., 1889, **5**, 817.
- (5) Derselbe, ebenda, 1889, **6**, 1 u. 561.
- (6) Derselbe, Arch. f. Hyg., 1890, **10**, 84.
- (7) Hahn, Arch. f. Hyg., 1895, **25**, 105.
- (8) Schattenfroh, Arch. f. Hyg., 1897, **31**, 1.
- (9) Derselbe, Münch. med. Wochenschr., 1897, **44**, 4.
- (10) Derselbe, ebenda, 1897, **44**, 414.
- (11) Derselbe, Arch. f. Hyg., 1899, **35**, 135.
- (12) Däubler, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1899, **25**, 129.
- (13) Gruber, Münch. med. Wochenschr., 1901, **48**, 1965.
- (14) Lambotte u. Stiennen, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1906, **40**, 1224.
- (15) Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr., 1907, **54**, 249.
- (16) Korschun, Ann. de l' Inst. Pasteur. 1908, **22**, 586.
- (17) Werbitzki, Arch. f. Hyg., 1909, **70**, 299.
- (18) Weil, Arch. f. Hyg., 1909, **71**, 223.
- (19) Weil u. Nunokawa, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1910, **54**, 262.
- (20) Weil, Arch. f. Hyg., 1911, **74**, 289.
- (21) Zinsser, Journ. of Med. Res., 1910, **22**, 397.
- (22) Rubritius, Beitr. z. klin. Chir., 1910, **66**, 337.
- (23) Derselbe, Arch. f. Hyg., 1911, **74**, 211.
- (24) Manwaring, Journ. of Exp. Med., 1912, **16**, 249.
- (25) Derselbe, ebenda, 1913, **17**, 409.
- (26) Esch, Zeitschr. f. Hyg., 1914, **77**, 389.
- (27) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1905, **39**, 423.
- (28) Derselbe, ebenda, 1906, **40**, 537.
- (29) Derselbe, ebenda, 1906, **42**, 56.
- (30) Derselbe, Zeitschr. f. klin. Med., 1907, **63**, 79.
- (31) Derselbe, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1908, **45**, 160.
- (32) Derselbe, ebenda, 1908, **45**, 235.
- (33) Derselbe, ebenda, 1908, **46**, 405.
- (34) Derselbe, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1909, **1**, 52.
- (35) Derselbe, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1909, **50**, 634.
- (36) Derselbe, ebenda, 1910, **54**, 131.
- (37) Derselbe, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910, **7**, 693.
- (38) Derselbe, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1911, **60**, 286.
- (39) Derselbe, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1917, **26**, 305.
- (40) Schneider, Münch. med. Wochenschr., 1908, **55**, 499.
- (41) Derselbe, Arch. f. Hyg., 1909, **70**, 40.
- (42) Derselbe, ebenda, 1912, **75**, 167.
- (43) Schneider u. Hurler, Arch. f. Hyg., 1913, **81**, 372.
- (44) Kling, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910, **7**, 1.
- (45) Behring u. Nissen, Zeitschr. f. Hyg., 1890, **8**, 412.

- (46) Bonaduce, Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. etc. 1893, **12**, 353.
- (47) Pirenne, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1904, **36**, 256.
- (48) Dold, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsa., 1911, **39**, 419.
- (49) Seiffert, Deut. med. Wochenschr., 1912, **38**, 305.
- (50) Derselbe, ebenda, 1912, **38**, 2059.
- (51) Derselbe, ebenda, 1917, **43**, 362.
- (52) Schou, Zeitschr. f. Hyg., 1913, **75**, 539.
- (53) Selter, Zeitschr. f. Hyg., 1918, **86**, 313.
- (54) Derselbe, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1920, **30**, 105.
- (55) Pettersson, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1924, **40**, 43.
- (56) Pfeiler, Arch. f. Hyg., 1922, **91**, 217.
- (57) Hankin, Centralbl. f. Bakt. u. Paras., 1891, **9**, 336 u. 372.