Paul Ehrlich-
Institut
Bibliothek
Frankfurt a. Main

ARBEITEN
AUS DEM STAATSINSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DEM GEORG SPEYER-HAUSE ZU FRANKFURT A. M.

BEGRÜNDET VON PAUL EHRLICH

HERAUSGEGEBEN VON

DR. W. KOLLE
DIREKTOR DES STAATSINST. FÜR EXP. THERAPIE UND DES GEORG SPEYER-HAUSES
O. HONORARPROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT FRANKFURT A. M.

Heft 22

I. H. Calvi, Histopathologische Untersuchungen zu Longs Spermatozytreaktion. Mit 8 Abbildungen im Text.
II. W. Kolle und R. Prigge, Studien über Immunität bei Syphilis.
III. Werner Fischer und Gertraudis Klinkhart, Ueber Isohämagglutination und Isohämolyse beim Kaninchen.
IV. E. Küster und G. Elkes, Versuche über die Koktoimmunogen-Immunisierung bei Tuberkulose. Mit 1 Abbildung im Text.
V. Werner Fischer, Beitrag zur Technik und Bewertung der Blutgruppenuntersuchung. Mit 1 Abbildung und 5 Tabellen im Text.

Mit 10 Abbildungen und 5 Tabellen im Text

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1929

Pau rlich-
Frank a. Main

X
9 (22)

Aus dem Staatsinstitut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. W. Kolle),
und a. d. Senckenbergischen Path. Inst. d. Universität Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. B. Fischer-Wasels).

I.

Histopathologische Untersuchungen zu Longs Spermatozytreaktion[1]).

Von

H. Calvi.

(Mit 8 Abbildungen im Text.)

Die Longschen Untersuchungen über die Spermatozytreaktion als neuartige Testprobe zur Standardisierung des Tuberkulins haben in der Arbeit von Hetsch, Schlossberger und Wichmann (1) eine ausführliche Besprechung gefunden. Daher kann ich mich hier darauf beschränken, den Gedankengang des amerikanischen Autors kurz anzuführen und nur auf diejenigen Momente, welche für die histologisch-pathologische Betrachtung von Bedeutung sind, näher einzugehen.

Nach E. R. Long (2) schließt die Gesamtreaktion des Tuberkulins eine Summe von Einzelreaktionen zwischen dem Tuberkulin und den sensibilisierten Geweben in allen Teilen des tuberkulösen Körpers in sich. Wahrscheinlich sind nach seiner Ansicht alle Körpergewebe bis zu einem gewissen Grade sensibilisiert, doch ist, wie er annimmt, der Grad dieser Sensibilisierung in den einzelnen Geweben unbekannt. Sicherlich zeigt er aber nach den vergleichenden Untersuchungen Longs an Nebennieren, Haut, Hoden u. a. recht erhebliche Unterschiede.

Während nämlich die Haut des tuberkulösen Organismus in ihrem hauptsächlichen Aufbau aus Bindegewebe und Plattenepithel als relativ wenig empfindlich gegen Tuberkulin anzusehen ist, müssen die hochdifferenzierten Keimgewebe des Hodens als hochgradig sensibilisiert gelten. Um die typische Reaktion, die nachfolgend ausführlich behandelt werden soll, hervorzurufen, bedarf es beim Hoden nur eines sehr geringen Bruchteils der bei der Haut notwendigen Mindestmenge des Alttuberkulins.

Zur Anstellung der von Long als Spermatozytreaktion bezeichneten Tuberkulinprobe werden etwa 400 g schwere männliche Meerschweinchen ausgesucht. Dieselben werden am Bauch subkutan mit einem schwach virulenten Tuberkelbazillenstamm infiziert, und

1) Bearbeitet im Jahre 1927.

zwar in solchen Dosen, daß annähernd binnen einem Monat käsige Knoten in den zugehörigen Lymphdrüsen sich bilden, aber keine Generalisierung des Prozesses eintritt. In diesem Stadium sind die Tiere zur Probe verwendbar. Diese wird nun in der Weise ausgeführt, daß den einzelnen Meerschweinchen je 0,01 ccm fallender Konzentrationen des zu untersuchenden Tuberkulins in die Mitte der in den Hodensack gedrängten Hoden nach vorausgegangener Reinigung der darüberliegenden Haut injiziert wird. Die Tiere werden nach 36 Stunden bzw. nach einem Monat getötet, je nachdem man die Früh- oder Spätstadien der Tuberkulinreaktion beobachten will.

Zur quantitativen Auswertung eines Tuberkulins werden Verdünnungen hergestellt, die in 0,1 ccm 0,1—0,01—0,001 und 0,0001 ccm des ursprünglichen Präparats enthalten. Mit jeder dieser Verdünnungen werden je zwei tuberkulös infizierte Meerschweinchen injiziert, außerdem werden zwei normale, nicht infizierte Tiere mit je 0,1 ccm der stärksten Lösung behandelt. Insgesamt sind also zu einer Prüfung 10 Tiere erforderlich.

Um die durch die Tuberkulineinspritzungen verursachten Veränderungen nachzuweisen, werden von den exstirpierten Hoden Paraffin- oder Zelloidinschnitte angefertigt. Als Schnittebene wählt man einen Längsschnitt durch die Mitte des Hodens („Middle cross section").

Long hat mit der hier geschilderten Untersuchungsmethode eine Reihe von Tuberkulinpräparaten auf ihre Wirksamkeit geprüft. Was die allgemeine Tuberkulinwirkung betrifft, so sieht man nach seinen Angaben in dem sensibilisierten und injizierten Gewebe zunächst ein entzündliches Exsudat, das aus Plasma, Fibrinogen, polynukleären, mononukleären und eosinophilen Leukozyten besteht und von einer aktiven Hyperämie in der üblichen Weise begleitet ist.

Ist die Dosierung eine hinreichend starke, so entsteht in der Folge eine Koagulationsnekrose. Am Hoden im besonderen beobachtet man, je nach der Länge des seit der Tuberkulininjektion verstrichenen Zeitraums verschiedene Veränderungen, und zwar läßt sich, wie Long ausführt, deutlich ein Frühstadium von einer späteren Phase unterscheiden. Da von den vier Zellagen des Keimgewebes die Spermatozyten zuerst und am stärksten angegriffen werden, bezeichnet Long die Erscheinung als „Spermatozytreaktion".

Wie oben erwähnt, unterscheidet Long eine frühe und eine späte Phase der Spermatozytreaktion. Die frühe Phase ist durch Hyperämie, entzündliches Oedem von der oben beschriebenen Art und Koagulationsnekrose der Spermatozyten und Spermatiden charakterisiert. Eine bemerkenswerte Veränderung im mikroskopischen Bild ist die Größenzunahme der Samenkanälchen, die gleichzeitig mit erheblichen Abweichungen von der normalen Anordnung der Teilungsphasen des Keimgewebes, nämlich der Spermatogonien, Spermatozyten, Spermatiden und der Spermatozoen verbunden ist. Geschwollene Spermatozyten und Spermatiden, mit intensiv gefärbtem Zellplasma und pyknotischen Kernen liegen in der Mitte der Kanälchen eng vermischt mit den Spermatozoen. Die Spermatogonien und verwandten Zellen besitzen gegenüber dem Tuberkulin offenbar die geringste Empfindlichkeit und bleiben nach der Resorption der nekrotischen Zellen zurück.

Die Spätphase der Spermatozytreaktion beobachtet man am besten nach etwa 3—4 Wochen. Nach Long ist zu dieser Zeit eine ausgesprochene Atrophie des Keimgewebes festzustellen. Spermatozyten und Spermatiden, jene Zellen, welche im akuten Stadium in Nekrose begriffen waren, sind zusammen mit den Spermatozoen verschwunden. Die Kanälchen bleiben zurück, begrenzt von ihrer Grundmembran und einer einfachen Schicht von epithelialen Zellen. Da nach den Feststellungen von Long die Spermatozyten sich im Verlauf von 3—4 Monaten regenerieren und die nachfolgenden Teilungen von diesen Zellen ausgehen, so sind diese epithelialen Zellen sicherlich als Spermatogonien anzusehen. Zwischen den atrophischen Kanälchen zeigt sich eine Hyperplasie der Leydigschen Zwischenzellen. Ich werde später Gelegenheit nehmen, auf die beiden Ansichten bezüglich der Spermatogonien als auch der Leydigschen Zwischenzellen zurückzukommen.

Nach der Annahme von Long ist die Reaktion zweifellos als eine wirkliche Tuberkulinreaktion anzusehen. Sie soll nach seinen Beobachtungen absolut spezifisch sein; in mehr als 100 Versuchen konnte er bei normalen Kontrolltieren, in deren Hoden Tuberkulin injiziert worden war, niemals eine Reaktion feststellen. Tuberkulin ist nicht toxisch für die Spermatozyten normaler Tiere. Auf der anderen Seite hat bei seinen Versuchen niemals die Reaktion im Hoden tuberkulöser Meerschweinchen gefehlt, falls eine hinreichende Tuberkulindosis injiziert wurde. Ferner sind dem Tuberkulin in der Zubereitung entsprechende Präparate von anderen, auch säurefesten Bazillen hergestellt und in der geschilderten Weise intratestikulär injiziert worden, ohne daß es zu einer Reaktion gekommen wäre. Schließlich wäre noch zu erwähnen, daß nach Longs Auffassung die Reaktion ihrem Wesen nach mit den bei der subkutanen Hautprobe beobachteten Erscheinungen identisch ist, nur daß Degeneration und Nekrose nach intratestikulärer Tuberkulininjektion ausgesprochener sind. Dies erklärt sich als eine besonders große Hinfälligkeit der empfindlichen Keimzellen. Nach Long besteht einmal in der dadurch bedingten größeren Empfindlichkeit der Vorteil der Spermatozytreaktion gegenüber der bisher geübten Hautreaktion. Nach ihm soll die intratestikuläre Probe 10mal empfindlicher als die Kutanreaktion sein

und sich durch die größere Konstanz der Versuchsreihen, sowie auch dadurch auszeichnen, daß die Aufbewahrung der mikroskopischen Schnitte jederzeit eine vergleichende retrospektive Beurteilung der einmal geprüften Präparate erlaubt. Die größere Feinheit der Spermatozytreaktion soll nach Long nicht nur eine qualitative, sondern auch eine sehr weitgehende quantitative Bestimmung des zu untersuchenden Tuberkulins gestatten. Da in der Arbeit von Hetsch, Schlossberger und Wichmann die technischen Einzelheiten der Wertbestimmung des Tuberkulins mittels der Spermatozytreaktion bereits eingehend besprochen wurden, kann ich mich hier auf eine Schilderung der Befunde von Long über die Wirkung der verschiedenen Tuberkulinkonzentrationen auf das Hodengewebe, wie sie sich im histologisch-pathologischen Bild darbietet, beschränken.

Long empfiehlt für die Beurteilung der Tuberkulinwirkung die Spätphase der Spermatozytreaktion, da das mikroskopische Bild der Frühreaktion für jeden nicht geübten Histologen infolge der zahlreichen abgestoßenen Zellarten im Lumen und der schwierigen Unterscheidung von normalen Spermatozyten gegenüber mehr oder minder geschädigten Zellelementen verwirrend ist. Das feinste Kriterium der Reaktion im frühen Stadium ist nach der Ansicht Longs das interstitielle Exsudat. Ein solches tritt nach seinen Befunden nach intratestikulären Tuberkulininjektionen an normalen Tieren oder nach Einspritzung andersartiger Substanzen an infizierten Tieren nicht ein. Mit fallender Tuberkulinkonzentration nimmt die Stärke der Reaktion ab. Doch selbst bei Verwendung von 0,0001 ccm eines gut wirksamen Tuberkulins ist (wie Long angibt), noch eine deutliche Reaktion festzustellen: Die Spermatozyten sind aus dem Verband gelöst, ins Lumen verrückt und zeigen sich in den verschiedensten Stadien der Degeneration begriffen. Ebenso beobachtet man bei der gleichen Verdünnung noch eine intertubuläre monozytäre Infiltration.

Wie bereits oben erwähnt, sind nach Long die Veränderungen im Spätstadium bei weitem eindeutiger. Die Kanälchen haben nach Injektion der ersten drei Tuberkulinverdünnungen an Größe abgenommen und, mit Ausnahme weniger Stellen, sind die Spermatozyten und die von ihnen abstammenden Zellen verschwunden. Der eben noch wirksame Grenzwert der im Handel befindlichen Alttuberkulinpräparate liegt nach Long zwischen einer Menge von 0,0001 und 0,00001 ccm. Bei Verwendung der letzteren Dose sind im allgemeinen keine praktisch verwertbaren Veränderungen mehr festzustellen. Die Spermatozyten und ihre Abkömmlinge sind hier noch reichlich vorhanden, d. h. durch intratestikuläre Einverleibung dieser Dose wird die Spermatogenese eben nicht mehr vollkommen unterbrochen. Auf

dieser Beobachtung beruht die von Long aufgestellte Tuberkulineinheit („Unit“).

Als Spermatozyteinheit bezeichnet er jene Menge Tuberkulins, welche nach Injektion (Volumen 0,1 ccm) in den Hoden eines 400 g schweren, an einer milden, lokalisierten Tuberkulose leidenden Meerschweinchen eben noch genügt, die Spermatogenese in der Mehrzahl der Kanälchen zu unterbinden. Das Alttuberkulin des Handels hat diese Wirkung im allgemeinen noch bei Verdünnung von 0,0001 ccm. Somit enthält 1 ccm eines solchen Alttuberkulins 10 000 Spermatozyteinheiten. Ein nicht eingedicktes Tuberkulin enthält etwa 1000 Spermatozyteinheiten im Kubikzentimeter. Zur Kontrolle der spezifischen Wirkung des geprüften Tuberkulins werden die nicht injizierten Hoden der Versuchstiere, außerdem die mit Tuberkulin injizierten Hoden normaler, d. h. nicht tuberkulöser Meerschweinchen auf pathologische Veränderungen untersucht.

Am Ende seiner Ausführungen betont Long, daß man in den Hoden der tuberkulosen Meerschweinchen nach intratestikulärer Tuberkulinreaktion keine absolut gleichmäßige Veränderungen erwarten dürfe. Nach seinen Befunden ist indessen die Wirkung in praktischer Hinsicht genügend einheitlich, doch gibt es einzelne Bezirke, die normal oder annähernd normal zurückbleiben. Long, der diese Erscheinung auf mechanische Momente zurückführt, nimmt an, daß das Tuberkulin im Keimgewebe nicht gleichmäßig verteilt wird. Bei der Beurteilung der histologischen Befunde haben daher die Veränderungen in der Mehrzahl der Kanälchen als Vergleichsmaßstab zu dienen. Da die bei der staatlichen Wertbestimmung des Alttuberkulins gebräuchliche subkutane Einspritzung fallender Verdünnungen der zu prüfenden Produkte an tuberkulöse Meerschweinchen gelegentlich, besonders bei ungeeigneter Auswahl der Versuchstiere, nicht ganz „glatte“ Reihen ergibt und in solchen Fällen eine Wiederholung der Prüfung notwendig macht, erschien eine vergleichende Prüfung des intratestikulären Verfahrens, bei dem nach Longs Feststellungen die hinsichtlich der Tuberkulinempfindlichkeit zwischen den einzelnen tuberkulösen Versuchstieren bestehenden individuellen Unterschiede nicht in die Erscheinung treten, unbedingt erforderlich. Ueber die Ergebnisse dieser auf Veranlassung von Geheimrat Kolle im Staatsinstitut für experimentelle Therapie durchgeführten vergleichenden Untersuchungen haben Hetsch, Schlossberger und Wichmann eingehend berichtet (1). Nach den Feststellungen dieser Autoren bietet die Longsche Spermatozytreaktion für die Wertbemessung des Alttuberkulins allerdings keine Vorteile gegenüber dem seither gebräuchlichen Verfahren. In Uebereinstimmung mit Long sind jedoch auch Hetsch, Schlossberger und Wichmann

der Ansicht, daß es sich bei der nach intratestikulärer Injektion von Alttuberkulin im Hodengewebe tuberkulöser Meerschweinchen eintretenden Spätreaktion um einen streng spezifischen Vorgang handelt.

Die in Formalin fixierten Hoden der von Hetsch, Schlossberger und Wichmann zu ihren Versuchen über die Longsche Spermatozytreaktion verwendeten etwa 150 Meerschweinchen wurden dem Senckenbergisch-Pathologischen Institut der Universität Frankfurt a. M. zur histologisch-pathologischen Untersuchung gegeben. Ueber die Ergebnisse dieser mir von Herrn Prof. Dr. B. Fischer-Wasels übertragenen Untersuchungen soll im nachfolgenden kurz berichtet werden.

Zur Infektion der Meerschweinchen war derselbe wenig virulente Tuberkelbazillenstamm des Typus humanus verwendet worden, den Long zu seinen Versuchen benützt hatte. In mehreren Versuchsserien wurde eine Reihe verschiedener Alttuberkulinpräparate, die zum Teil im Institut für experimentelle Therapie hergestellt worden waren, zur Prüfung herangezogen:

Deutsches Standardtuberkulin, Tuberkulin Merck 22, Tuberkulin A. F. Höchst 14, Tuberkulin vom Stamm Höchst Tb 4 (Douglasscher Nährboden), der gleiche Tb-Stamm (auf Glyzerinbouillon), Tuberkulin vom Stamm Behring Tb 4 (Douglasscher Nährboden), Tuberkulin Nr. 100 von Capt. Douglas (National Institute for Medical Research, London), Tuberkulin (bovo) Merck 20/21. Als Vergleich dienten eingedickte Glyzerinbouillon, sowie Novoprotein (Chemische Werke Grenzach) und Caseosan (Heyden) mit ca. 5proz. Kaseingehalt, also Eiweißpräparate, wie sie zum Teil bei der unspezifischen Eiweißtherapie Verwendung finden.

Zunächst seien einige allgemeine und technische Bemerkungen erlaubt. Seit die innersekretorische Lehre einen bedeutenden Aufschwung genommen hat und die Steinachsche Schule ihre besondere Aufmerksamkeit den sexuellen Drüsen zuwandte, zeigte sich bald, daß unsere Anschauungen über die funktionelle Histologie des Hodens nicht ausreichten. Ohne mich an dieser Stelle mit diesem Problem aufzuhalten, möchte ich nur an die fortdauernde Diskussion der genetischen Beziehungen der Sertolizellen, der sogenannten abortiven Spermatogonien und der definitiven Spermatogonien erinnern. Nach Anschauung Prenants sollen sich alle drei Formen aus den sogenannten indifferenten Samenzellen des fötalen Hodens entwickeln, während nach Benda und Hermann (3 u. 4) aus den indifferenten Samenzellen des fötalen Hodens nur Sertolizellen hervorgehen sollen.

Wie schon mehrfach erwähnt, ist das Keimgewebe eines der empfindlichsten Gewebe des Körpers. So fand Kyrle unter 1000 menschlichen Hoden keinen der in allen seinen Teilen als normal hätte gelten können. Wenn auch manche Untersucher angeben, daß der Tierhoden weniger empfindlich ist, so handelt es sich um ein außerordentlich hinfälliges Organ. Wie Versuche am Meerschweinchen

zeigten, reagiert das Keimgewebe auf die verschiedensten Reize physikalischer oder chemischer Art mit teilweiser oder totaler Atrophie. Eine solche läßt sich, nach Schinz und Slotopolsky (5 u. 6), z. B. bei Abknickung der Vasa spermaticae und damit bewirkter verminderter Blutzufuhr, bei Verwachsungen des Hodens mit Darmschlingen, wobei die immer wiederholten Erschütterungen, ferner Druck und Zug die Schädigungen hervorrufen, nach Jodpinselungen des Scrotums, bei Druck durch Hydrocele, nach Vasektomie und schließlich nach Rückenmarksläsionen beobachten.

Diese Atrophie kommt immer in der gleichen Weise zustande. Zuerst sistiert die Spermatogenese, die Spermatozoen fließen ab, die Spermatiden werden nekrotisch, etwa gleichzeitig mit den Spermatozyten, und erst nach längerem Abstand folgt ein Zugrundegehen der Spermatogonien; in dieser Phase pflegt die Nekrose stationär zu sein. Nur in sehr schweren Fällen greift der Prozeß auch auf die Sertolizellen über, eventuell sogar auf die Tubuliwand selbst. Dann sieht man hyaline Entartung der Membrana propria und Obliteration der Tubuli, ein Zustand der von Schinz und Slotopolsky als „Spermatoangitis obliterans“ angeführt wird. Auch nach Long nimmt bei der Tuberkulinschädigung die Atrophie den oben beschriebenen Verlauf. Nur der mit Röntgenstrahlen behandelte Hoden zeigt offenbar eine andere Reihenfolge der Schädigung (7), dort scheinen zunächst die Spermatogonien dem Schwund zu unterliegen. Die besondere Anfälligkeit der Spermatozyten nach Long konnte ich nicht einwandfrei feststellen, vielmehr erschienen mir sowohl Spermatozyten als Spermatiden fast immer gleichzeitig betroffen. Allerdings verfolgte ich in einer Reihe von Fällen degenerative Erscheinungen mit Vakuolenbildung im Bereich der Spermatozyten, während die Spermatiden nur in geringem Maße daran beteiligt waren. Untersuchungen mit gleichbleibenden Tuberkulindosen, aber Tötung der Versuchstiere in verschiedenen Zeitabständen würde wohl Klarheit darüber schaffen. Insofern besitzt das Tuberkulin nach meinen Befunden keine elektive Wirkung auf bestimmte Keimzellen, sondern zeigt im wesentlichen denselben Verlauf der Atrophie, wie ihn Schinz und Slotopolsky für eine Reihe von einwirkenden Reizen dargestellt haben. Dagegen ist Long zweifellos im Recht, wenn er angibt, daß das Tuberkulin beim tuberkulösen Meerschweinchen nach intratestikulärer Injektion insofern eine absolut spezifische Wirkung entfaltet, als es noch in kleinsten Dosen Atrophie bewirkt, während es auch bei Verwendung sehr großer Dosen im Hoden des normalen Tieres keine pathologischen Veränderungen hervorruft. Versuche mit entsprechend eingedickter, aber nicht geimpfter Glyzerinbouillon haben zudem erwiesen, daß auch mit der hundertfachen Menge dieser Substanz entweder keine Atrophie erreicht werden kann, oder aber die nach

intratestikulärer Injektion bewirkten Veränderungen nicht nur bei tuberkulösen Meerschweinchen, sondern auch bei normalen Kontrolltieren in gleicher Weise zu beobachten sind.

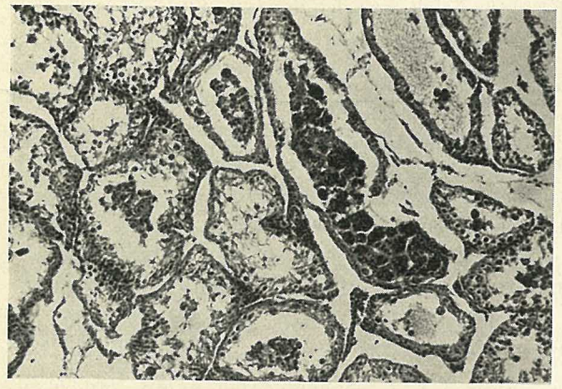

Fig. 1. Riesenzellbildung. Behandelter Hoden eines infizierten Meerschweinchens, 10 Tage nach der Injektion gestorben. Der unbehandelte Hoden zeigt in manchen Kanälchen Auflockerung des Parenchyms. Der behandelte Hoden akute, hochgradige Desquamation mit Riesenzellbildung. 83fache Vergrößerung. In der Mitte und oben sieht man ein langgestrecktes Kanälchen mit auffallend dunkler Granulierung, hervorgerufen durch den Zusammenfluß mehrerer Zellen zu Riesenzellen. Auch links davon lassen sich die dunkler granulierten, kugeligen Riesenzellen in einer Reihe von Kanälchen unterscheiden. Im übrigen zeigen die Kanälchen starke Desquamation mit teilweisem Verlust der innersten Zelllagen.

Wir wissen, daß die Spermatozoen außerordentlich widerstandsfähig sind. Ihr Verschwinden ist wohl nicht in einer Schädigung dieser Zellen selbst zu suchen, sondern zunächst werden die empfindlichen Spermatiden betroffen. Im ersten Stadium zeigt sich an diesen noch keine sichtbare Veränderung, aber die spermatogenetische Funktion hört auf. Die vorhandenen Spermatozoen fließen physiologischerweise durch das Lumen der Kanälchen ab. Die Neubildung aus den geschädigten Spermatiden unterbleibt, und so scheinen die Spermatozoen atrophiert zu sein. Dagegen zeigen sich sowohl die Spermatiden als auch die Spermatozyten schnell geschädigt. Sie beteiligen sich zunächst nicht mehr an der Spermatogenese, wie oben schon festgestellt wurde, es werden sodann Zellveränderungen in der Art der Zelldegeneration wahrnehmbar, dabei lösen sie sich aus dem in der Regel wohlgereihten Verband, vermengen sich untereinander, indem sie gegen das Lumen zu rücken. Die Spermatozyten können dabei zu eigentümlichen Riesenzellen (vgl. Fig. 1) mit mehreren Kernen zusammenfließen, Bilder, die Schinz und Slotopolsky beschrieben und die auch ich in einigen Fällen der Frühreaktion verfolgt habe. Oft sah ich auch eine enge Vermengung der Spermatozyten und der Spermatiden mit den Spermatozoen. Nach einiger Zeit sind diese drei innersten Zellschichten verschwunden. Allein die Schicht der Spermatogonien und der Sertolizellen, in anderen Fällen die Sertolizellen allein, liegen wohlgeordnet an der Basalmembran der Tubuli. Was die intertubulären Vorgänge im frühen Stadium anlangt, so fand ich dieselbe Erscheinung wie Long, nämlich sehr oft ein ausgeprägtes entzündliches Oedem. Die Kapillaren sind hierbei strotzend mit Blut gefüllt, außerdem findet sich eine perivaskuläre oder diffuse Infiltration von polynukleären, mononukleären und auch eosinophilen Wanderzellen. Die Bindegewebszüge sind hierbei außerordentlich auseinandergezogen.

Fig. 2. Wie Fig. 1. 480fache Vergrößerung. Ausschnitt eines Tubulus. An der rechten oberen Grenze ist die Membran des Tubulus an den spindeligen Kernen des Bindegewebes zu erkennen. Die Riesenzellen mit den kreisartig geordneten Kernen beherrschen das übrige Gesichtsfeld.

Im Spätstadium sieht man von den genannten Erscheinungen nichts mehr, als vielleicht vergrößerte intertubuläre Abstände; die einzelnen Bindegewebsfasern liegen dann weit auseinander, zuweilen sind sie vermehrt. Die Leydigschen Zellen oder Zwischenzellen erscheinen in den intertubulären Winkeln angehäuft. Doch ist hier die Deutung einer echten Hyperplasie nicht ohne weiteres auszusprechen. Bekanntlich wird den Leydigschen Zellen eine innersekretorische Funktion zugeschrieben, der im sexuellen Leben als Hormon eine große Bedeutung zukommt. In ausgedehnten Untersuchungen (8) hat man umständliche Meßmethoden gefunden, die eine quantitative Schätzung gestatten sollen, auf die aber hier nicht näher eingegangen werden kann. Doch muß hier eine andere Erscheinung am atrophischen Hoden des späten Stadiums erwähnt werden, nämlich die Schrumpfung der Kanälchen noch unter die Hälfte ihrer normalen Größe. Ueberlegen wir uns, daß das spezifische Keimgewebe fast verschwunden ist und die Kanälchen kleiner geworden sind, so ist es einleuchtend, daß die noch funktionierenden, in gleicher Größe bestehenden Zwischenzellen im Bilde der atrophischen Tubuli sehr viel deutlicher hervortreten und so leicht dazu verführen, eine Vermehrung derselben anzunehmen. Ob das im einzelnen der Fall ist oder nicht, läßt sich allerdings nur durch Messungen feststellen.

Ein für die Beurteilung der histologischen Befunde wichtiges technisches Moment ist die angewandte Fixierung. Die Formalinfixierung bedeutet einen starken Insult des empfindlichen Keimgewebe. Wie sich besonders aus einer beigefügten Figur (vgl. Fig. 3), die typische Formalinschäden des Hodens zeigt, ergibt, ver-

mögen diese artifiziellen Veränderungen den Nichtgeübten leicht in der Beurteilung des Gesehenen zu verwirren. Am besten bewährt hat sich die Fixierung nach Stieve, bei der ein etwa auf Körperwärme gebrachtes Gemisch von 76 Teilen gesättigter, wässeriger Sublimatlösung, 4 Teilen Eisessig und 20 Teilen konzentrierten Formols verwendet wird, und auch die übrigen Prozeduren werden am besten im Thermostaten bei Körpertemperatur vorgenommen (s. Fig. 3).

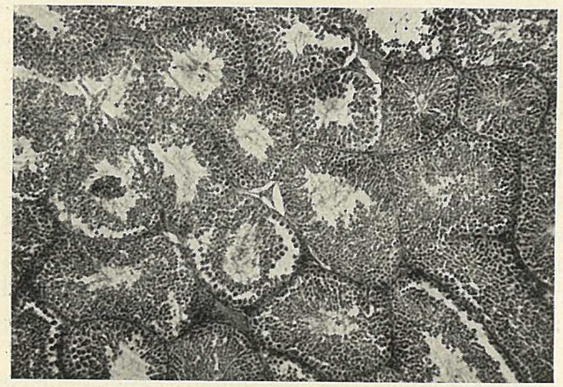

Fig. 3. Formalinveränderung. Normaler Hoden eines unbehandelten Tieres. Formalinfixierung. 70fache Vergrößerung. Auf der rechten Seite einige unveränderte, regelmäßig angeordnete Tubulis. Links und rechts unten Tubulis mit von der Grundmembran abgehobenen oder vom Zentrum retrahierte spermatogenetische Schichten. Effekt der Formalinfixierung.

Die durch die Formalinfixierung bedingten Schäden am Hodengewebe bestehen, wie man oft an derart gehärteten Hoden normaler Tiere wahrnehmen kann, in Abhebungen des Epithels, Klüften und Lücken, die auf eine durch die Fixierung hervorgerufene Schrumpfung zurückzuführen sind. Oft finden sich die intertubulären Räume sehr ausgedehnt, eine Erscheinung, die unter Umständen mit ödematösen Veränderungen verwechselt werden könnte. Aber hier sehen wir nicht das in netzartige Faserzüge aufgelöste Bindegewebe und Wanderzelleninfiltration, sondern die Kontinuität des Bindegewebes erweist sich bei

Fig. 4. Randatrophie. Unbehandelter Hoden eines infizierten Tieres. Vergrößerung 70fach. Gegen die Mitte des Hodens liegen die normal großen Tubuli mit vollständigen 4 Schichten der Spermatogenese. Auf diesem Bilde sieht man den Uebergang zu der atrophischen Zone einer Randpartie. Die Tubuli nehmen gegen die Peripherie hin an Größe ab, und das Parenchym atrophiert mehr und mehr. Ein Zustand, den ich ebenso oft an Hodenschnitten von normalen, unbehandelten Tieren sah.

genauer Betrachtung als unterbrochen. Ebenso finden sich intratubulär ringartige Abhebungen zwischen der einen oder anderen Epithelschicht, oder auch eine Abhebung des Keimgewebes von der Grundmembran. In anderen Fällen ist ein sehr großes Lumen durch Rückzug des Keimepithels vom Zentrum festzustellen und in wieder anderen Fällen bestehen sektorartige Lücken innerhalb des sonst mehr oder minder in zirkulären Reihen angeordneten Keimgewebes. Auch Ablösung einzelner Zellen aus dem Verband findet sich nicht selten. Betrachtet man den Hoden im Uebersichtsbild, so findet man nicht selten retrahierte Tubulibezirke, die durch weite Abstände von anderen Tubulibezirken getrennt sind.

Solche künstlich hervorgerufenen Veränderungen bedeuten naturgemäß für die histologisch-pathologische Beurteilung der Hodenschnitte eine erhebliche Erschwerung. So lassen sich vielfach schon beim normalen, intakten Hoden auf dem gleichen Schnitt die verschiedensten Stufen von intakten Tubuli mit wohlgebildeten Keimzellreihen bis zur totalen, durch Schwund des Epithels und Schrumpfung der Tubuli charakterisierten Atrophie einzelner Bezirke auffinden. Da diese Veränderung fast regelmäßig die Randpartien betreffen, so habe ich sie in meinen Protokollen als „Randatrophie“ bezeichnet (vgl. Fig. 4).

Was den technischen Teil der Protokollierung betrifft, so habe ich aus Gründen der Uebersichtlichkeit und um einen Vergleich in quantitativer Hinsicht zu ermöglichen, die Befunde in 6 Gruppen eingereiht:

Atrophie I: der geringste Grad der Atrophie.
Atrophie II: Atrophie mittleren Grades.
Atrophie III: starke Atrophie.
Atrophie IV: völliger Schwund der Tubuli.
Gruppe V (mit o bezeichnet): keine pathologischen Veränderungen.
Gruppe VI: umfaßt die unter den Begriff der Atrophie nicht einreihbaren Fälle, die als Atypie bezeichnet werden.

In der VI. Gruppe habe ich eine Reihe von übereinstimmenden Fällen, deren pathologische Veränderungen der oben geschilderten Frühreaktion entsprechen, zusammengefaßt. Es handelte sich hierbei, wie hernach festgestellt wurde, meist um Tiere, die aus irgendwelchen Ursachen vor der 4 Wochenfrist starben.

Bei der histologischen Beurteilung der Hodenpräparate wurde die Aufmerksamkeit besonders auf folgende Punkte gerichtet:

1. Wieviel Schichten des Hodenepithels noch intakt sind.
2. Ob in den Samenkanälchen noch Sperma vorhanden ist.
3. Auf das Interstitium zwischen den Tubuli.
4. Besondere Eigentümlichkeiten des betreffenden histologischen

Bildes, wie etwa: Lokalisation der Atrophie, Degenerationsmerkmale, Tubuligröße u. a.

Unklare Fälle suchte ich durch Serienschnitte zu klären. Hernach wurden die histologischen Protokolle mit den Sektionsbefunden des Staatlichen Instituts für experimentelle Therapie verglichen. Auf Grund dieser Erhebungen wurden 19 Tiere, die vor der Zeit interkurrent gestorben waren, ausgeschieden und als besondere Gruppe zusammengefaßt. Eine besondere Gruppe bilden außerdem die zur Kontrolle untersuchten Hoden normaler, weder infizierter noch mit Tuberkulin behandelter Meerschweinchen.

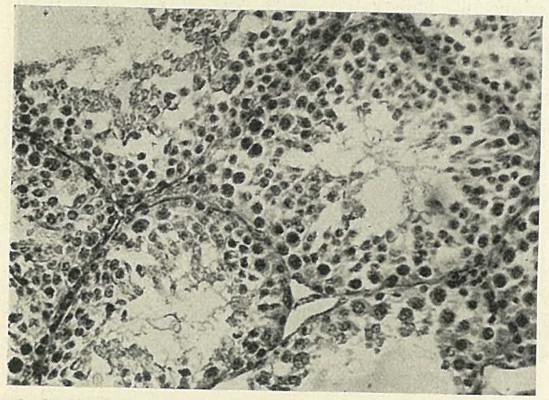

Fig. 5. Atrophie I. Behandelter Hoden eines infizierten Meerschweinchens (Standardtuberkulin, 0,1 ccm in Lösung von 1:200). 200fache Vergrößerung. Dieses Bild zeigt einige weniger gefärbte Tubuli in Vergrößerung, so daß die Zellelemente unterscheidbar werden. Zunächst sieht man die linienförmige Tubuliwand mit den spindelförmigen Bindegewebskernen, dann die Sertolizellen mit dem charakteristischen hellen Protoplasma. Dann folgen die Spermatogonien und Spermatozyten, die zum größten Teil noch gut erhalten sind. Die Spermatiden sind entweder verschwunden oder in Degeneration begriffen, angezeigt durch die verschwommene Kontur und geringe Farbintensität (als helle Tönung erkennbar). Lockerung des Zellverbandes und Koagulation der Spermatiden. Die Spermien sind noch in dem einen oder anderen Tubulus in der Mitte als kommaförmige Gebilde erkennbar, allerdings nur noch in geringer Zahl und ohne Ordnung.

Derartige Untersuchungen von Normalpräparaten waren in Anbetracht der weitgehenden Variabilität des histologischen Bildes, vor allem auch wegen der oben geschilderten Einflüsse der Formalinfixierung erforderlich.

Zu erwähnen wäre noch, daß eine Einteilung in 5 Gruppen, wie sie Schinz und Slotopolsky im allgemeinen für zweckentsprechend halten (5 und 6), für die vorliegende Aufgabe nicht in Betracht kam. Die erste Gruppe der genannten Autoren stimmt mit der Frühreaktion von Long überein, während die 5. Gruppe einen Endzustand darstellt, der in der Frist von 4 Wochen bzw. bei dem Grad der in diesen Versuchen gesetzten Schädigung des Hodens überhaupt nicht erreicht wurde. Das von mir verwendete Schema der drei Atrophiegrade entspricht den mittleren, von Schinz und Slotopolsky als Uebergangsstation angesehenen Gruppen. Für den vorliegenden Zweck reicht die Einteilung der Fälle in diese drei Gruppen zur Entscheidung der Frage aus, ob sich scharfe Grenzen zwischen den Atrophiegraden proportional den Tuberkulindosen auffinden lassen. Daß in den einzelnen Gruppen Fälle, die nicht vollständig, sondern zum Teil nur annähernd miteinander übereinstimmen, zusammengefaßt werden, hat sich naturgemäß nicht vermeiden lassen.

Zum besseren Verständnis der nachfolgenden Untersuchungen sei nachstehend eine kurze Erklärung der verschiedenen Atrophiegrade gegeben:

Atrophie I. Die Keimzellen erscheinen nicht mehr in vier wohlgeordneten Schichten. Die Spermatozoen sind verschwunden, die Spermatiden ebenfalls zum größten Teil. Das Epithel erscheint meist 2—3reihig. Degenerative Erscheinungen sind an einem Teil der zurückbleibenden Zellen zu sehen. Im Nebenhoden befinden sich nekrotische Zellelemente, meist Spermatiden mit (seltener) einzelnen Spermatozoen vermengt, oder es findet sich überhaupt kein Inhalt mehr (Fig. 5).

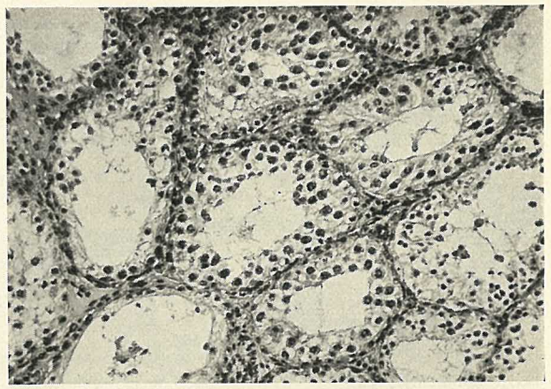

Fig. 6. Atrophie II. Injizierter Hoden eines infizierten Tieres. Standardtuberkulin 0,1 ccm in Lösung 1:50. Vergrößerung 150fach. Dieses Bild zeigt die vollständige Atrophie der innersten Keimzelllagen und Degeneration und Karyolyse der Spermatozyten. Man beachte das Interstitium, das vor allem in den Tubuliwinkeln schon stärker in Erscheinung tritt, als Folge der zunehmenden Schrumpfung der Tubuli.

Fig. 7. Atrophie III. Uebersichtsbild. 15fache Vergrößerung. Douglastuberkulin (Tb. 100) 0,1 ccm in Lösung 1:400. Injizierter Hoden eines infizierten Tieres. Das Uebersichtsbild ist typisch für die Atrophie III, mit Ausnahme einer starken Infiltration des Interstitiums in manchen Bezirken. Die Tubuli erscheinen leer, die Konturen der Grundmembran scharf, die Tubuli selbst haben um die Hälfte oder gar mehr als die Hälfte an Größe abgenommen. Auch die Kanälchen des Nebenhodens erscheinen leer.

Atrophie II. Auch die Spermatozyten fehlen in den meisten Tubuli, teilweise degenerative Erscheinungen an den Spermatogenien. Das Epithel erscheint 1—2reihig (Fig. 6).

Atrophie III. Die Spermatogonien sind großenteils ver-

schwunden. Die Sertolizellen haben sich an ihrer Stelle aufgerichtet, so daß die Membrana propria von einer einreihigen Zellschicht gegen das Lumen begrenzt wird. (Die Sertolizellen sind charakterisiert durch einen dunklen, scharf gezeichneten Kern und helles Protoplasma). Zum Teil fehlen aber selbst die Sertolizellen, so daß das Epithel meist 0—1reihig ist. In den beiden zuletzt genannten Gruppen erscheint das Lumen der Nebenhodenkanälchen meist ohne Inhalt (Fig. 8).

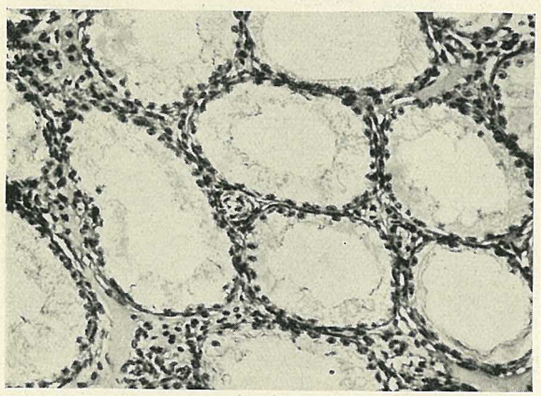

Fig. 8. Dasselbe Präparat wie Fig. 7 in 180facher Vergrößerung. In diesem Bilde erkennt man die Zellelemente deutlicher. Außer den Bindegewebszellen sieht man in der Regel nur eine Zellreihe, die der Sertoli- oder Stützzellen. Seltener die eine oder andere Spermatogonie, auffallend an der dunklen Tönung, während die Sertolizellen neben einem dunklen, scharf abgegrenzten Kern durch ihr helles Protoplasma schon bei dieser Vergrößerung zu unterscheiden sind. Das Interstitium zeigt Quellung und Vermehrung des Bindegewebes (in diesem Stadium Ausnahme!!), Rundzelleninfiltration. Auch die Leydigschen Zellen sind zu erkennen, z. B. im linken oberen Feld.

Aus der Liste der 4 Wochen nach der Injektion getöteten Tiere.

In den nachfolgenden Tabellen steht der Befund am unbehandelten Hoden über dem Bruchstrich, jener des mit Tuberkulin (in der angegebenen Verdünnung) injizierten Hoden unter dem Bruchstrich. Reihen mit einem voranstehenden T betreffen mit Tuberkelbazillen infizierte Tiere. Reihen mit einem voranstehenden C betreffen normale Kontrolltiere. 0 bedeutet keine pathologische Veränderung, 1 = Atrophie I, 2 = Atrophie II, 3 = Atrophie III und at = atypische Veränderung.

I. Standard-Tuberkulin.

Verdünnung		Veränderungen						
1:10	T:	0/3	C: 0/at	at/at				
1:25	T:	0/1	0/0	0/3	at/3	0/3	1/2—3	
	C:	0/0	0/0	0/0	0—at/at	1/2		
1:50	T:	0/3	2/2—3	1/2	at/3	0/fehlt	C: 0/0	
1:100	T:	0/2—3	0/1	0/1	0/2	1/2—3	C: 0/0	0/0

Verdünnung		Veränderungen							
1:200	T:	0/1	0/2—3	0/0—1	0/1—2	0/3	0/3	0/1—2	
		0/2	0/1—2	C: 0/0					
1:400	T:	at/2	0/2—3	0/0—1	0—1/1	3/3	0/3	0/2	0/2
1:800	T:	0/0—1	1/1	0/0—1	C: 0/0				
1:1600	T:	3/3	0/2—3						

Diese Untersuchungen zeigen in quantitativer Hinsicht keinen scharfen Parallelismus zwischen dem Grad der Tuberkulinverdünnung einerseits und dem Grad der Atrophie andererseits. Die Kontrolltiere entsprechen im ganzen der Forderung, indem in den Hoden überhaupt keine oder wenigstens keine atrophische Veränderungen nachzuweisen sind. Unter zwölf Kontrollflächen sah ich nur ein einziges Mal Atrophie; dieselbe betraf aber beide Hoden, so daß sie ebensogut vor der Behandlung aus irgendeinem unbekannten Grunde bestanden haben könnte. Dasselbe läßt sich auch vielleicht in jenen vollständig aus der Reihe fallenden Versuchen annehmen, wo sich beide Hoden gleichmäßig und hochgradig atrophiert erwiesen, wie beim Meerschweinchen 1 der Verdünnung 1:1600 und bei Tier 5 der Verdünnung 1:400.

II. Tuberkulin (Tb. 100) Kapt. Douglas-London.

Verdünnung		Veränderung			
1:50	T:	0/3	0—1/3	C: 0/0	1/1
1:100	T:	2—at/2	0/fehlt	C: 0/0	0/0—at
1:200	T:	2/3	0/3		
1:400	T:	0/3	0/1		
1:1000	T:	0/2—3	0/2—3		
1:200	T:	1—at/1—at	0/at		

Dieses Mal stimmen die Resultate besser überein, doch fallen auch hier 2 Tiere aus.

III. Tuberkulin (Bovo) Merck 20/21.

Verdünnung		Veränderung		
1:200	T:	0/3	C: at/at	0/0

Verdünnung		Veränderung	
1:400	T:	0/2	
1:800	T:	0/0—1	1/1—2
1:1600	T:	0/0	0/0
1:3200	T:	0/0—1	0/1

Diese Reihe zeigt eine annähernde Uebereinstimmung von Konzentration und Atrophie.

In den zur Kontrolle mit Glyzerinbouillon, Novoprotein und Caseosan angesetzten Versuchsreihen waren, trotz konzentrierter Dosen, meist keinerlei Veränderungen nachweisbar. In anderen Fällen war zwar eine mehr oder minder starke Atrophie festzustellen, deren Grad indessen der angewandten Konzentration nicht parallel ging und die zudem sowohl bei infizierten Tieren als auch bei Kontrolltieren angetroffen wurde, also zweifellos nicht spezifisch war.

Es erübrigt sich, auf die Ergebnisse der anderen Versuchsreihen, die mit den seither geschilderten Resultaten ziemlich übereinstimmen, im einzelnen einzugehen. Die Ansicht Longs, daß das Tuberkulin spezifisch auf das Keimepithel des tuberkulösen Tieres wirkt, besteht danach zweifellos zu Recht. Da indessen die nach intratestikulärer Injektion fallender Tuberkulinverdünnungen im Hodengewebe tuberkulöser Meerschweinchen nachweisbaren Veränderungen die für eine quantitative Wertbemessung des Alttuberkulins erforderliche scharfe Abstufung nicht erkennen lassen, bietet die Spermatozytreaktion gegenüber den anderen Prüfungsmethoden, besonders gegenüber dem subkutanen Verfahren, keine besonderen Vorteile. Selbst wenn durch besondere Auswahl der zu verwendenden Tiere die Resultate noch verbessert werden könnten, würden sich doch wohl jene Schwankungen, die wir der individuellen Resistenz der Tiere zuschreiben, wohl nicht völlig ausschalten lassen.

Vorstehende Arbeit wurde am Senckenbergisch-Pathologischen Institut der Universität (Direktor Prof. Dr. B. Fischer-Wasels) und am Staatsinstitut für experimentelle Therapie (Direktor Geh.-Rat Prof. Dr. W. Kolle) zu Frankfurt a. M. angefertigt. Außer den genannten Herren bin ich Herrn Prof. Dr. Schlossberger (Staatsinstitut für experimentelle Therapie) und Herrn Prof. Dr. Schwarz (Senckenbergisch-Pathologisches Institut) für ihren fördernden Rat, Herrn Dr. Slotopolsky (Neurol. Institut) für einige Literaturhinweise, Herrn Hch. Maas (wissenschaftlicher Photograph am Georg-Speyer-Haus Frankfurt a. M.) für die Herstellung der Mikrophotographien, von denen leider nur acht in der vorliegenden Arbeit wiedergegeben werden konnten, sehr zu Dank verpflichtet.

Literatur.

1) Hetsch, H., Schlossberger, H., u. Wichmann, F. W., Experimentelle Untersuchungen über die Wertbestimmung des Tuberkulins. Dtsch. med. Wochenschr., Bd. 54, 1921, Nr. 15, S. 607.
2) Long, R. E., Standardization of Tuberculin. Essay on the basis of the Spermatocyte-reaction. Journ. of Inf. Dis., Vol. 37, 1925, p. 368.
3) Benda, C., Die Entwicklung des Säugetierhodens. Verhandl. d. Anat. Gesellschaft, 3. Versammlung 1889.
4) Hermann, F., Die postfötale Histogenese des Hodens der Maus bis zur Pubertät. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 34, 1889.
5) Schinz, R., u. Slotopolsky, B., Experimentelle und histologische Untersuchungen am Hoden. Dtsch. Zeitschr. f. Chir., Bd. 188, 1924, Heft 1/2.
6) — — Beiträge zur experimentellen Pathologie des Hodens sowie zur Histologie und Histogenese des normalen Hodens, der Hodenatrophie und der Hodennekrose. Denkschr. d. Schweizer Naturforsch. Gesellschaft, Nr. 61, Abh. 2, 1924.
7) — — Der Röntgenhoden. Ergebn. d. med. Strahlenforschung, Bd. 1, 1925.
8) — — Methodik experimenteller und histologischer Untersuchungen am Hoden. Handb. d. biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V, Teil 3 B, 1927.
9) Otto, R., u. Hetsch, H., Die Prüfung und Wertbemessung der Sera und Impfstoffe. Arbeiten aus dem Staatsinstitut f. exper. Therapie u. d. Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M., Heft 19, 1927.

Aus dem Chemotherapeutischen Forschungsinstitut „Georg Speyer-Haus“
in Frankfurt a. M.

II.

Studien über Immunität bei Syphilis[1]).

Von

W. Kolle und **R. Prigge.**

Die Frage, ob es eine echte aktive Immunität bei Syphilis gibt, ist von großer Bedeutung nicht nur für manche Probleme des Verlaufes dieser Krankheit, namentlich für das Auftreten spätsyphilitischer Erkrankungen, wie Paralyse, Aortitis, Tabes usw., und für die Vorstellungen über die Pathologie der Syphilis im allgemeinen, sondern auch für die Therapie. Es kann sich z. B. die Frage ergeben, ob nicht durch gewisse therapeutische Maßnahmen die Entstehung einer echten aktiven Immunität verhindert und damit den Rezidiven und der Spätsyphilis die Möglichkeit zur Entfaltung gegeben wird.

Seit mehr als 100 Jahren ist den Syphilidologen bekannt, daß Menschen, die an Syphilis erkranken, diese Krankheit nur in außerordentlich seltenen Fällen zum zweiten Male erwerben können. Um diese Grundtatsache der Syphilisimmunität zu erklären, vertraten die meisten Forscher den Standpunkt, daß die Syphilis ohne Behandlung fast niemals zur Ausheilung komme, sondern als chronische Erkrankung bis zum Lebensende bestehen bleibe. Die Syphilisimmunität wurde allgemein von Klinikern und Experimentatoren als eine Infektionsimmunität betrachtet, die Unempfindlichkeit gegen Neuinfektionen wurde auf das Vorhandensein von Spirochäten im infizierten Organismus zurückgeführt. Nur da, wo ein infiziertes Individuum durch therapeutische Maßnahmen oder durch völlige Ausheilung der Syphilis bzw. Selbststerilisierung auf biologischem Wege spirochätenfrei geworden war, sollte nach dieser Auffassung, zu der sich vor allem auch A. Neisser, P. Ehrlich, Jadassohn, E. Hoffmann, Zieler u. a. bekannt haben, eine neue Infektion mit Schankerbildung haften können.

1) Diese Arbeit ist eine Ergänzung der unter dem Titel „Gibt es eine echte aktive Immunität bei Syphilis?“ erschienenen Veröffentlichung in Nr. 24 der Dtsch. med. Wochenschr., 1929.

Ein erfolgreiches Studium der Syphilisimmunität wurde erst durch den Tierversuch ermöglicht und nahm seinen Ausgang von Untersuchungen über die syphilitische Superinfektion.

Wird ein Tier bei bestehender Erkrankung mit dem gleichen Krankheitserreger nochmals infiziert, so spricht man von Superinfektion; findet die zweite Infektion erst nach dem völligen Abheilen der ersten Erkrankung statt, so handelt es sich um Reinfektion (im engeren Sinne; die Bezeichnung „Reinfektion“ wird außerdem vielfach ganz allgemein für die zweite Impfung mit dem gleichen Krankheitserreger an Stelle des Ausdruckes „Nachimpfung“ bzw. „Wiederimpfung“ verwandt).

Die syphilitische Superinfektion wurde experimentell zuerst von Neisser, Finger und Landsteiner, Kraus und Volk u. a. an Affen und Menschen studiert. Dann wurde diese Frage von Kolle in großen Experimentalreihen beim Kaninchen untersucht. Diese Untersuchungen, die von Frei, Voegtlin, Chesney, Mulzer, Strempel und Armuzzi und zahlreichen anderen Autoren bestätigt wurden, ergaben folgendes: Syphilitische Kaninchen, die vor dem 90. Krankheitstag mit dem homologen (d. h. mit dem zur Erstimpfung verwandten) Stamm nachgeimpft werden, erkranken in einem gewissen Prozentsatz, der um so geringer wird, je größer die Zeitdifferenz zwischen der ersten und zweiten Impfung ist, nochmals unter Ausbildung eines typischen zweiten Schankers. Nach dem 90. Tage ist eine zu manifesten Erscheinungen führende Superinfektion niemals zu beobachten (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1.

Stand der ersten Infektion zur Zeit der Nachimpfung	Nachimpfung; Tage nach Erstinfektion	Resultat und Verlauf der Nachimpfung
glatt (später typ. Schanker)	9	typischer Primäraffekt
Infiltrat oder Knoten (später typischer Schanker)	14	dgl.
typischer Schanker	28	„
dgl.	40	„
„	50—60	teils negativ, teils positiv
Schankerrückgang	60—70	meistens negativ, doch zuweilen entwickelte Schanker
Schanker rückgängig	70—90	fast immer negativ, äußerst selten schwach entwickelte Schanker
Schanker ausgeheilt	90—200	stets negativ

Wird jedoch an Stelle des homologen Stammes zur Nachimpfung ein heterologer Syphilisstamm verwendet, so kann man auch nach dem 90. Krankheitstage bei etwa 50 Proz. der Tiere einen zweiten charakteristischen Primäraffekt erzeugen. Die Immunität des Ka-

ninchens ist also eine sogenannte Monoimmunität: ein Schutz gegen die neue Bildung eines Schankers besteht in 100 Proz. der Fälle nur dann, wenn die zweite Infektion mit dem gleichen Spirochätenstamm ausgeführt wird wie die erste.

Anders als beim Kaninchen liegen die Immunitätsverhältnisse beim Menschen. Kolle hat darauf hingewiesen, daß die Seltenheit der positiven Neuinfektionen bei Syphilitikern nur durch die Annahme einer Panimmunität erklärt werden kann: Lägen die Verhältnisse gerade so wie beim Kaninchen, so müßten z. B. bei latent syphilitischen Individuen, die einer erneuten Infektionsmöglichkeit nicht aus dem Wege gehen und dabei meist mit heterologen Stämmen in Berührung kommen dürften, häufig neue Primäraffekte beobachtet werden. Dies ist bekanntlich niemals der Fall. Der Luetiker besitzt also nicht nur eine Monoimmunität gegen den homologen Stamm, der die Erstinfektion bewirkt hat, sondern eine auch gegen heterologe Stämme gerichtete Panimmunität.

Pearce und Brown haben festgestellt, daß die Kniekehlendrüsen (Poplitealdrüsen) unbehandelter syphilitischer Kaninchen lebenslänglich infektionstüchtige Spirochäten enthalten; durch Verimpfung dieser Poplitealdrüsen auf die Hoden normaler Kaninchen konnten Pearce und Brown regelmäßig typisch syphilitische Primäraffekte erzeugen, vor allem auch dann, wenn alle manifesten Erscheinungen verschwunden waren und die Tiere sich in der Immunperiode befanden. Aus den geschilderten Tatsachen geht hervor, daß von echter Immunität bei Syphilis nicht die Rede sein kann. Das syphilitische Kaninchen erwirbt nur eine „Schankerimmunität" (Kolle), die ihm im Falle einer Neuinfektion Schutz gegen abermalige Schankerbildung gewährt; diese Immunität reicht aber nicht aus, um den Körper vollständig von den bei der ersten Infektion eingedrungenen Spirochäten zu befreien.

Nun ist neuerdings besonders durch die Arbeiten von amerikanischen Forschern, namentlich von Chesney (1), diese allgemein angenommene Lehre angegriffen worden. Chesney und Kemp (2) gingen aus von den von Kolle (3, 4) ausgeführten Abortivheilungsversuchen bei experimenteller Kaninchensyphilis. Durch seine Arbeiten war der Nachweis erbracht, daß eine Frühbehandlung syphilitischer Kaninchen in den ersten 45 Tagen nach der Infektion in einem großen Prozentsatz zur Ausheilung der Krankheit führt. Zum Nachweis dieser Ausheilung wurde die Reinfektion benutzt. Diejenigen Tiere, die innerhalb dieser Periode mit großen Dosen von Salvarsan behandelt waren, mußten, wenn 3 Monate später die Reinfektion vorgenommen wurde, auf Grund des Auftretens typischer Primäraffekte, die sich wie bei frischen Tieren entwickelten, als geheilt angesehen werden, während die nach dem 45. Tage mit großen Dosen behandelten Tiere nur in

geringem Prozentsatze, die nach dem 90. Tage behandelten niemals Primäraffekte aufwiesen und so als nichtsterilisiert, d. h. infektionsimmun betrachtet werden konnten (vgl. Tab. 2).

Tabelle 2.

Anzahl der Tiere[1])	Abortivbehandlung		Reinfiziert nach Tagen	Resultat	
	nach Tagen	mit		+	—
9	3	Neosilbersalvarsan + Hg	110	8	1
4	3	Neosilbersalvarsan	112	4	0
13	15	Neosilbersalvarsan	120	11	2
5	19	„1495"	100	5	0
14	30	Neosilbersalvarsan	135	11	3
9	45	Neosilbersalvarsan + Novasurol	160	5	4
4	45	Neosilbersalvarsan	160	0	4
7	60	Neosilbersalvarsan + Novasurol	135	1	6
6	60	Neosilbersalvarsan	135	1	5
6	90	Neosilbersalvarsan + Novasurol	138	1	5
6	90	Neosilbersalvarsan	138	1	5
5	74—121	Neosilbersalvarsan	106—156	0	5
7	über 170	Silbersalvarsan	362—384	0	7
4	172	Novasurol	270	0	4
4	über 200	Neosalvarsan	312	0	4
2	über 200	„1882"	408	0	2

1) Infiziert mit Truffistamm.

Chesney bestätigte ebenso wie Frei, Worms, Reiter diese Versuche von Kolle vollauf, gab ihnen aber eine andere Deutung, indem er folgende Erwägungen anstellte: Die in der Frühperiode mit Salvarsan behandelten Tiere bekommen bei Reinfektion deshalb Primäraffekte, weil durch die Frühbehandlung die Durchseuchung, die allein zur echten aktiven Immunität führt, durchbrochen ist. Behandelt man die syphilitisch infizierten Tiere aber 3—6 Monate nach der Infektion oder später mit Salvarsan, so werden sie auch sterilisiert, aber zugleich aktiv immun, weil sie durchseucht waren. Infolge dieser nach der Sterilisierung verbleibenden Immunität haftet bei ihnen die Reinfektion nicht. Chesney versuchte, seine Theorie durch Verimpfung von Lymphdrüsen zu bekräftigen. Es zeigte sich in seinen Versuchen, daß die Lymphdrüsen der syphilitisch infizierten Tiere, die in der Spätperiode der Infektion mit Salvarsan behandelt waren, bei Verimpfung auf gesunde Tiere sich nicht als infektiös erwiesen. Chesney kannte allerdings bei Ausführung seiner Versuche zwei wichtige Tatsachen noch nicht, nämlich die von Kolle und Schlossberger (5) durch Drüsenverimpfung nachgewiesene symptomlose Superinfektion und die damit in Zusammenhang stehende Tatsache der sogenannten „Schankerimmunität". Denn — sei es mit, sei es ohne Therapie — erscheinungsfrei gewordene, aber noch latent infizierte Tiere weisen, trotzdem die Spirochäten wieder in ihren Organismus eindringen, keinerlei Reaktion, namentlich keine Schankerbildung an der Impfstelle auf.

Unter Berücksichtigung dieser neuen Tatsachen haben wir die Frage, ob es eine echte aktive, d. h. zur Vernichtung der Infektionserreger führende Immunität bei Syphilis nach Ausheilung der Krankheit gibt, wie Chesney behauptet, erneut einer experimentellen Prüfung auf breiter Grundlage unterzogen. Es wurde in folgender Weise vorgegangen.

Kaninchen wurden 3—8 Monate nach der Syphilisinfektion mit dem Truffi- oder dem Nicholsstamm dreimal mit 0,1—0,15 g pro Kilogramm Neosalvarsan intravenös behandelt, wie die folgenden Tabellen zeigen. Sie blieben darauf ca. 6 Monate sitzen und wurden dann der Super- bzw. Reinfektion teils mit homologen, teils mit heterologen Stämmen unterworfen. Nach weiteren 6—8 Monaten, d. h. ca 12—14 Monate nach der Salvarsantherapie, wurden dann bei allen Tieren, soweit sie nicht infolge Nachimpfung mit heterologen Stämmen etwa Schanker aufgewiesen hatten, die Lymphdrüsen und Hoden einschließlich der Hodentaschen (i. e. Scrota ohne äußere Haut = Tunicae vaginales parietales) exstirpiert und auf frische Tiere verimpft.

Zur Kontrolle dienten syphilitische Tiere, die in gleicher Weise wie die anderen Tiere mit Salvarsan behandelt waren, aber zu entsprechender Zeit nicht mit syphilitischem Material, sondern mit normalen Organstückchen (Hodenstückchen) gesunder Tiere nachgeimpft wurden.

Die Ergebnisse dieser Versuche lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen.

1. Superinfektion mit homologen Stämmen.

Von 27 mit dem homologen Stamm superinfizierten Kaninchen, bei denen sowohl der Truffi- wie der Nicholstamm verwendet wurde, bekam nur ein am 90. Tage behandeltes und offenbar noch sterilisiertes Tier einen echten Primäraffekt; bei keinem von den übrigen 26 trat die Entwicklung typischer Schanker auf. Nur bei 5 Tieren zeigten sich an der Reinfektionsstelle keine spirochätenhaltige Infiltrate, die den Charakter von Sekundärerscheinungen trugen. Bei 18 Kaninchen, also bei der ganz überwiegenden Mehrzahl der 21 Tiere, die nach der Reinfektion erscheinungsfrei geblieben waren, wurde durch Verimpfung der regionären und anderer Lymphdrüsen, sowie der Hodentaschen bzw. der Hoden (einschließlich der Hodentaschen; Emulsionen) auf gesunde Tiere der Nachweis erbracht, daß diese Organe wieder mit Spirochaeta pallida infiziert waren (Tab. 3), während bei den Kontrolltieren durch Verimpfung niemals eine Infektiosität der Drüsen und Hoden nachweisbar war (Tab. 4).

Tabelle 3.
Infektiosität der Lymphdrüsen und Hoden bei den in der Spätperiode behandelten und mit dem homologen Stamm reinfizierten Tiere.

Kaninchen No.	Behandlung		Nachimpfung mit Schankerstückchen (*homolog.* Stamm)		Organverimpfung		
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis[1])	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
N 1026	**90.**—104.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**200**	—	regionäre Drüsen nichtregiouäre Drüsen Hoden	393 „ „	+ ++ +
N 1061	**90.**—104.	dgl.	**177**	±	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	372 „ „	— ++ +
N 1062	**90.**—104.	„	**177**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	385 „ „	+ ++ +
N 1064	**90.**—104.	„	**177**	+			
T 4216	**90.**—104.	„	**203**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	413 „ „	+ ++ +
T 4218	**90.**—104.	„	**203**	±			
T 4244	**90.**—104.	„	**180**	±			
T 4245	**90.**—104.	„	**180**	±			
T 4246	**90.**—104.	„	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	391 „ „	+ ++ —
T 4254	**90.**—104.	„	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	393 „ „	— + —
N 947	**220.**—234.	„	**194**	±			
N 1029	**220.**—234.	„	**183**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	361 „ „	+ — †
N 1030	**220.**—234.	„	**183**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	362 „ „	— + +
N 1031	**220.**—234.	„	**183**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	363 „ „	+ + —
N 1032	**220.**—234.	„	**183**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	364 „ „	— — +
N 1068	**220.**—234.	„	**192**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	399 „ „	+ — +

N = Nicholsstamm, T = Truffistamm.
Regionäre Drüsen = Inguinal- mit Subiliacal-Lymphdrüsen.
Nichtregionäre Drüsen = Popliteal- mit Präsacral-Lymphdrüsen.

1) Bei den normalen Kontrolltieren, die jeweils mit dem zur Nachimpfung verwandten Schankermaterial infiziert wurden, entwickelten sich stets in regelmäßiger Weise typische Schanker.

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Kaninchen No.	Behandlung		Nachimpfung mit Schankerstückchen (*homolog.* Stamm)		Organverimpfung		
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
N 1069	**220.**—234.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**192**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	401 „ „	+ + +
N 1074	**220.**—241.	dgl.	**185**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	395 „ „	— + —
T 4192	**220.**—234.	„	**191**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	370 „ „	— — —
T 4221	**220.**—234.	„	**184**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	365 „ „	+ + +
T 4222	**220.**—234.	„	**184**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	366 „ „	+ + —
T 4224	**220.**—234.	„	**184**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	368 „ „	— + —
T 4232	**220.**—234.	„	**184**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	369 „ „	† + +
T 4249	**220.**—234.	„	**191**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	371 „ „	+ + +
T 4251	**220.**—234.	„	**191**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	381 „ „	— — —
T 4252	**220.**—234.	„	**191**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	383 „ „	— + +
T 4263	**220.**—241.	„	**183**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	376 „ „	— — —

Tabelle 4.

Kontrollen zu Tabelle 3, bei denen nicht eine Reinfektion, sondern eine Nachimpfung mit Stückchen normalen Hodens vorgenommen wurde.

Kaninchen No.	Behandlung		Nachimpfung mit Stückchen norm. Hodens		Organverimpfung		
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
N 1072	**90.**—111.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**173**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	399 „ „	— — —

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Kaninchen No.	Behandlung		Nachimpfung mit Stückchen norm. Hodens		Organverimpfung		
	Tage nach Injektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
N 1073	**90.**—104.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**180**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	407 „ „	— — —
T 4220	**90.**—104.	dgl.	**203**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	417 „ „	— — —
T 4227	**90.**—104.	„	**203**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	425 „ „	— — —
T 4243	**90.**—104.	„	**180**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	404 „ „	— — —
T 4253	**90.**—104.	„	**180**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	405 „ „	— — —
N 1077	**220.**—234.	„	**192**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	429 „ „	† — —
N 1078	**220.**—234.	„	**192**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	430 „ „	— — †
T 4155	**220.**—234.	„	**179**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	361 „ „	— — —
T 4230	**220.**—234.	„	**184**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	359 „ „	— — —
T 4248	**220.**—234.	„	**192**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	431 „ „	— — —
T 4257	**220.**—234.	„	**192**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	432 „ „	— — —
T 4258	**220.**—234.	„	**192**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	433 „ „	— — —

N = Nicholsstamm, T = Truffistamm.
Regionäre Drüsen = Inguinal- mit Subiliacal-Lymphdrüsen.
Nichtregionäre Drüsen = Popliteal- mit Präsacral-Lymphdrüsen.

2. Superinfektion mit heterologen Stämmen.

Von 26 Tieren, die in gleicher Weise, wie eben mitgeteilt, infiziert und behandelt, aber mit heterologem Virus reinfiziert waren, wiesen 11 typische Schanker und 3 uncharakteristische spirochätenhaltige Infiltrationen auf. Von den 12 übrigen, symptomlos gebliebenen Tieren wurden die Lymphdrüsen und die Hoden verimpft und bei

Tabelle 5.

Infektiosität der Lymphdrüsen und Hoden bei den in der Spätperiode behandelten und mit dem heterologen Stamm reinfizierten Tiere.

Kaninchen[1]) No.	Behandlung		Nachimpfung mit Schankerstückchen [*heterolog.*[2]) Stamm]		Organverimpfung		
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis[3])	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
796	**180**.—194.	1×0,15 g/kg 2×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen	369 „	— †
797	**180**.—194.	dgl.	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen	373 „	— —
799	**180**.—194.	„	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	374 „ „	— + +
800	**180**.—194.	„	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	375 „ „	— — —
1126	**180**.—194.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**196**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	390 „ „	+ + +
1128	**180**.—194.	dgl.	**196**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	399 „ „	— + +
1129	**180**.—194.	„	**196**	+			
1162	**180**.—194.	„	**196**	+			
801	**200**.—214.	1×0,15 g/kg 2×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	369 „ „	— + —
802	**200**.—214.	dgl.	**180**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	369 „ „	— † —
1132	**200**.—214.	„	**177**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	386 „ „	+ + +
1133	**200**.—214.	„	**177**	±			
1135	**200**.—214.	„	**177**	+			
1136	**200**.—214.	„	**177**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	398 „ „	+ + +
1137	**200**.—214.	„	**177**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	399 „ „	+ + +
823	**240**.—254.	„	**207**	+			

Regionäre Drüsen = Inguinal- mit Subiliacal-Lymphdrüsen.
Nichtregionäre Drüsen = Popliteal- mit Präsacral-Lymphdrüsen.

1) Infiziert mit Nicholsstamm.
2) Truffistamm.
3) Bei den normalen Kontrolltieren, die jeweils mit dem zur Nachimpfung verwandten Schankermaterial infiziert wurden, entwickelten sich stets in regelmäßiger Weise typische Schanker.

Tabelle 5 (Fortsetzung).

Kaninchen No.	Behandlung		Nachimpfung mit Schankerstückchen (*heterolog.* Stamm)		Organverimpfung		
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
825	**240**.—254.	1×0,15 g/kg 2×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**207**	—	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hoden	415 „ „	— + —
827	**240**.—254.	dgl.	**207**	±			
828	**240**.—254.	„	**207**	±			
1140	**240**.—261.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**193**	+			
1141	**240**.—261.	dgl.	**193**	+			
1142	**240**.—261.	„	**193**	+			
1143	**240**.—261.	„	**193**	+			
1144	**240**.—261.	„	**193**	+			
1157	**240**.—261.	1×0,15 g/kg 2×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**193**	+			
1160	**240**.—261.	dgl.	**193**	+			

8 durch die Drüsen- und Hodenverimpfung ein neues Eindringen der Spirochaeta pallida in den Organismus festgestellt (Tab. 5). Bei den in gleicher Weise behandelten Kontrolltieren, die mit normalen Organstückchen nachgeimpft waren, konnte niemals eine Infektiosität der Drüsen und Hoden nachgewiesen werden (Tab. 6). —

Tabelle 6.

Kontrollen zu Tabelle 5, bei denen nicht eine Reinfektion, sondern eine Nachimpfung mit Stückchen normalen Hodens vorgenommen wurde.

Kaninchen[1]) No.	Behandlung		Nachimpfung mit Stückchen normal. Hodens		Organverimpfung		
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
990	**180**.—194.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**182**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	363 „ „	— — —
1130	**180**.—194.	dgl.	**197**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	439 „ „	— — —
1145	**180**.—194.	„	**197**	0	regionäre Drüsen nichtregionäre Drüsen Hodentaschen	441 „ „	— — —

Regionäre Drüsen = Inguinal- mit Subiliacal-Lymphdrüsen.
Nichtregionäre Drüsen = Popliteal- mit Präsacral-Lymphdrüsen.

1) Infiziert mit Nicholsstamm.

Tabelle 6 (Fortsetzung).

Kaninchen No.	Behandlung		Nachimpfung mit Stückchen normal. Hodens		Organverimpfung	
	Tage nach Infektion	Dosis	Tage nach Behandlung	Ergebnis	Art der Organe	Tage nach Behandlung	Resultat
1147	**180.**—194.	3×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**197**	0	regionäre Drüsen	442	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
991	**200.**—214.	dgl.	**198**	0	regionäre Drüsen	383	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1149	**200.**—214.	,,	**178**	0	regionäre Drüsen	437	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1158	**200.**—214.	,,	**178**	0	regionäre Drüsen	438	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1041	**240.**—254.	,,	**195**	0	regionäre Drüsen	441	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1042	**240.**—254.	,,	**195**	0	regionäre Drüsen	450	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1044	**240.**—254.	,,	**195**	0	regionäre Drüsen	451	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1139	**240.**—261.	,,	**193**	0	regionäre Drüsen	391	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1151	**240.**—261.	,,	**193**	0	regionäre Drüsen	392	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—
1152	**240.**—261.	1×0,15 g/kg 2×0,1 g/kg Neosalvarsan iv.	**193**	0	regionäre Drüsen	393	—
					nichtregionäre Drüsen	,,	—
					Hodentaschen	,,	—

Ueberblicken wir diese Ergebnisse, so kann es keinem Zweifel unterliegen, daß — entgegen der Annahme von Chesney — auch bei lange Zeit syphilitisch durchseuchten Tieren, die 3—8 Monate nach der Infektion der Salvarsantherapie in großen intravenös verabreichten Dosen und damit einem Ictus immunisatorius unterworfen werden, die Syphilisspirochäten wieder in die Drüsen und von da in die übrigen Organe eindringen. Eine echte aktive, zur Vernichtung neu eindringender homologer oder heterologer Spirochäten führende Immunität ist also nicht nachweisbar.

Besonderer Erwähnung bedarf nochmals die Feststellung, daß in den Versuchsreihen die Lymphdrüsen und Hoden der Kontrolltiere sich als nichtinfektiös erwiesen. Verschiedene Autoren, u. a. Chesney, Uhlenhuth und Grossmann, haben aus derartigen Feststellungen den

Schluß gezogen, daß auch die in vorgeschrittenem Stadium der Syphilisinfektion mit Salvarsan behandelten Tieren sterilisiert wären, haben jedoch übersehen, daß die Syphilisspirochäten in anderen Organen, z. B. in der Knochensubstanz, enthalten sein konnten. Es konnte übrigens auch bereits durch Verimpfung von Drüsen direkt der Nachweis erbracht werden, daß Tiere, die in der Spätperiode mit sehr großen Salvarsandosen behandelt sind, nicht ausnahmslos sterilisiert werden [Worms (6)].

Die Versuchsanordnung, die wir gewählt haben, gibt auch eine Erklärung dafür, daß Chesney zu seinem irrtümlichen Schluß, es gäbe eine echte aktive Immunität bei Syphilis, gekommen ist. Dieser Autor hat zu kurze Zeit nach Beendigung der Salvarsantherapie die Reinfektion vorgenommen. Die Ausscheidung des Salvarsans zieht sich über lange Zeiträume hin. Es bleibt im Körper noch Salvarsan in kleinen Mengen zurück, so daß eine Vermehrung der neu eingebrachten Spirochäten verhindert wird, wenn die Reinfektion zu früh nach der Behandlung erfolgt. Die zweite Ursache, warum der Autor zu seinen Fehlschlüssen kam, liegt darin, daß er die Verimpfung der Drüsen zu früh nach der Reinfektion bzw. Superinfektion vorgenommen hat. Vor allem ist aber die Schlußfolgerung von Chesney, die er aus der Nichtinfektiosität der Drüsen zieht, abwegig, wenn er annimmt, durch sie würde eine Sterilisierung des Gesamtorganismus nachgewiesen. Daß das nicht zutreffend ist, hat bereits Prigge (7, 8) experimentell nachgewiesen und die irrtümlichen Schlußfolgerungen, die viele Autoren aus negativen Drüsenverimpfungen ziehen, eingehend widerlegt. Die so experimentell bewiesene Tatsache, daß die Methode der Drüsenverimpfung bei chemotherapeutisch behandelten Tieren in den ersten Monaten nach der Salvarsanverabreichung durchaus nicht so zuverlässig ist wie die Drüsenverimpfung bei nicht behandelten Tieren, ist von größter Bedeutung für die Prüfung der Sterilisierung und der Immunität. Hätte Chesney unter Berücksichtigung der Tatsache der symptomlosen Superinfektion und der Schankerimmunität bei seinen Tieren mit Nachimpfung und Drüsenverimpfung genügend lange, wie wir es bei unseren Versuchen taten, gewartet, wäre er nicht zu den erwähnten Fehlschlüssen gelangt.

Wenn sich eine echte aktive Immunität bei Syphilis erzielen ließe, würde sich eine wichtige therapeutische Konsequenz daraus ergeben. Es wäre dann das Richtige, die Syphilis sich erst im Körper ausbreiten zu lassen, da ja nur dann nach Chesney eine echte aktive Immunität entsteht, während die Frühbehandlung zu einer Durchbrechung der natürlichen Selbstimmunisierung und Verhinderung einer echten aktiven Immunität führen soll.

Die mitgeteilten Experimentalergebnisse zeigen in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen der Kliniker, daß es bei Syphilis keine echte aktive Immunität gibt. Sie liefern auch neue Beweise für das Existieren einer Schankerimmunität, die beim Menschen offenbar sich auf die verschiedenen am Kaninchen experimentell nachgewiesenen biologischen Varietäten erstreckt. Die symptomlose Superinfektion ist nicht nur bei verhältnismäßig früh (nach 90 Tagen) behandelten, sondern auch bei spät (nach 180, 200, 220 und 240 Tagen) behandelten Tieren experimentell nachweisbar. Die von fast allen Klinikern und Experimentatoren vertretene Ansicht, daß die Syphilisimmunität eine Infektionsimmunität ist, ist deshalb auch jetzt nicht als widerlegt zu betrachten. Es spricht vielmehr alles dafür, daß die Immunität bei Syphilis auf latenter Infektion beruht.

Literatur.

1) Chesney, A. M., Immunity in syphilis. Medicine, Vol. 5, 1926, p. 463.
2) — and Kemp, J. E., Studies in experimental syphilis III. Journ. of exp. Med., Vol. 42, 1925, p. 17.
3) Kolle, W., Experimentelle Untersuchungen über die „Abortivheilung" der Syphilis. Dtsch. med. Wochenschr., 1922, S. 1301.
4) — Weitere Studien über Heilung der experimentellen Kaninchensyphilis. Dtsch. med. Wochenschr., 1924, S. 1235.
5) — u. Schlossberger, H., Experimentelle Untersuchungen über Syphilis und Rekurrensspirochätose V. Dtsch. med. Wochenschr., 1926, S. 1245.
6) Worms, W., Erscheinungslos verlaufende experimentelle Syphilisinfektion beim Kaninchen und Affen. Dtsch. med. Wochenschr., 1926, S. 785.
7) Prigge, R., Die Bewertung der Lymphdrüsenverimpfung für die Beurteilung der Therapia sterilisans bei experimenteller Syphilis. Arch. f. Derm. u. Syph., Bd. 155, 1928, S. 115.
8) — Die experimentellen Grundlagen der Lehre von der Syphilisimmunität. Handb. d. pathog. Mikroorg., Bd. 7, 1927, S. 197.

Aus dem Staatsinstitut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. W. Kolle).

III.

Ueber Isohämagglutination und Isohämolyse beim Kaninchen.

Von

Dr. **Werner Fischer,**
wissenschaftlicher Oberassistent,
und
Gertraudis Klinkhart,
technische Assistentin.

Die zahlreichen bisher veröffentlichten Untersuchungen über die Isohämagglutination und Isohämolyse beim Kaninchen sind in ihren Ergebnissen nicht eindeutig. Die einen Autoren behaupten das Vorhandensein von Isoagglutininen und Isolysinen als normalen oder als durch Immunisierung erzeugbaren Antikörpern, die anderen bestreiten ihr Vorkommen normalerweise oder die Möglichkeit ihrer künstlichen Erzeugung.

Ascoli (1) spritzte Kaninchen ihr eigenes, mit Aqua dest. lackfarben gemachtes und wieder isotonisiertes Blut intraperitoneal ein (bis 150 ccm in häufig wiederholten Dosen) und erzielte bei einigen Tieren auf diese Weise Lysine und Agglutinine von erheblicher Stärke, die gegen die Blutkörperchen anderer Kaninchen gerichtet waren.

Ottenberg und Friedmann (2) glaubten zunächst beim Kaninchen ein ähnliches Viergruppenschema von Normalisoagglutininen (Oxy, Xy, Yx, XYo) wie beim Menschen aufstellen zu können; doch ließen sie diese Annahme selbst später wieder fallen.

Fishbein (3) fand bei der Untersuchung von 25 normalen Kaninchenseren gegen Kaninchenblutkörperchen gelegentlich eine Agglutination.

Neuerdings hat Fleischer (4) wieder Isoagglutinationen beim Kaninchen beobachtet; allerdings trat bei der Untersuchung von 69 unbehandelten Kaninchen nie eine echte Agglutination ein, sondern die beobachteten positiven Reaktionen traten mit Seren von Tieren auf, die durch verschiedene parenterale Injektionen vorbehandelt waren. Einem Teil der Versuchstiere war menschliches Serum injiziert worden; bei diesen fand Fleischer in 3 von 7 Fällen eine Isoagglutination von Kaninchenerythrozyten, deren Spender in der gleichen Weise vorbehandelt worden

waren. Mit den Blutkörperchen unvorbehandelter Tiere gaben diese Seren keine Reaktion. In einer zweiten Serie waren 2 Tiere gegen menschliche Blutkörperchen A und 2 Tiere gegen Typhusbazillen immunisiert worden; alle 4 Seren zeigten mit den Blutkörperchen einzelner unbehandelter Kaninchen Agglutination bis zur Serumverdünnung 1:4. Injektionen von Hammelerythrozyten hatten nie die Entstehung von Isoagglutininen zur Folge. Einer letzten Gruppe von Tieren war teils intravenös, teils subdural „Masernblut" injiziert worden; bei diesen traten in 3 von 5 Fällen Agglutinine gegen Kaninchenblutkörperchen auf, die in einer Serumverdünnung 1:2 noch nach 2 Monaten nachweisbar waren.

Ueber andere Ergebnisse berichten Kraus und Ludwig (5), die bei Versuchen anderer Art 2 Kaninchen als Kontrollen benutzten, denen wiederholt die Blutkörperchen eines anderen Kaninchens intravenös injiziert worden waren. Die Seren dieser 2 Kontrolltiere zeigten keine Lysine oder Agglutinine gegen die Erythrozyten anderer Kaninchen.

Bordet (6) erhielt nach 6 intraperitonealen Injektionen von Kaninchenerythrozyten Seren, die „mit keiner bemerkenswerten Eigenschaft ausgestattet waren".

Klein (7), der zwar in isotonischen Auszügen aus dem Brei zerriebener Blutkörperchen von Kaninchen mehrfach agglutinierende Eigenschaften nachweisen konnte, fand niemals Isoagglutinine in den Seren.

Hektoen (8) fand keine normalen Isoantikörper. Zu dem gleichen Resultat gelangte Schultz (9). Letzterer transfundierte außerdem zehn Tieren einmalig eine größere Menge Aderlaßblut anderer Kaninchen und erhielt auch dabei keine serologische Differenzierung im Sinne einer Blutgruppensystematik.

Snyder (10) untersuchte 80 Seren von Kaninchen verschiedener Rassen auf Normalisoantikörper und fand bei etwa 2000 Versuchen 5 positive Agglutinationen, die aber weiteren Nachprüfungen nicht standhielten. Schon vorher war Przesmycki (11) zu den gleichen negativen Resultaten gelangt.

Eine abweichende Technik, Beobachtung der Hämolyse in vivo, benutzten Hulot und Rammond (12). Sie prüften das Verhalten subkutan injizierter Erythrozyten bei solchen Tieren, die durch gleichartige Einverleibung von Erythrozyten anderer Kaninchen vorbehandelt worden waren. Zur Kontrolle wurden die gleichen Versuche an Tieren vorgenommen, die durch mehrere Blutentnahmen anämisch gemacht worden waren. Hulot und Rammond beobachteten, daß die erste Gruppe von Tieren die einverleibten Blutkörperchen schnell hämolysierte, während bei den Kontrollen das deponierte Blut nach 2 Stunden keine erkennbaren Veränderungen aufwies.

Matsuda (13) untersuchte die agglutinierende Wirkung von Kaninchenseren auf ihre eigenen Erythrozyten in der Kälte und kam auf Grund seiner Ergebnisse zur Unterscheidung von 3 Gruppen: einer ersten ohne Rezeptoren, aber mit Agglutininen, einer zweiten mit Rezeptoren und ohne Agglutinine und einer letzten mit Rezeptoren und Agglutininen, auch gegen die eigenen Erythrozyten.

Wer längere Zeit auf dem Gebiet der Isoantikörper gearbeitet hat, weiß, wie schwer es ist, die störenden Einflüsse der Pseudoagglutination und der sogenannten Kälte- und Panagglutination aus-

zuschalten. Trotz Abzentrifugierens der zu prüfenden Seren bei 0° C besteht die Möglichkeit der unspezifischen (Kälte- und Pan-)Agglutination bei Anwendung der Zentrifugiertechnik, wenn die Zentrifuge nicht warm genug steht. Was die Pseudoagglutination angeht, so ist es bei frisch gewonnenen Blutkörperchen meist leicht, sie von einer echten Agglutination zu unterscheiden; sind jedoch die Erythrozyten in ihrer Form verändert (Stechapfelformen eventuell schon wenige Stunden nach der Entnahme), so ist es nicht mehr möglich, Pseudoagglutination und echte Agglutination durch einfache mikroskopische Untersuchung voneinander zu trennen.

Auf Grund dieser Ueberlegungen und im Hinblick darauf, daß namentlich die oben zitierte Arbeit von Matsuda die Differenzen in der Technik als wesentliche Ursache der voneinander abweichenden Ergebnisse erscheinen läßt, wurde die Frage nach dem Vorkommen von Isoantikörpern beim Kaninchen erneut geprüft.

Technik.

Die zu untersuchenden Seren wurden durch Herzpunktion gewonnen, 4 Stunden bei Zimmertemperatur und weitere 20 Stunden im Eisschrank absitzen lassen, um eine möglichst vollständige Serumabscheidung zu erzielen. Dann wurde das Serum von den wieder aufgewirbelten, neben dem Blutkuchen sedimentierten, nicht koagulierten Blutkörperchen bei 0° C abzentrifugiert, und zwar durch Einstellen in größere Röhrchen, die mit Eis beschickt waren. Dadurch gelang es, das Auftreten störender unspezifischer (Kälte- oder Pan-)Agglutinationen hintanzuhalten. Das auf diese Weise gewonnene Serum kam für den Isohämolyseversuch aktiv, für die Untersuchungen auf Agglutinine inaktiviert (30 Minuten bei 56° C) zur Verwendung. Erst nach Abpipettieren von 0,25 ccm absteigender Serumverdünnungen (1:1, 2:3, 1:2, 1:3, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30, 1:40) in enge Röhrchen, wurden die auf Rezeptoren zu prüfenden Blutkörperchen gewonnen, um Formveränderungen der Erythrozyten, die während des Versuchs durch allzu langes Stehen eintreten könnten und die sodann die Unterscheidung zwischen Pseudoagglutination und echter Agglutination unmöglich machen würden, zu vermeiden.

Die in isotonischer Natriumzitratlösung (3,8 Proz.) aufgenommenen Blutkörperchen wurden 2—3mal gewaschen und von ihnen je ein Tropfen (0,05 ccm) in 5proz. Aufschwemmung in Kochsalzlösung zu den Serumverdünnungen zugegeben. Die so beschickten Röhrchen wurden 1 Stunde im Brutschrank gehalten, nach je 15 Minuten kräftig durchgeschüttelt und nach 1 Stunde abgelesen (1. Phase).

Nach erneutem Aufschütteln wurden die Röhrchen 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen und wieder makroskopisch abgelesen (2. Phase).

Dann wurden die Röhrchen 2 Minuten bei 2000 Touren zentrifugiert und der Bodensatz durch vorsichtiges Klopfen mit dem Finger aufgewirbelt. Ging der Bodensatz homogen in Suspension, so wurde die Reaktion als negativ bewertet; entstanden bei vorsichtigem Beklopfen der Röhrchen Flöckchen oder löste sich gar der ganze Bodensatz als zusammenhängendes Koagulum vom Boden ab, so war die Bewertung +

bzw. bei größeren Flocken ++ und bei einer zusammenhängenden Blutkörperchenschicht +++ (3. Phase).

Die in Phase 3 positiven Reaktionen wurden dann unter sorgfältiger Vermeidung jeglichen weiteren Aufwirbelns für 30 Minuten wieder in den Brutschrank gestellt und nach vorsichtigem Aufziehen eines Teils des Bodensatzes mit Kapillaren mikroskopisch bei 50facher Vergrößerung untersucht (Phase 4).

Diese Technik, so langwierig sie zu sein scheint, hat mehrere Vorteile. Einmal kommen, wie oben bereits angedeutet, Formveränderungen der Blutkörperchen bei der relativ kurzen Versuchsdauer kaum vor und infolgedessen ist es leicht, die Entscheidung „Pseudoagglutination" bzw. „echte Agglutination" zu treffen. Pseudoagglutinationen, die sich durch Ablagern der Seren würden vermeiden lassen — ein Ablagern verbietet sich bei diesen Versuchen aus Gründen der Haltbarkeit echter Isoagglutinine — kennzeichnen sich dadurch, daß sie in Phase 1 und 2 schwach positiv, in Phase 3 stark positiv und in Phase 4 schwach positiv sind (mikroskopisch: Geldrollenbildung). Unspezifische (Kälte- und Pan-) Agglutinationen, deren Zahl durch die angewandte Technik auf ein Mindestmaß zurückgedrängt ist, sind dadurch erkennbar, daß sie in Phase 1 negativ, in Phase 2 zweifelhaft oder schwach positiv, in Phase 3 stärker positiv und in Phase 4 negativ sind (mikroskopisch zeigen sie bei 37° C keine Verklumpung und keine Geldrollenbildung). Echte Agglutinationen sind in allen Phasen positiv und mikroskopisch an der charakteristischen Häufchenbildung und Verklumpung zu erkennen. Eine Beobachtung der Agglutination auch nach 24 Stunden ist bei dieser Technik nicht erforderlich.

Die Versuchsreihen mit aktivem Serum, zur Prüfung auf Isohämolysine, wurden längere Zeit, bis zur Dauer von 3 Stunden, im Brutschrank belassen, dann abgelesen und nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur nochmals abgelesen.

In der ersten Versuchsreihe — 20 normale Kaninchen vier verschiedener Rassen — wurden in den Vorversuchen von allen Seren die Titer der gegen Blutkörperchen der menschlichen Gruppen O, A und B gerichteten Heteroagglutinine und die Höhe des Hämolysingehalts gegen Hammelblutkörperchen dreimal bestimmt. Zu den Auswertungen wurden stets Blutkörperchen der gleichen menschlichen und tierischen Spender benutzt, die 24 Stunden vor dem Versuch entnommen worden waren. Diese Titerbestimmungen waren notwendig, um feststellen zu können, welcher immunisatorische Effekt durch die Injektionen eintreten würde. Schließlich wurden alle Seren in abgekürzten Versuchsreihen (Serumverdünnungen 1:1, 1:3 und 1:10) zweimal auf Isoagglutinine und Isohämolysine gegen die Blutkörperchen aller 20 Tiere geprüft.

Als Ergebnis dieser Reihenprüfungen ist festzustellen, daß bei den ersten 400 Untersuchungen 55 Kälteagglutinationen und 22 Pseudoagglutinationen gegen Kaninchenerythrozyten auftraten; dagegen konnte in keinem Falle eine echte Isoagglutination oder eine Isohämolyse beobachtet werden.

Die zweite Versuchsreihe ergab das nämliche negative Resultat; dieses Mal machten sich 43 Kälteagglutinationen und 36 Pseudoagglutinationen störend bemerkbar.

Dann wurden die gleichen Kaninchen (5 weiße Riesen, 5 Hermelin, 5 Russen und 5 Silbergraue) gegen menschliche Blutkörperchen immunisiert, und zwar 1. zum Teil gegen Blut der Gruppe O, zum Teil gegen solches der Gruppe A und B, und 2. gegen A- und B-Blutkörperchen, deren Rezeptoren durch Bindung in der Kälte mit den sie agglutinierenden menschlichen Antikörpern α bzw. β im Ueberschuß abgesättigt worden waren.

Um einen möglichst hohen Immunisationseffekft zu erzielen, wurden im Verlauf von 3 Wochen sechs Injektionen von 10 ccm 15proz. Blutkörperchenaufschwemmung gegeben, die ersten 3—5 intravenös, die restlichen Injektionen intraperitoneal. Infolge dieser forcierten Immunisierung trat ein erheblicher Tierverlust ein; nur 10 Tiere überlebten die 6. Einspritzung, dafür aber betrug der erreichte immunisatorische Effekt durchschnittlich das 175fache der Ausgangswerte.

Die Seren dieser Tiere wurden dann erneut auf Isoagglutinine und Isohämolysine gegen ihre eigenen Erythrozyten geprüft. Dabei waren keinerlei Isoantikörper entstanden; es traten lediglich wieder mehrere unspezifische und Pseudoagglutinationen ein, und zwar bei zweimaliger Prüfung der 100 Kombinationen 26 Kälteagglutinationen und 21 Pseudoagglutinationen.

Bei einer zweiten Reihe von 16 Tieren (sie erhielten durchweg drei intravenöse Injektionen menschlicher Blutkörperchen der Gruppen O, A und B, der erzielte Immunisationseffekt betrug nicht ganz das 100fache des Anfangstiters) wurde vor und nach der Immunisierung nie eine echte Agglutination beobachtet.

In einer letzten Versuchsserie wurde versucht, Kaninchen verschiedener Rassen gegen Kaninchen anderer Rassen zu immunisieren. Dabei waren folgende Gesichtspunkte maßgebend: 1. wenn bei unbehandelten Kaninchen Isoantikörper nicht gefunden werden können, so vermag vielleicht der Immunisierungsversuch blutgruppenspezifische Differenzierungen aufzudecken; 2. sollte der Organismus, an dem die Immunisierung versucht wird, auf die ihm einverleibten arteigenen Blutkörperchen auch zugleich wie auf „individuumeigene" reagieren, so könnte es erforderlich sein, die mit den zu erforschenden Rezeptoreigenschaften beladenen Erythrozyten zuvor „zirkulationsfremd" zu machen.

Im Hinblick auf diesen Gedankengang gestaltete sich der Versuch folgendermaßen: bei einer Reihe von Tieren wurde das zu injizierende Blut, nachdem es dreimal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen worden war, mit der 5fachen Menge destillierten Wassers hämolysiert und die lackfarbene Lösung durch entsprechendes Besalzen isotonisch gemacht.

Einige andere Tiere erhielten die alkohollöslichen Lipoide der Erythrozyten, gegen die sie immunisiert werden sollten, die nach Sachs, Klopstock und Weil (14) nach Abdunstung des Alkohols in 1:10 verdünntem Schweineserum aufgenommen worden waren, injiziert. Wieder anderen Kaninchen wurden die bei dieser Lipoidextraktion übrig gebliebenen Blutkörperchenreste nach Pulverisieren und sorgfältigem Waschen injiziert. Ueber die Art dieser Immunisierungsversuche gibt folgende Tabelle Auskunft:

Versuchstier		Spendertier		Art der Immunisierung
No.	Rasse	No.	Rasse	
124	Russe	249	Schwarzloh (sp. 250)	3×2,25 ccm gew. Er. intrav. injiz. (1—3)
243	Silbergraue	250	"	3×1,5 " " " " " (1—3)
284	Hermelin	450	Widder	3×1,5 " " " " "
285	"			3×1,5 " hämol. Er. " "
286	"	250	Schwarzloh	3×1,5 " gew. " " "
287	"			3×1,5 " hämol. " " "
289	Russe	451	weißer Riese sp.	3×1,5 " gew. " " "
290	"	453	" "	3×1,5 " hämol. " " "
291	"	225	Widder	3×1,5 " gew. " " "
292	"			3×1,5 " hämol. " " "
293	"	445	Schwarzloh	3×1,5 " gew. " " "
124	"			3×1,5 " hämol. " " "
294	Silbergraue	275	Widder	3×1,5 " gew. " " " (4—6)
295	"			3×1,5 " hämol. " " "
298	"	288	Hermelin	3×1,5 " gew. " " "
243	"			3×1,5 " hämol. " " "
299	Schwarzloh	452	weißer Riese	3×1,5 " gew. " " " (4—6)
300	"			3×1,5 " hämol. " " "
447	"	113	Russe	3×1,5 " alkohol. extr. Er. Rest injiziert (3× intraperitoneal)
448	"			3× Lip. aus 2,0 ccm Er. in 1:10 S. S. injiziert (1× intraperitoneal, 2× intravenös)
453	Weiße Riesen	112	Russe	3× Lip. aus 2,0 ccm Er. in 1:10 S. S. injiziert (3× intravenös)
454	" "			3×1,5 ccm alkohol. extr. Er. Rest injiziert (1×intravenös, 2× intraperitoneal)
455	" "			

Vor der Behandlung mit fremdem arteigenen Blut wurden die Seren aller Tiere gegen die Blutkörperchen aller Spendertiere auf Isoagglutinine geprüft, wieder ohne daß eine positive Reaktion auftrat; außerdem wurde ihr Hämolysintiter gegen Hammelblutkörperchen festgestellt. 7, 14, 25 und 50 Tage nach der letzten Injektion wurden diese Versuchstiere auf Isoantikörper untersucht, und zwar in der Weise, daß gegen die Blutkörperchen des Spendertieres die Serumverdünnungen 1:1—1:40, gegen die Erythrozyten von mindestens 5 anderen Tieren die Serumverdünnungen 1:1, 1:3 und 1:10 geprüft wurden. In allen Untersuchungen waren keine Isoantikörper nachweisbar[1]). Andererseits zeigten von

1) Bei 4 weiteren Reihen von zusammen 52 immunisierten Tieren (Stallkaninchen und wilde Feldkaninchen) gelang es später: bisher 10mal Immunagglutinine hervorzurufen (Titer bis 1:800). Veröffentlichung in einer zweiten Mitteilung.

	No.	Immunisiert gegen:	a) Alk. Extr. K.-Er. No. 112	a) Dgl. " 113	a) Luesleberextrakt " 28	a) Serumkontrolle	b) Alk. Extr. K.-Er. No. 112	b) Dgl. " 113	b) Luesleberextrakt " 28	b) Serumkontrolle
Kaninchenseren	284	gew. K.-Er. 450	—	—	—	—	—	—	—	—
	285	hämol. K.-Er. 450	+++	++++	++++	—	++	++++	++++	—
	286	gew. K.-Er. 250	—	—	—	—	—	—	—	—
	287	hämol. K.-Er. 250	—	—	—	—	—	—	—	—
	289	gew. K.-Er. 451 u. 453	—	—	—	—	—	—	—	—
	290	hämol. K.-Er. 451 u. 453	++	—	++++	—	++	—	++++	—
	291	gew. K.-Er. 225	±	±	÷	±	÷	÷	÷	÷
	295	hämol. K.-Er. 275	—	—	÷	—	÷	÷	÷	÷
	298	gew. K.-Er. 288	+++	±	++++	—	++	—	++++	—
	299	gew. K.-Er. 452	—	—	—	—	—	—	—	—
	300	hämol. K.-Er. 452	—	—	—	—	—	—	—	—
	447	alk. extr. Reste K.-Er. 113	—	—	—	—	—	—	—	—
	448	Lip. aus K.-Er. 113	—	—	—	—	—	—	—	—
	453	Lip. aus K.-Er. 112	—	—	—	—	—	—	—	—
	455	alk. extr. Reste K.-Er. 112	—	—	—	—	—	—	—	—
	124	gew. K.-Er. 249 u. hämol. K.-Er. 445	—	—	—	—	—	—	—	—
	243	gew. K.-Er. 250 u. hämol. K.-Er. 288	—	—	—	—	—	—	—	—
Menschenseren	23077	Wa. negative	—	—	—	—	—	—	—	—
	23090	Wa. negative	—	—	—	—	—	—	—	—
	23079	Wa. positive	+++	++++	++++	—	++	++++	+++	—
	23104	Wa. positive	—	—	++++	—	—	—	++++	—
	23127	Wa. positive	+++	++	++++	—	+++	±	++++	—
	23143	Wa. positive	++++	++++	++++	—	++++	++++	++++	—

a) 0,25 ccm inakt. Ser. 1:2,5 + 0,25 ccm alk. Extr. 1:6
b) 0,25 " " " 1:5 + 0,25 " Komplement 1:10
¾ Std. 37° C
+ 0,25 ccm H. B. Ambozeptor 1:400 (Amb. Titer 1:1500)
0,25 " H. Blut 5 %

15 Fällen 10 Tiere ein Ansteigen ihres Hämolysingehaltes gegen Hammelblutkörperchen, 4 Tiere wiesen keine Aenderung auf, bei einem Tier wurde ein Abfall des Titers festgestellt. Die beobachteten Schwankungen des Hämolysintiters betrugen das 3—12fache des anfänglichen Titers, wobei es offen bleiben muß, ob es sich um Schwankungen handelt, wie sie Moritsch und Hoche (15) nach Transfusionen von gruppengleichem Blut beim Menschen bezüglich des Isoagglutinationstiters beobachtet haben, oder ob es Spontanschwankungen sind, die auch ohne Injektion individuumfremder Blutkörperchen aufgetreten wären [siehe Fischer (16)].

In der Annahme, es könnten bei den Tieren, die mit den alkohollöslichen Bestandteilen der Blutkörperchen, aufgenommen in 1:10 verdünntem Schweineserum, immunisiert worden waren, andere Antikörper entstanden sein, die nicht durch Hämagglutination und Hämolyse erkennbar waren, wurden 17 Kaninchenseren dieser letzten Versuchsreihe im Komplementbindungsversuch gegen zwei entsprechend eingeengte alkoholische Extrakte aus Kaninchenblutkörperchen und einen Luesleberextrakt untersucht. Als Kontrollen wurden 2 Wa.-negative und 4 Wa.-positive menschliche Seren gleichzeitig untersucht.

Das Resultat gibt die Tabelle auf p. 37 wieder.

Aus dieser Zusammenstellung ist zu ersehen, daß die Tiere, die gegen die Kaninchenerythrozyten immunisiert worden waren, keine Komplementbindung mit den entsprechenden Blutkörperchenextrakten ergaben, ebensowenig wie 2 Wa.-negative menschliche Seren. Dagegen zeigten die 3 in der WaR. mit einem Luesleberextrakt positiven Kaninchenseren 285, 290 und 298 auch eine mehr oder weniger starke Komplementablenkung mit den alkoholischen Extrakten der Kaninchenerythrozyten 112 und 113. Ebenso verhielten sich 3 von 4 Wa.-positiven menschlichen Seren. Es ist also zu folgern, daß keine komplementbindenden Antikörper entstanden sind. Bei den Tieren 285, 290 und 298, die mit den Extrakten Luesleber 28, Kaninchenerythrozyten 112 und Kaninchenerythrozyten 113 eine Komplementablenkung ergaben, muß es sich um unspezifische Lipoidantikörper handeln.

Zusammenfassung.

1. Isoagglutinine und Lysine konnten bei normalen Kaninchen verschiedener Rassen nicht nachgewiesen werden.

2. Durch Immunisierung von Kaninchen verschiedener Rassen mit menschlichen Blutkörperchen ließen sich keine Isoagglutinine erzeugen.

3. Bei weiteren Kaninchen ließen sich durch wiederholte Injektionen der Erythrozyten anderer Kaninchen keine Isoantikörper erzeugen[1]).

4. Komplementbindungsreaktionen mit alkoholischen Kaninchenerythrozytenextrakten traten bei den mit Kaninchenblutkörperchen vorbehandelten Versuchstieren nicht ein.

5. Die positiven Resultate, die einige Untersucher bei Kaninchen in bezug auf Isoagglutinine erhalten haben, werden durch technische Fehler bzw. Unbeachtetlassen der Kälte- und Pseudoagglutination erklärt.

Literatur.

1) Ascoli, Münch. med. Wochenschr., 1901, S. 1239; Wien. klin. Wochenschr., 1902, S. 582.
2) Ottenberg und Friedmann, The Journ. of exp. Med., Vol. 13, 1911, p. 531.
3) Fishbein, Journ. of Infect. Dis., Vol. 12, 1913, p. 133; zit. Snyder.
4) Fleischer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 49, 1927, S. 121.
5) Kraus und Ludwig, Wien. klin. Wochenschr., 1902, S. 382.
6) Bordet, Ann. de l'Inst. Past., 1899, p. 275; zit. Schultz.
7) Klein, Wien. klin. Wochenschr., 1902, S. 413; zit. Schultz.
8) Hektoen zit. Snyder.
9) Schultz, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 84, 1905, S. 552.
10) Snyder, Journ. of Immunologie, Vol. 9, 1924, p. 45.
11) Przesmycki, Exp. and Soc. Med. Warsaw, Vol. 1, 1923; zit. Snyder.
12) Hulot and Rammond, Compt. Rend. Soc. de Biol., 1901, p. 802; zit. Schultz.
13) Matsuda, Ref. Ber. über d. ges. Phys., Bd. 36, 1926, S. 542.
14) Sachs, Klopstock und Weil, Deutsch. med. Wochenschr., 51, 1925, S. 689, 1017.
15) Moritsch und Hoche, Mitt. Grenzgeb., Bd. 40, 1926, S. 80.
16) Fischer, diese Zeitschrift, H. 20, 1927, S. 49.

1) Vgl. Fußnote S. 36.

Aus dem Staatsinstitut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. W. Kolle).

IV.

Versuche über die Koktoimmunogen-Immunisierung bei Tuberkulose.

Von

Prof. Dr. **E. Küster** und Dr. **G. Elkes.**

(Mit 1 Abbildung im Text.)

Nach den heute am meisten vertretenen Anschauungen über das Wesen der Immunität spielt zweifellos in vielen Fällen neben der Wirkung von den Körperzellen gebildeter und in den Säftestrom abgestoßener Schutzstoffe eine biologische spezifische Umstimmung der Zellen und eine Unempfänglichkeit von Geweben (bzw. bestimmter Zellgruppen) für den Infektionsstoff eine bedeutende Rolle, ohne daß das Vorhandensein von Schutzstoffen, die Größe des phagozytären Index und die Reaktionsfähigkeit bestimmter Gewebe, d. h. allgemein das Auftreten der bekannten Immunitätserscheinungen in jedem Falle gültige Beziehungen zum Immunitätszustand und Immunitätsgrad aufzustellen gestattet.

Für Tuberkulose im besonderen wird von den meisten Autoren nur eine Infektionsimmunität anerkannt, d. h. nur ein bestehender Tuberkuloseherd schützt gegen eine weitere exogene Infektion mit Tuberkelbazillen. Zwar sind schon wiederholt Experimente bekanntgegeben, die eine spezifische Vollimmunisierung gegen Tuberkulose mit abgetöteten Tuberkelbazillen oder mit Tuberkelbazillenstoffwechselprodukten und Extrakten dartun sollen; die Nachuntersuchungen konnten in der überwiegenden Mehrzahl auf den vorgeschlagenen Wegen nur eine Resistenzerhöhung, nicht aber eine spezifische Tuberkuloseimmunität feststellen. Wir dürfen also wohl sagen, bisher ist nur eine Infektionsimmunität gegen Tuberkulose sichergestellt; zu weitgehend wäre aber die Schlußfolgerung: es gibt außer der genannten keine spezifische Immunität gegen Tuberkulose, denn letzten Endes kann ja auch die Infektionsimmunität nur auf der Wirkung von Tuberkelbazillen-Stoffwechselprodukten oder Extrakten beruhen.

Ein glücklicher Gedanke oder Zufall kann es bringen, daß wir den oder die wirksamen Stoffe im Reagenzglas oder im Tierkörper gewinnen und durch Einbringen in den empfänglichen Organismus spezifische Tuberkuloseimmunität erzeugen. Aus dieser Ueberlegung und zugleich mit Rücksicht auf die überragende Bedeutung der Tuberkulosebekämpfung verdienen alle Versuche der spezifischen Tuberkuloseimmunisierung mit nichtlebenden Impfstoffen nach wie vor unser Interesse.

Neuerdings teilen Torikata und Imamaki mit, daß es ihnen gelungen sei, eine lokale spezifische Immunität der Lungen gegen Tuberkulose zu erzielen: durch halbstündiges Erhitzen von virulenten Tuberkelbazillen, die auf festen Nährböden gewachsen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt sind, oder auch von Tuberkelbazillen-Bouillonkulturen (Bazillen samt Nährlösung) im kochenden Wasserbad gewannen Verfasser ein Dekokt, das sie durch Silberschmidtkerzen (Kieselgur) filtrierten, mit 0,5 Karbolsäure versetzten und Koktoimmunogen nannten. Spritzten sie dieses Präparat Meerschweinchen wiederholt in die rechte Lunge und infizierten nach einer Ruhepause von 5 Wochen beide Lungen jede für sich lokal mit einer Aufschwemmung von lebenden, virulenten Tuberkelbazillen, so wurde die rechte vorbehandelte Lunge gar nicht oder weniger tuberkulös als die linke. Auch an den übrigen Körperorganen stellten die Autoren beträchtlich geringere tuberkulöse Veränderungen bei den vorbehandelten Versuchstieren gegenüber den in gleicher Weise infizierten gesunden Kontrollen fest. Das Koktoimmunogen wurde gut vertragen, die Tiere nahmen während der Behandlung an Gewicht zu. Bei Verabreichung größerer Dekoktmengen erhöhte sich auch die Gesamtresistenz gegen Tuberkulose, denn die vorbehandelten Meerschweinchen starben später an der nachfolgenden Tuberkuloseinfektion als die gleichinfizierten Kontrollen. Die Autoren führen diese Resistenzerhöhung auf die parenterale Verdauung immunogener Stoffe des Dekoktes im Protoplasma der Phagozyten zurück; hierdurch werde die phagozytäre Kraft der Leukozyten erhöht. Im Gegensatz hierzu soll bei Injektion von Nativantigen (Schüttelextrakt) der Tuberkelbazillen die Phagozytose stark vermindert werden, denn das Nativantigen enthält nach Torikata ein „Impedin", welches, an der bakteriellen Antigensubstanz haftend, die Phagozytose stark hemmt. Auf dem „Impedin" soll die direkte Giftigkeit des Nativantigens beruhen; es wird von den meisten Mikroben gebildet und ist je nach Art des Keimes und der verwandten Nährböden mehr oder weniger koktostabil. Durch Erhitzen auf 100°, 15—18 Minuten lang, wird es vernichtet. Das so vom „Impedin" befreite Nativantigen — Koktoimmunogen — kann jetzt vom Organismus voll ausgenützt werden und übertrifft daher das Nativantigen bei therapeutischer, prophylaktischer

und diagnostischer Anwendung. Nativantigene werden nach Torikata und Imamaki, wie bereits erwähnt, nicht phagozytiert, hemmen sogar die Phagozytose, sie kreisen im Säftestrom und schädigen empfindliche Organzellen, so soll sich ihre Toxizität erklären. Die Koktoimmunogene sind weniger giftig, werden besser phagozytiert, regen dadurch die Antikörperbildung an und erhöhen die Gesamtimmunität.

Ueber die immunisatorische Wirkung des Koktoimmunogens liegen bereits mehrere Mitteilungen vor. Nakagawa berichtet, daß es nach Vorbehandlung eines Auges mittels Einträufeln von Voriolavakzine-Koktoimmunogen in den Bindehautsack schwer oder gar nicht gelang, die Hornhaut mit Variola zu infizieren, während es bei der Kornea des anderen unbehandelten Auges ohne weiteres glückte. Knöpfelmacher und Stöhr konnten diese Versuche am Menschen nicht bestätigen.

Nach einer weiteren Veröffentlichung konnte N. durch intravenöse bzw. subkutane Einspritzung von Pockenvakzine-Koktoimmunogen Kaninchen gegen Variolavakzine total refraktär machen; auch die Hoden ließen sich durch parenchymatöse Einspritzung lokal immunisieren. Ebenso will Hirayama den Hoden von Kaninchen mit Koktoimmunogen gegen Welch-Fraenkel-Bazillen lokal immunisiert haben.

Auch klinisch liegen einige Erfahrungen über Koktoimmunogen vor. So berichtet Hagiwara fünf Heilungen von typhösen Knochen und Knorpelentzündungen durch wiederholte Einspritzung von spezifischem Koktoimmunogen.

In Deutschland wurden die Experimente von Torikata und Imamaki bisher von Clauberg im Tuberkuloselaboratorium des Reichsgesundheitsamtes nachgeprüft. Seine Versuchsmeerschweinchen wurden 5mal in Abständen von 5—6 Tagen intrapulmonal links mit 0,5 ccm Tbc.-Bouillon-Koktoimmunogen, 50 mg Bazillen auf 250 NaCl ohne Karbol, oder verschiedenen Kontrollösungen vorbehandelt und nach 7 Wochen mit einem virulenten Tbc.-Bazillenstamm in beide Lungen infiziert. Dreiviertel der Tiere gingen an einer Stallseuche zugrunde, nur 20 blieben für die Beurteilung des Versuchsfalles brauchbar. Bei allen Tieren entwickelte sich hochgradige generalisierte Tuberkulose, klinisch im großen und ganzen ohne Unterschiede. 5 Meerschweinchen waren mit Koktoimmunogen aus Tuberkelbazillen vorbehandelt, von diesen starb Nr. 3 am 39. Tage: linke Lunge weniger tuberkulös befallen als die rechte, also positiv im Sinne Torikatas; Nr. 5 ging am 62. Tage unter den gleichen Erscheinungen, ebenfalls positiv, ein. Die drei übrigen wurden am 80. Versuchstage getötet: Nr. 1 hatte beiderseits gleichstarke Lungentuberkulose, also negativ, Nr. 2 hatte links mehr Herde als rechts, also ein den Torikataschen Behauptungen entgegengesetzter Befund, und No. 4 war wieder positiv

nach Torikata. Es stehen also drei positive Befunde einem negativen und einem entgegengesetzten Ergebnis gegenüber. Der Autor sieht hierin einen tatsächlichen Erfolg der Koktoimmunogenbehandlung, obwohl sonstige allgemeine Zeichen einer erzielten Immunisierung fehlten, da gleichzeitig Kontrollkoktosubstanzen (3 Tiere mit Koktoimmunogen aus Säurefesten, 2 mit Koktoimmunogen aus Colibazillen) völlig versagten. Der Grad der lokalen Abwehrbereitschaft wäre allerdings gering und nicht einmal allgemein vorhanden.

Herr Geheimrat Kolle stellte uns die Aufgabe, die Versuche von Torikata und Imamaki in einem solchen Umfange, d. h. unter Heranziehung so großer Tierreihen nachzuprüfen, daß Zufallsbefunde das Endergebnis nicht beeinflussen konnten.

Wir machten folgende Versuche:

Herstellung der Tuberkelbazillen-Koktoimmunogene.

No. I. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) 500 ccm Glyzerin-Bouillonkultur vom 28. Nov. 1927. 3) verarbeitet am 8. Mai 1928. 4) Drei Stunden mit Glasperlen geschüttelt. 5) Eine halbe Stunde im Wasserbad erhitzt. 6) Filtration durch Faltenfilter, dann Silberschmidt Kieselgur-Kerze. 7) Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure.

No. II. 1) Idem. 2) Idem. vom 24. Febr. 1928. 3) 9. Mai 1928. 4) Acht Stunden mit Glasperlen geschüttelt. 5), 6), 7) wie bei I.

No. III. Wie No. II aus unbewachsener Glyzerin-Bouillon hergestellt.

No. IV. 1) B.C.G. Original-Stamm. 2) Idem vom 18. April 1928. 3) 16. Mai 1928. 4), 5), 6) idem. 7 Ohne Karbolsäurezusatz.

No. V. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) Idem vom 1. Mai 1928. 3) 5. Juni 1928. 4) bis 7) wie No. IV.

No. VI. 1) Tbc. hum. Höchst. 2) Abgepreßte Kulturmasse von Glyzerin-Bouillonkultur vom 25. April 1928. 3) 1,5 g auf 500 ccm NaCl. verarbeitet am 9. Juni 1928. 4) bis 7) wie bei No. IV.

No. VII. 1) Wie VI. 2) 500 ccm Glyzerin-Bouillonkultur vom 15. Mai 1928. 3) 23. Juni 1928. 4) bis 7) wie bei No. IV.

No. VIII. 1) Wie bei VI. 2) Abgepreßte Kulturmasse von Glyzerin-Bouillonkultur vom 15. Juni 1928. 2,0 g in 500 ccm NaCl. 3) 20. Juli 1928. 4) bis 7) wie bei IV.

No. IX. 1) Wie VI. 2) Wie VIII; 1,5 g in 500 ccm NaCl. 3) 24. Juli 1928. 4) bis 7) wie IV.

No. X. 1) Wie VI. 2) Wie VIII; 2,5 g in 500 ccm NaCl. 3) 28. Juli 1928. 4) bis 7) wie IV.

No. XI. 1) Wie VI. 2) Wie VIII; 2,5 g in 500 ccm NaCl. 3) 13. Aug. 1928. 4) bis 7) wie IV.

No. XII. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) Wie VIII; vom 16. Juli 1928; 6,5 g in 800 ccm NaCl. 3) 1. Sept. 1928. 4) bis 7) wie IV.

No. XIII. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) 0,9 g Tbc. Kulturrasen von Glyzerin-Kartoffelkultur vom 14. Aug. 1928 in 180 ccm NaCl. 3) 15. Sept. 1928. 4) bis 7) wie bei IV.

No. XIV. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) 0,9 g Tbc. Kulturrasen von Glyzerin-Kartoffelkultur vom 14. Aug. 1928, dazu 0,9 g Kulturmasse von 4 Wochen alter Eiernährböden Tbc.-Kultur in 200 ccm NaCl. 3) 15. Sept. 1928. 4) bis 7) wie IV.

No. XV. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) 2,6 g Kulturmasse von 4 Wochen alter Eiernährbodenkultur in 260 ccm NaCl. 3) 20. Okt. 1928. 4) und 5) wie bei IV. 6) über Nacht bei + 4° sedimentiert, Ueberstand zentrifugiert; Ueberstand noch einmal 5 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. 7) ohne Karbolzusatz.

No. XVI. 1) Tbc. hum. Hö. 2) Stark gewachsene Glyzerin-Bouillonkultur vom 19. Juli 1928. 3) 15. Novbr. 1928. 4) bis 7) wie bei XV.

No. XVII. 1) Tbc. hum. No. 16. 2) Kulturrasen von Eiernährboden vom 7. Nov. 1928 1,0 g in 500 ccm NaCl. 3) 10. Dez. 1928. 4) bis 7) wie bei IV.

Zeichenerklärung: ++ = sehr stark, + = deutlich ausgeprägt, ± = wenig, ⊢ = weniger, ⊢ = ganz wenig, — = negativ.

Versuch I (Vorversuch).

Meerschw. Nr.	Gewicht g	Immunisierung 8. 5., 11. 5., 15. 5., 18. 5., 21. 5., 23. 5., 25. 5., 31. 5., 5. 6., 9. 6.	Infektion 18. 7.	Gewicht 18. 7. g	† am	Tot nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.
991	740	je 0,5 ccm Kokt.Ig. I intrapulmonal rechts	je 0,5 mg Tbc. 16 in 0,5 NaCl in jede Lunge	690	1. 9.	44	+	+	+
993	740			400	4. 8.	17	+	—	?
999	670			550	24. 9.	68	+	+	+
995	750	je 1,5 ccm Kokt.Ig. I subkutan; 0,5 intrakardial		740	23. 7.	5	0	—	—
996	650		dgl.	650	10. 9.	54	+	+>+	
997	700			670	29. 7.	11	0	—	—
891	650	Kontrollen	dgl.	650	16. 8.	29	+	+	+
892	470			470	1. 9.	45	+	+>+	
893	590			590	30. 8.	43	+	+<+	
894	570			570	27. 7.	9	0	—	—
895	400			400	23. 7.	5	0	—	—

Ergebnis: Von den Kontrollen stirbt ein Meerschweinchen interkurrent am 5. Tage, ein zweites am 9. Tage ohne makroskopische tuberkulöse Erscheinungen. Die übrigen 3 am 29., 43. und 45. Versuchstage mit ausgedehnter Tuberkulose, besonders der Lunge. Bei Nr. 891 waren beide Lungen gleich schwer erkrankt, bei Nr. 892 überwog der tuberkulöse Krankheitsprozeß auf der linken, bei 893 auf der rechten Lunge.

Von den 3 intrapulmonal immunisierten Versuchstieren stirbt das erste 993 am 17. Versuchstage. Befund: rechte Lunge — nekrotische Masse (Folge der Vorbehandlung?), linke Lunge makroskopisch gesund. Die subkutanen Drüsen sind nicht sichtbar vergrößert. Im Hilusdrüsenausstrich vereinzelte Tuberkelbazillen.

Das zweite Tier, 991, verendet am 44. Tage. Befund: Ausgeprägte Tuberkulose der Lungen, zahlreiche Einzelherde, kein Unterschied zwischen Befallensein der linken und der rechten Lunge. Leber und Milz tuberkulös. Drüsen nicht sichtbar vergrößert. Das Gesamtbild der Tuberkulose macht einen leichteren Eindruck als beim gleichzeitig eingegangenen Kontrolltier 892, welches in dem linken Lungenvorderlappen totale Verkäsung, im rechten Einzelherde wie bei dem Immuntier und daneben schwere Tuberkulose von Milz und Leber zeigt.

Das dritte von den intrapulmonal immunisierten Meerschweinchen 999 verendet am 68. Tage und zeigte schwere Tuberkulose beider Lungen, rechts mit Pleurititis adhaesiva. Milz und Leber stark tuberkulös. Netz ohne Herde.

Von den subkutan immunisierten Meerschweinchen stirbt das erste 995 schon am 23. Juli (nach 5 Tagen). Befund: Lunge ohne Veränderungen, Milz nicht vergrößert, aber deutliches Hervortreten der Follikel: eine Hilusdrüse erbsengroß, livid, innen erweicht, im Ausstrich keine Tuberkelbazillen. Meerschweinchen 997 geht am 11. Versuchstage an Bronchitis ohne makroskopische tuberkulöse Veränderungen zugrunde. Das dritte Tier dieser Gruppe, 996, verendete am 54. Tage. Schwere Tuberkulose aller Organe. Linke Lunge offenbar schwerer verändert als die rechte.

Es lassen sich nur die Immuntiere 991, 999, 996 mit den Kontrollen 891, 892 und 894 vergleichen, da die übrigen Tiere zu früh interkurrent verendeten. Das Verhältnis der mittleren Lebensdauer nach der Infektion, 55:39 Tagen, spräche für eine Resistenzerhöhung bei den vorbehandelten Tieren. Eine lokale Immunität betreffend die vorbehandelte Lunge wurde nicht festgestellt und wäre überhaupt von zweifelhaftem Wert, da zwei Kontrollen und ein vorbehandeltes Tier trotz gleichmäßiger Infektion und fehlender lokaler Immunisierung deutliche Differenzen in der Schwere der Erkrankung beider Lungen aufweisen.

Versuch II.

Meerschw. Nr.	Gewicht 1. 6. 1928 g	Immunisierung	Infektion 15. 8.	Gewicht 15. 8. g	† am	Tot nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.
791	650	1. 6., 5. 6., 9. 6., 12. 6., 15. 6., 27. 6., 2. 7., 5. 7. je 0,5 ccm Kokt.Ig. II intrapulm. rechts	Je 0,5 mg Tbc. 16 in 0,5 NaCl in jede Lunge	500	31. 8.	16	+	+	+
923	420	12. 6., 15. 6., 27. 6., 2. 7., 5. 7., 20. 7. je 1 ccm Kokt.Ig. V intrapulmonal rechts		390	getötet 27. 9.	43	+	+<+	
983	400	21. 6., 23. 6., 26. 6., 29. 6., 2. 7. je 1 ccm intrakardial; 2,0 subkutan Kokt.Ig. VI		430	3. 9.	19	+	+	—
713	390	27. 6., 2. 7., 5. 7., 7. 7., 9. 7. je 1 ccm Kokt.Ig. VII intrapulmonal rechts		400	8. 9.	24	+	+	+
715	470			480	14. 9.	30	+	+<+	
716	440			410	10. 9.	26	+	—	—
720	420	27. 6., 2. 7., 5. 7., 7. 7., 9. 7. je 1 ccm Kokt.Ig. III intrapulmonal rechts		370	25. 9.	41	+	+	+
529	300	Kontrollen		300	3. 9.	19	+	—	—
530	270			270	18. 9.	34	+	+	+
531	340			340	12. 9.	28	+	+	+
532	250			250	10. 9.	26	+	+	—
533	250			250	14. 9.	30	+	+	+
534	290			290	19. 9.	35	+	+	+
535	240			240	19. 9.	35	+	+>+	

Epikrise: Der Versuchsausfall bei dem Immuntier Nr. 983 — ohne Vorbehandlung der Lungen — und bei den beiden Kontrollen 532 und 535 zeigt wiederum, daß trotz gleichmäßig lokaler Infektion der Lungenbefund verschieden ausfallen kann. Dazu noch haben die beiden Immuntiere 923 und 715 trotz Koktoimmunogenvorbehand-

lung der rechten Lunge in dieser eine stärkere Tuberkulose als in der nicht immunisierten linken Lunge. Die durchschnittliche Lebensdauer der vorbehandelten Tiere beträgt 28, die der Kontrollen 29 Tage. Es ist also auch keine allgemeine Resistenzerhöhung in diesem Versuche zu erkennen. Meerschweinchen Nr. 720 erreicht in der Untergruppe 713—720 die längste Lebensdauer und zeigt bei der Sektion einen tuberkulösen Krankheitsgrad, der jedenfalls nicht ausgeprägter ist als derjenige der zugehörigen drei Immuntiere; dabei wurde es in gleichen Intervallen und in gleichen Dosen mit Koktoimmunogen aus Normalbouillon vorbehandelt; es könnte also für die Resistenzerhöhung allenfalls eine unspezifische Proteinaktivierung verantwortlich gemacht werden.

Versuch III.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 1. 9.	Gewicht 1. 9. g	† am	Tot nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.
702	350	29. 6., 2. 7., 5. 7., 9. 7., 20. 7., 31. 7. je 1,0 ccm Kokt.Ig. VI intrapulmonal rechts	Je $^5/_{100}$ mg Tbc. human. Stamm H in 0,25 NaCl in jede Lunge	400	13. 10.	42	+	+	+
705	370			460	23. 10.	52	+	+	+
611	320	6. 7., 9. 7., 12. 7., 16. 7., 20. 7., 30. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.-Ig. VI intrapulmonal rechts		380	20. 9.	19	+	+	> +
612	340			430	getötet 8. 3.	188	+	+	+
628	370	7. 7., 10. 7., 13. 7., 16. 7., 19. 7., 30. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.-Ig. VI intrapulmonal rechts		520	27. 11.	87	+	+	+
629	350			470	15. 10.	44	+	—	—
636	300	9. 7., 13. 7., 19. 7., 28. 7., 31. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.Ig. VI u. VIII intrapulmonal rechts		350	2. 10.	31	+	+	> +
638	270			340	getötet 8. 3.	188	+	+	+
656	250	10. 7.. 14. 7., 19. 7., 28. 7., 31. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.-Ig. VI u. X intrapulm. rechts		320	8. 3.	188	+	+	+
659	290			350	18. 9.	17	+	+	> +
590	350	Kontrollen		350	2. 10.	31	+	+	< +
591	330			330	31. 1.	152	+	+	+
592	320			320	7. 10.	36	+	+	> +
593	290			290	29. 10.	58	+	+	+
594	330			330	13. 9.	12	—	—	—
595	350			350	1. 10.	30	+	+	+
596	340			340	29. 10.	58	+	+	+
597	300			300	14. 9.	11	+	—	—
598	350			350	5. 10.	33	+	+	> +
599	300			300	4. 12.	94	+	+	+

Epikrise: Das Gewicht der immunisierten Tiere hatte während der Immunisierung durchgehend erheblich zugenommen. Der Gesundheitszustand war also am Tage der Infektion als gut zu bezeichnen. Die durchschnittliche Lebensdauer der vorbehandelten Tiere betrug 86 Tage, die der Kontrollen 52 Tage. Die Infektionsdosis wurde von einem weniger virulenten Tbc.-Bazillenstamm bewußt klein gewählt — daher die lange Versuchsdauer — aber immerhin war sie groß genug, um in 17 Tagen makroskopisch deutliche Tuberkulose zu er-

zeugen. Eine Resistenzerhöhung der Immuntiere ist nicht zu verkennen, eine lokale Immunität der rechten behandelten Lunge ist dagegen trotz der drei Fälle 611, 636 u. 659 sehr unsicher, da auch bei zwei Kontrollen 592 und 598 der gleiche Befund erhoben wird. Alle Tiere mit Differenzen in dem tuberkulösen Erkrankungszustand der beiden Lungen sind verhältnismäßig kurze Zeit nach der Infektion zur Sektion gekommen; längere Versuchsdauer könnte demnach die anfänglichen Differenzen im lokalen Krankheitszustand ausgleichen; da Torikatas Tiere durchschnittlich, infolge der Infektion mit großen Dosen eines hochvirulenten Tbc.-Bazillenstammes in wenigen Wochen zugrunde gingen, könnten sich aus diesem Umstand unsere abweichenden Versuchsergebnisse wenigstens zum Teil erklären. Die Steigerung der Tbc.-Bazillenmasse bei der Herstellung der Koktoimmunogene VI—VIII—X (cf. S. 43) übt keinen erkennbaren Einfluß auf die immunisierende Wirkung aus.

Versuch IV.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 4. 9. 1929	Gewicht 4. 9. g	† am	Tot nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.
707	400	29. 6., 2. 7., 5. 7., 9. 7., 20. 7., 31. 7. je 1,0 ccm Kokt.Ig. VI intrapulmonal rechts	Je $^5/_{100}$ mg Tbc. hum. 16 in 0,25 NaCl in jede Lunge	360	8. 9.	4	—	—	—
709	340			390	4. 10.	30	+	+	+
614	320	6. 7., 9. 7., 12. 7., 16. 7., 20. 7., 30. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.-Ig. VI intrapulmonal rechts		420	13. 10.	39	+	+	> +
615	320			350	8. 10.	34	+	+	> +
636	400	7. 7., 10. 7., 13. 7., 16. 7., 19. 7., 30. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.-Ig. VI intrapulmonal rechts		530	1. 10.	27	+	+	< +
637	350			360	25. 9.	21	+	+	+
639	250	9. 7., 13. 7., 19. 7., 28. 7., 31. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.Ig. VI u. VIII intrapulmonal rechts		290	16. 10.	42	+	+	+
640	270			260	6. 9.	2	—	—	—
661	270	10. 7., 14. 7., 19. 7., 28. 7., 31. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt.Ig. VI u. X intrapulmonal rechts		290	3. 10.	29	+	—	+
663	300			360	5. 11.	62	+	+	+
1		Kontrollen		290	25. 9.	21	+	+	—
2				300	17. 9.	13	+	+	+
3				280	15. 9.	11	+	+	—
4				280	8. 10.	34	+	+	> +
5				250	17. 9.	13	+	+	+
6				350	8. 10.	34	+	+	> +
7				250	17. 9.	13	+	+	+
8				270	14. 9.	10	+	+	+
9				320	17. 10.	43	+	+	+
10				270	8. 10.	34	+	+	> +

Epikrisis: Die Lebensdauer der vorbehandelten Tiere betrug 29 Tage. Die der Kontrollen 23, also ein geringer Ausschlag zugunsten der Vorbehandlung. Dabei hatten die Tiere, welche vorzeitig verendeten, Nr. 707 und 640 schon durch die Vorbehandlung an Gewicht erheblich eingebüßt und diesen Verlust auch in der fünfwöchigen Ruhezeit vor der Infektion nicht eingeholt; waren also offenbar ge-

sundheitlich nicht auf der Höhe; schalten wir sie aus der Durchschnittsberechnung aus, so bleibt eine Lebensdauer von 35 Tagen, also sehr wahrscheinlich Resistenzerhöhung durch die Vorbehandlung. Allerdings muß auch das etwas niedrigere Ausgangsgewicht der Kontrolltiere berücksichtigt werden. Das Krankheitsbild der rechten Lunge bietet aber wiederum trotz energischer Vorbehandlung und kleinerer Infektionsdosis kein sicheres Zeichen für lokale Immunität; zwei positive Ausschläge, 614 und 615, stehen zwei entgegengesetzten, 636 und 661, gegenüber. Auch die Kontrollmeerschweinchen zeigen erhebliche Differenzen in dem tuberkulösen Erkrankungszustand beider Lungen, und zwar in 5 Fällen (50 Proz.) zugunsten der rechten Lunge, obwohl keine Vorbehandlung mit Koktoimmunogen und soweit technisch erreichbar gleichmäßige Infektion mit Tuberkelbazillen vorgenommen wurde.

Versuch V. 10 Meerschweinchen wurden vom 6. Juli bis 3. Aug. in sechs Impfungen mit je 1 ccm Koktoimmunogen Nr. 6, 8, 9 u. 10 intrapulmonal rechts vorbehandelt. Die Infektion erfolgte zusammen mit 10 Kontrollen 34 Tage nach Abschluß der Vorbehandlung. Als Infektionsmodus wurde diesmal die Inhalation gewählt, und zwar ließen wir alle Versuchstiere in einem für diesen Zweck eigens hergerichteten Raum $^1/_4$ Stunde lang eine feinverstäubte Suspension von Tbc. hum. 16 (1 mg auf 4,0 ccm NaCl-Lösung) 50 ccm, unter Unterdruck inhalieren.

Versuch V.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 6. 9. 1928	Gewicht 6. 9. g	† am	Tod nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.
616	370	6. 7., 9. 7., 12. 7., 16. 7., 20. 7., 30. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt. Ig. VI intrapulmonal rechts	Inhalation $^1/_4$ Std. mit Tbc. hum. 16 12,5 mg in 50 NaCl	450	12. 9.	6	θ	θ	θ
617	340			400	get. 7. 12.	92	+	+	+
619	370			450	3. 12.	88	+	+	+
620	370	dgl.		420	get. 7. 12.	92	+	+	+
621	370	,,		430	13. 11.	68	+	+	>+
641	270	9. 7., 13. 7., 19. 7., 28. 7., 31. 7., 3. 8. je 1,0 ccm Kokt. Ig. VI, VIII—X intrapulmonal rechts		330	get. 7. 12.	92	+	+	+
642	270			310	,, 7. 12.	92	+	+	+
643	300			310	9. 11.	64	—	—	—
644	340			390	get. 7. 12.	92	+	+	+
646	270	dgl.		320	2. 11.	57	+	+<	+
11		Kontrollen		470	get. 4. 12.	89	+	+	+
12				290	,, 4. 12.	89	+	+	+
13				290	,, 5. 11.	60	+	+	+
14				270	,, 4. 12.	89	+	+	+
15				290	,, 4. 12.	89	+	+	+
16				320	,, 4. 12.	89	+	+	+
17				370	10. 11.	65	+	+>	+
18				300	get. 4. 12.	89	+	+	+
19				270	,, 5. 11.	60	+	+	+
20				290	3. 12.	88	+	+	+

Wir benutzten als Inhalationsraum den Aufzuchtapparat für keimfreie Ziegenlämmer, wie er in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abtlg. IV, Teil 9—419, ausführlich beschrieben ist. Allerdings

trafen wir entsprechend dem besonderen Verwendungszweck insofern eine wesentliche Abänderung, als wir den „keimfreien" Raum nicht wie früher auf Ueberdruck, sondern auf 10 cm (Wasser) Unterdruck umschalteten. Wir wollten ja bei unseren Versuchstieren versprayte Tuberkelbazillen-Aufschwemmungen so inhalieren lassen, daß auch bei längerer Inhalationsdauer der Experimentator auf keinen Fall gefährdet war, und auch ein Verschleppen von virulenten Tuberkelbazillen durch die Versuchstiere bei der Herausnahme aus dem Inhalationsraume und Ueberführung in die Zuchtkäfige praktisch ausgeschlossen war. Unsere Vakuumpumpe leistete 20 cbm Luft pro Stunde und preßte die aus dem Inhalationsraum bei Z ausgesaugte Luft in feinen Luftperlen durch eine 60 cm hohe stark konzentrierte Lysollösung ins Freie. Bakteriologische Luftuntersuchungen ergaben, daß die aus der Lysollösung austretende Luft keimfrei war. Da die Arbeitshandschuhe außerdem keimdicht waren, war eine Gefahr für den Experimentator von seiten des Inhalationsraumes praktisch ausgeschlossen.

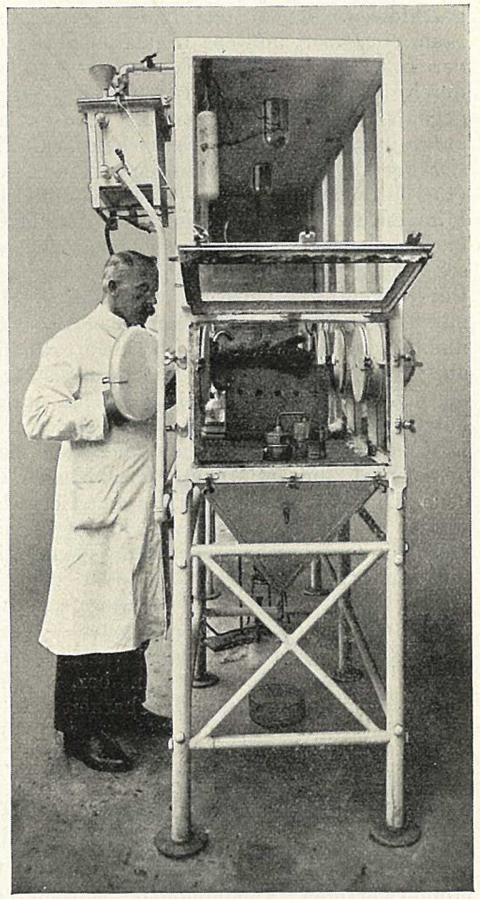

Fig. 1. Keimdichter Inhalationsraum für Inhalation mit pathogenen Keimen (vgl. Abderhalden, Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden, Abt. IV, 9, 419). Man erblickt durch die geöffnete Eingangstür die Inhalationskiste für Meerschweinchen mit den Atmungsöffnungen für 10 Versuchstiere; im Vordergrund der elektrische Sprayapparat. Der Experimentator hat die linke Hand in einen Arbeitshandschuh eingeführt, die rechte Hand — zwecks besserer Uebersicht — mit dem sie bedeckenden Handschuh zurückgezogen; die äußere Schutzklappe für den rechten Handschuh ist geöffnet, die innere geschlossen.

Die Versuchsmeerschweinchen wurden mit in 1 ‰ Sublimatlösung befeuchteten Säcken total so eingehüllt, daß nur die Nasenspitze durch eine eng anschließende trichterförmig den Kopf bedeckende Gummimanschette eben hervorragte. Das Tier war durch diesen Sack wie in einer Zwangsjacke festgelegt und konnte seine Lage nicht verändern. An beiden Seiten von der Nasenöffnung an der Gummimanschette befinden sich Führungszügel. An diesen wird das Tier, in seinem Sack, in das Gefach eines Holzkastens so eingezogen, daß die Nase in eine ϕ = 2 cm Oeffnung der Kistenwand fest anschließend zu liegen kommt. Die Kiste hat Gefache für

10 Meerschweinchen, so daß also gleichzeitig 10 Tiere eingesetzt werden können, und ist nach Schließen des Deckels bis auf die 10 Inhalationsöffnungen, die zu je 5 in zwei Reihen übereinander angebracht sind, dicht geschlossen. Die mit den Tieren beschickte Kiste wird in den Inhalationsraum eingestellt und der Inhalationsraum keimdicht verschraubt. Nun wird der Inhalationsraum auf Vakuum — 10 cm H_2O — gebracht und dabei durch Regulatoren konstant gehalten. Den Atmungsöffnungen der Tiere gegenüber in 50 cm Entfernung wird ein elektrisch beheizter Sprayapparat aufgestellt, der seine Spraywolken dem Tiere entgegentreibt. Dabei füllt sich der ganze Inhalationsraum mit dichten Nebeln. Nach gewollten Zeiten (15—30 Minuten) wird der Spray unterbrochen und nach weiteren 15 Minuten unter Oeffnung der beiden Berieselungsrohre J_1 und J_2 (cf. Handbuch) solange Luft durch den Inhalationsraum gesaugt, bis die Nebel verschwunden und die Glasscheiben des Apparates wieder gut durchsichtig geworden sind. Natürlich sind nun alle Oberflächen im Innern des Apparates mit Tuberkelbazillen infiziert, aber das stört unser Vorgehen nicht, denn nunmehr waschen wir die Tierkiste gründlich mit Sublimatlösung ringsum ab, auch die erreichbaren Nasenspitzen der Versuchstiere, schließen J_1 und J_2, das Vakuum steigt, wir schließen auch alle Ausgleichsventile des Inhalationsraumes und öffnen nunmehr die Tür E_2. Die Pumpe saugt die Luft kräftig nach innen und entgegen diesem kräftigen Aspirationsstrom nehmen wir die desinfizierte Tierkiste heraus und schließen E_2 sofort aufs neue. Die Abwaschdesinfektion der Tierkiste wird nun wiederholt und dann werden die Tiere herausgewickelt. Vorversuche mit Prodigiosus lehrten uns, daß bei dem beschriebenen Vorgehen Keime am Fell der Versuchstiere nicht nachweisbar waren. Nunmehr wird der Inhalationsraum durch Einleitung von Formalin-Wasser-Dämpfen, nachfolgend Ammoniak, durch K und L desinfiziert — 2 Tage Dauer — und ist, nach gründlicher Lüftung bei eingeschalteter Saugpumpe, wieder benutzbar. Die Inhalations-Infektion unserer Versuchstiere lieferte uns bez. Verteilung der Tuberkuloseherde über die Lungen und bez. Dosierbarkeit des Infektionserregers die gleichmäßigsten Ergebnisse.

Epikrise: Auch in diesem Versuch V läßt sich eine lokale immunisatorische Wirkung der Koktoimmunogenvorbehandlung jedenfalls nicht erkennen. In der Vorbehandlung gingen uns die Hälfte der Versuchstiere zugrunde, so daß hier eine weitgehende Ausmerzung der minderwertigen angenommen werden muß. Das durchschnittliche Lebensalter der vorbehandelten Tiere nach der Infektion betrug 82, das der Kontrollen 81 Tage. Dabei wurden 5 Immuntiere und 8 Kontrollen zwecks Feststellung der Krankheitsausbreitung vor dem natürlichen Ende getötet; ohne diesen Eingriff in den Ablauf des Versuches hätten die Kontrollen bez. der Versuchslebensdauer voraussichtlich günstiger abgeschnitten. Die Kontrollen waren bei Beginn vielfach von geringerem Gewicht als die Immuntiere. Diese Punkte zusammen berücksichtigt kann eine Resistenzerhöhung durch die Vorbehandlung abgelehnt werden.

Bei den Immuntieren des Versuches VI ist zwar in drei Fällen die rechte Lunge weniger erkrankt als die linke, aber umgekehrt ist auch bei zwei Immuntieren die linke Lunge weniger tuberkulös ver-

Versuch VI.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 8. 9. 1928	Gewicht 8. 9. g	† am	Tod nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.	
622	350	6. 7., 9. 7., 12. 7., 16. 7.,		390	get. 4. 12.	87	+	+	+	
623	300	20. 7., 30. 7., 3. 8. je 1 ccm		330	7. 11.	60	+	+	> +	
624	350	Kokt.Ig. VI intrapulm. r.		350	14. 9.	6	—	—	—	
625	420	7. 7., 10. 7., 13. 7., 16. 7.,	$^1/_{16}$ mg	500	10. 9.	2	—	—	—	
630	400	19. 7., 30. 7., 3. 8. je 1 ccm	Tbc. hum. 16	580	get. 1. 12.	84	+	+	+	
674	270	Kokt.Ig. VI intrapulm. r.	in 0,5 NaCl	330	„ 1. 12.	84	+	+	+	A
21			verteilt	270	6. 11.	59	+	+	< +	
22			āā in beide	270	6. 11.	59	—	—	—	
23		Kontrollen	Lungen	230	7. 11.	60	—	—	—	
24				290	24. 9.	16	+	—	—	
25				250	7. 11.	60	+	+	+	
58				330	get. 1. 12.	84	+	+	+	
648	270	9. 7., 13. 7., 19. 7., 28. 7.,		310	19. 11.	72	+	+	> +	
649	390	31. 7., 3. 8. je 1 ccm Kokt.		430	2. 12.	85	+	+	> +	
650	420	Ig. VI u. VIII intrapul-		390	15. 11.	68	+	+	< +	
651	350	monal rechts	$^1/_{160}$ mg	420	get. 2. 12.	85	+	+	< +	
652	320		Tbc. hum. 16	350	„ 2. 12.	85	+	+	+	
653	240	dgl.	in 0,5 NaCl	320	16. 10.	38	—	—	—	B
46			verteilt	300	1. 12.	84	+	+	+	
47			āā in beide	370	get. 2. 12.	85	+	+	< +	
48		Kontrollen	Lungen	320	„ 2. 12.	85	+	+	+	
49				330	„ 2. 12.	85	+	+	+	
50				310	„ 2. 12.	85	+	+	+	
51				360	„ 4. 12.	87	+	+	+	
655	300	10. 7., 14. 7., 19. 7., 28. 7.,		350	10. 9.	2	—	—	—	
665	240	31. 7., 3. 8. je 1 ccm Kokt.		300	get. 18. 12.	101	+	+	+	
667	250	Ig. VI u. X intrapulm.		300	27. 11.	80	+	—	—	
668	290	rechts	$^1/_{1600}$ mg	350	get. 3. 1.	117	+	+	+	
672	270		Tbc. hum. 16	370	17. 11.	70	+	+	+	
673	300		in 0,5 NaCl	360	get. 3. 1.	117	+	+	+	C
52			verteilt	310	get. 4. 12.	87	+	+	+	
53			āā in beide	340	„ 4. 12.	87	+	—	—	
54		Kontrollen	Lungen	280	„ 4. 12.	87	+	+	+	
55				340	30. 11.	83	+	—	—	
56				400	10. 12.	93	+	+	+	
57				300	27. 12.	110	+	+	+	

ändert als die rechte und endlich zeigen auch zwei Kontrollen, also Tiere ohne Vorbehandlung, eine ausgesprochen verschieden schwere Tuberkulose beider Lungen. Eine Schlußfolgerung zugunsten der Vorbehandlung mit Koktoimmunogen ist daher nicht zulässig. Die Verwendung von Koktoimmunogen verschiedener Stärke (No. VI, VIII, X, cf. S. 43 und Versuch Nr. III u. IV) und die Herabsetzung der Tbc.-Bazilleninfektionsdosis von $^1/_{16}$ mg in Gruppe I auf $^1/_{1600}$ in Gruppe III ist für die Wirkung der Immunogenvorbehandlung ohne Ausschlag. Die allgemeine Widerstandskraft der Versuchstiere, soweit sie in der Lebensdauer — 85 Tage bei den vorbehandelten, 77 Tage bei den Kontrollen — zum Ausdruck kommt, scheint nicht wesentlich erhöht zu sein.

In dem folgenden Versuch VII hatten wir die Absicht, festzustellen, ob durch Verstärkung der Koktoimmunogenvorbehandlung wenigstens eine unverkennbare Resistenzerhöhung gegenüber den Kontrolltieren zu erzielen wäre. Mit Rücksicht auf die vergrößerte Impfdosis wählten wir zur Vorbehandlung die subkutane Methode.

Versuch VII.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 2. 10. 1928	† am	Tod nach Tagen	Tuberkulose	Axillardrüse links	Lunge l.	Lunge r.	
204	350	24. 7., 30. 7., 3. 8., 13. 8., 25. 8. je 5 ccm Kokt. Ig. IX subkutan links	1/2 mg Tbc. hum. 16 subkutan links	get. 19. 11.	48	±	+	+	+	I
205	370			„ 19. 11.	48	±	—	+	+	
206	300			„ 19. 11.	48	±	+	—	—	
161		Kontrollen		8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	
162				get. 19. 11.	48	+	±	+	+	
207	350	s. oben!	1/20 mg Tbc. hum. 16 subkutan links	get. 19. 11.	48	+	+	+ >	+	II
208	450			„ 19. 11.	48	+	+	+	+	
209	390			„ 19. 11.	48	+	±	±	±	
163		Kontrollen		8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	
164				8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	
212	420	s. oben!	1/200 mg Tbc. hum. 16 ebenso	get. 19. 11.	48	±	—	±	±	III
215	420			„ 19. 11.	48	±	+	±	±	
226	390			„ 19. 11.	48	+	+	+ >	+	
165		Kontrollen		8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	
166				8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	
228	450	s. oben!	1/2000 mg Tbc. hum. 16 ebenso	get. 19. 11.	48	+	+	+	+	IV
229	400			„ 19. 11.	48	+	±	+	+	
234	440			„ 19. 11.	48	±	+	—	—	
167		Kontrollen		„ 19. 11.	48	+	+	+	+	
168				14. 11.	43	+	±	+	+	
238	400	s. oben!	1/200000 mg Tbc. hum. 16 ebenso	28. 12.	87	+	+	+	+	V
240	400			get. 3. 1.	93	+	+	+	+	
169		Kontrollen		„ 3. 1.	93	±	+	+	+	
170				„ 3. 1.	93	±	+	+	+	

Epikrise: Was in dieser Versuchsgruppe zugunsten einer Immunisierung oder Resistenzerhöhung durch die Koktoimmunogenvorbehandlung sprechen könnte, ist das schwächere Erkranktsein der linken Axillardrüse; es tritt nur sehr unregelmäßig und nur bei einem geringen Prozentsatz der Versuchstiere auf.

Versuch VIII. In Gruppe I wurden 2 Immuntiere, Nr. 255 u. 256, zusammen mit der überlebenden Kontrolle Nr. 172 am 54. Versuchstage mit einer jedenfalls tödlichen Dosis Tuberkulin geimpft; die Tiere verendeten innerhalb 24 Stunden mit deutlichen Reaktionszonen ihrer generalisierten Tuberkelknoten. Das letzte Immuntier, Nr. 254, ging am 77. Tage spontan ein. Ueber eine Resistenzerhöhung durch die Vorbehandlung ist ein Urteil nicht möglich, aber sicherlich ist eine lokale Immunitätswirkung gegen die Tbc.-Bazilleninfektion und ein

Versuch VIII.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 2. 10. 1928	† am	Tod nach Tagen	Tuberkulöse Erkrankung der: Milz	Netz	Leber	Drüsen	Lunge l.	Lunge r.	
253	300	24. 7., 31. 7., 4. 8., 13. 8., 18. 8., 24. 8. je 4 ccm Kokt. Ig. IX intraperitoneal	1/2 mg Tbc. hum. 16 intraperitoneal	19. 11.	48	+	—	+	+	+	+	I
254	370			18. 12.	77	+	—	+	+	+	+	
255	300			get. 25. 11.	54	+	+	—	+	+	+	
256	350			„ 25. 11.	54	+	—	—	+	+	+	
171		Kontrollen		8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
172				get. 25. 11.	54	+	—	—	+	+	+	
257	350	s. oben!	1/20 mg Tbc. hum. 16 intraperitoneal	3. 1.	93	+	—	—	+	+	+	II
258	300			27. 12.	86	+	—	—	+	+	+	
259	300			27. 12.	86	+	—	—	+	+ <	+	
260	270			3. 12.	62	+	+	+	+	+	+	
173		Kontrollen		12. 12.	71	+	+	+	+	+	+	
174				8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
261	300	s. oben!	1/200 mg Tbc. hum. 16 intraperitoneal	12. 12.	71	+	+	+	+	+	+	III
262	270			22. 10.	20	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
263	270			3. 12.	62	?	—	—	+	+	+	
264	320			2. 10.	—	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
175		Kontrollen		8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
176				8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
265	370	s. oben!	1/2000 mg Tbc. hum. 16 intraperitoneal	get. 3. 1.	93	+	+	—	+	+	+	IV
266	340			„ 3. 1.	93	+	+	—	+	+	+	
267	250			15. 10.	13	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
268	340			get. 3. 1.	93	+	+	+	+	+	+	
177		Kontrollen		8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
178				8. 10.	6	θ	θ	θ	θ	θ	θ	
269	290	s. oben!	1/20000 mg Tbc. hum. 16	get. 3. 1.	93	+	±	—	+	+	+	V
270	250			„ 3. 1.	93	+	+	—	+	+	+	
271	300			„ 3. 1.	93	+	+	—	+	+	+	
272	270			„ 3. 1.	93	+	±	—	+	+	+	
179		Kontrollen		get. 3. 1.	93	+	+	+	+	+	+	
180				17. 12.	76	+	+	+	+	+	+	

erhöhter Schutz gegen Tuberkulinwirkung nicht zu erkennen, obwohl wir 6mal mit je 4 ccm Koktoimmunogen intraperitoneal vorbehandelten. In Gruppe II zeigt die Kontrolle 173 und das Immuntier 260 ein gleich stark ausgeprägtes tuberkulöses Krankheitsbild. Die gesamte Resistenz ist bei den Immuntieren 257—259 vielleicht etwas erhöht, auch sind Netz und Leber makroskopisch nicht verändert. Gruppe III läßt mit Rücksicht auf die vielen interkurrent eingegangenen Tiere ein Urteil nicht zu. Die drei überlebenden Immuntiere der Gruppe IV (265—266—268) zeigten bei der Tuberkulinkutanprüfung am 2. Jan. positive Reaktion und bei der Tötung am 93. Versuchstage ausgedehnte Tuberkulose, nur daß bei zweien die Leber nicht angegriffen war. Das gleiche Bild zeigen im Gegensatz zu den Kontrollen auch die Immuntiere der Gruppe V. Ob darin eine lokale Immunitätswirkung der peritonealen Koktoimmunogenbehandlung zu erblicken ist, möchten wir dahingestellt sein lassen, jedenfalls wurde eine Resistenzerhöhung auch gegen kleine Infektionsdosen nicht erzielt.

Versuch IX.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 6. 11. 1928	Gewicht 6. 11. 1928 g	† am	Tod n. Tagen	Tuberkul. Erkrankung der Milz	Netz	Leber	Drüsen	Lunge	Lunge l.	Lunge r.
273	350	30. 7., 7. 8., 20. 8., 28. 8., 10. 9., 18. 9. je 1 ccm Kokt.Ig. X u. XII intrakardial	12,5 mg Tbc. hum. 16 in 50 ccm NaCl ¼ Stunde inhaliert	530	6. 11.	—	0	0	0	0	0	0	0
274	300			440	7. 12.	31	±	—	—	+	+	+ <	+
275	350			490	6. 11.	—	0	0	0	0	0	0	0
276	270			450	12. 2.	98	+	—	+	+	+	+	+
277	290			470	24. 12.	48	—	—	—	+	+	+ >	+
278	370			430	1. 2.	87	+	—	—	+	+	+	+
22		Kontrollen		340	19. 1.	74	+	+	+	+	+	+ <	+
23				360	get. 20. 2.	106	+	—	—	+	+	+ >	+
24				310	14. 2.	100	+	—	+	+	+	+	+
25				330	12. 2.	98	+	—	—	+	+	+	+
280	250	s. oben!	25 mg Tbc. hum. 16 in 100 ccm NaCl ¼ Stunde inhaliert	460	get. 20. 2.	106	+	—	—	+	±	±	±
282	350			500	3. 12.	27	—	—	—	—	—	—	—
284	400			550	7. 12.	31	—	—	—	+	±	—	—
285	350			580	20. 12.	44	—	—	—	+	+	+ >	—
287	350			370	9. 11.	3	0	0	0	0	0	0	0
288	300			570	17. 12.	41	—	—	—	+	—	—	—
26		Kontrollen		320	7. 2.	93	+	—	—	+	+	+	+
27				340	29. 1.	84	+		+	+	±	±	±
28				330	24. 1.	79	+	—	—	+	+	+	+
29				340	get. 20. 2.	106	+	—	—	+	+	+ >	+

Epikrise: Die Betrachtung der ersten Gruppe ergibt eine gewisse Schwächung der Lebensenergie und keine Resistenzerhöhung gegen Tuberkulose bei den vorbehandelten Tieren gegenüber den Kontrollen. Das kommt nicht so sehr in der absoluten Größe der Versuchslebensdauer als in dem Umstand zum Ausdruck, daß die Immuntiere während der Vorbehandlung an Gewicht erheblich zugenommen hatten, also als in gutem Gesundheitszustand befindlich erachtet werden müssen, daß ferner am Tage der Infektion die Immuntiere den Kontrollen an Gewicht um 25 Proz. überlegen waren und trotzdem bei der gleichmäßigen und schonenden Inhalationsinfektion der Tuberkulose früher erlagen als die Kontrollen. Bei der zweiten Gruppe boten offenbar die vorbehandelten Tiere gegenüber den Kontrollen geringgradigere Tuberkulose dar. Man könnte darin eine immunisatorische Wirkung erblicken, doch darf man nicht übersehen, daß die vorbehandelten Tiere früher starben als die Kontrollen und infolgedessen auch zeitlich keine so vorgeschrittene Tuberkulose entwickeln konnten; außerdem zeigte Gruppe I mit der geringeren Infektionsdosis das umgekehrte Bild. Schalten wir das interkurrent eingegangene Tier 287 aus der Durchschnittsberechnung aus, so erreichten die vorbehandelten Tiere eine Versuchslebensdauer von 57, die Kontrollen aber eine solche von 92 Tagen. Eine allgemeine Schädigung durch die Vorbehandlung erscheint angesichts des Gewichtszustandes aus-

geschlossen; die Kontrollen wogen am Tage der Infektion auch in dieser Gruppe 25 Proz. weniger als die Immuntiere. Es kann also keine immunisatorische, muß vielmehr eine schädigende Wirkung der intrakardialen Vorbehandlung mit Koktoimmunogen speziell auf den Verlauf der Tuberkulose angenommen werden.

Versuch X.

Meerschw. No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 6. 11. 1928	Gewicht am 6. 11. g	† am	Tod nach Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.		
536	320	16. 8., 20. 8., 23. 8., 27. 8., 31. 8., 4. 9., 8. 9., 11. 9., 14. 9., 17. 9. je 0,5 ccm Kokt.Ig. XI u. XII intrapulmonal rechts	$^1/_{16}$ mg Tbc. hum. 16 intrapulmonal in jede Lunge	490	21. 1.	76	+	+ >	+	⊙	I
537	320			440	31. 12.	55	+	+	+		
538	290			390	18. 12.	42	+	+	+	⊙	
539	250			410	7. 2.	93	+	+	+		
542	300			420	16. 11.	10	—	—	—		
30		Kontrollen		300	24. 12.	48	+	+	+	⊙	
31				360	10. 1.	65	+	+ <	+		
32				350	24. 12.	48	+	+	+	⊙	
33				340	25. 1.	80	+	+	+		
34				350	29. 1.	84	+	+	+		
543	250	s. oben!	$^1/_{80}$ mg Tbc. hum. 16 intrapulmonal in jede Lunge	430	30. 11.	24	+	+	—		II
544	320			510	12. 1.	67	+	+ <	+	⊙	
545	250			350	8. 11.	2	—	—	—		
548	300			440	27. 1.	82	+	+	+	⊙	
549	370			490	17. 12.	41	+	+	+		
35		Kontrollen		390	14. 1.	69	+	+	+		
36				320	29. 1.	84	+	+	+	⊙	
37				320	2. 1.	57	+	+ >	+		
38				380	9. 2.	95	+	+	+		
39				410	31. 12.	86	+	+	+	⊙	
550	350	s. oben!	$^1/_{160}$ mg Tbc. hum. 16 intrapulmonal in jede Lunge	540	get. 20. 2.	106	+	+	+	⊙	III
552	270			410	„ 20. 2.	106	+	+	+		
553	250			380	16. 1.	71	+	+ <	+		
554	320			380	4. 12.	28	+	+ >	+	⊙	
555	270			450	8. 1.	63	+	+	+		
40		Kontrollen		320	29. 1.	84	+	+	+		
41				340	23. 1.	78	+	+	+		
42				300	15. 2.	101	+	+	+		
43				280	19. 11.	13	—	—	—	⊙	
44				350	17. 12.	41	+	+	+	⊙	

⊙ Tiere wurden 13. 11., 23. 11., 30. 11., 15. 12., 22. 12. mit jeweils 0,5 ccm Koktoimmunogen XII intrapulmonal rechts weiterbehandelt.

Epikrise: Der Gesamtversuch läßt eine immunisierende Wirkung von Koktoimmunogenvorbehandlung, auch wenn diese in kleinen schonenden Dosen durchgeführt wurde und nur geringe Mengen von Tuberkelbazillen zur Infektion dienten, vermissen.

Wir hatten bei diesen drei Gruppen auch bei vorbehandelten und nichtvorbehandelten Meerschweinchen versucht, durch Koktoimmunogenbehandlung einzelner Tiere nach der Infektion analog der Vorbehandlung vielleicht einen Erfolg zu erzielen. Ein Einfluß war aber nicht zu erkennen.

Versuch XI.

Meerschw. No.	Immunisierung: 25. 9., 28. 9., 1. 10., 4. 10., 8. 10.	Infektion: 14. 11. 1928	† am	Tot n. Tagen	Befund: Tbc.	Lunge l.	Lunge r.
101	Kokt.Ig. XIV 1,0 ccm intrapulmonal rechts	Tb. 16 0,25 ccm 1:10000 in jede Lunge	3. 1. 1929	50	+	=	
102			24. 12. 1928	40	?	=	
104			21. 12. 1928	37	+	+>+	
73	Kontrollen		18. 12. 1928	34	+	=	
74			17. 1. 1928	64	+	=	
105	Kokt.Ig. XIV 1,0 ccm intrapulmonal rechts	Tb. 16 0,25 ccm 1:100000 in jede Lunge	24. 12. 1928	40	+	=	
106			27. 12. 1928	43	+	+<+	
107			29. 1. 1929	76	+	=	
75	Kontrollen		12. 2. 1929	90	+	=	
76			2. 1. 1929	49	+	+>+	
108	Kokt.Ig. XIV 1,0 ccm intrapulmonal rechts	Tb. 16 0,25 ccm 1:1000000 in jede Lunge	2. 1. 1929	49	+	=	
109			24. 12. 1928	40	+	+<+	
110			12. 1. 1928	59	+	+<+	
77	Kontrollen		14. 2. 1929	92	+	=	
78			14. 2. 1929	92	+	=	

						Leber	Milz	Netz
120	Kokt.Ig. XIV 1,0 ccm intraperitoneal	Tb. 16 0,25 ccm 1:10000 intraperitoneal	1. 1. 1929	47	+	+	+	—
112			17. 1. 1929	64	+	—	+	—
113			1. 1. 1929	47	+	+	+	—
79	Kontrollen		6. 12. 1928	22	+	—	—	+
80			21. 12. 1928	37	+	+	⊢	+
114	Kokt.Ig. XIV 1,0 ccm intraperitoneal	Tb. 16 0,25 ccm 1:100000 intraperitoneal	23. 1. 1929	39	+	⊢	+	+
115			14. 2. 1929	92	+	+	+	—
116			14. 1. 1929	61	+	+	+	—
81	Kontrollen		17. 12. 1928	33	+	—	+	+
82			7. 2. 1928	85	+	—	+	—
117	Kokt.Ig. XIV 1,0 ccm intraperitoneal	Tb. 16 0,25 ccm 1:1000000 intraperitoneal	21. 2. 1929 (getötet)	99	+	—	+	—
118			8. 1. 1928	55	+	+	+	+
119			19. 12. 1928	35	θ	θ	θ	θ
83	Kontrollen		24. 12. 1928	40	⊢	—	—	—
84			23. 1. 1929	70	+	+	+	+
121	27. 9., 29. 9., 2. 10., 10. 10., 22. 10. Kokt.Ig. XIV u. XV 1,0 ccm intrakardial	Tb. 16 0,5 ccm 1:10000 subkutan links	17. 2. 1929	64	+			
122			6. 12. 1928	22	—			
123			5. 12. 1928	21	+			
85	Kontrollen		21. 2. 1929 (getötet)	99	+			
86			5. 1. 1929	52	+			
124	Kokt.Ig. XIV u. XV 1,0 ccm intrakardial	Tb. 16 0,5 ccm 1:100000 subkutan links	21. 2. 1929 (getötet)	99	+			
125			21. 2. 1929 („)	99	+			
126			1. 1. 1929	48	+			
87	Kontrollen		21. 2. 1929 (getötet)	68	+			
88			8. 1. 1929	55	+			
127	Kokt.Ig. XIV u. XV 1,0 ccm intrakardial	Tb. 16 0,5 ccm 1:1000000 subkutan links	21. 2. 1929 (getötet)	99	+			
128			21. 2. 1929 („)	99	+			
129			21. 2. 1929 („)	99	⊢			
89	Kontrollen		17. 1. 1929	64	+			
90			22. 2. 1929	99	+			

Alle Tiere von Gruppe I gingen vom 34.—92. Versuchstag an Tuberkulose ein, dabei waren bei den 9 vorbehandelten, bei denen man eine geringgradige Tuberkulose der rechten Lunge erwarten sollte, fünfmal beide Lungen gleich schwer tuberkulös verändert, dreimal überwog der Krankheitsprozeß der rechten Lunge und nur einmal der der linken Lunge. Unter den zugehörigen Kontrollen war fünfmal die Tuberkulose beider Lungen gleich ausgebildet, einmal war die linke Lunge stärker tuberkulös als rechts. Von einer lokalen Immunisierung der rechten Lunge durch die Vorbehandlung kann also keine Rede sein.

In der II. intraperitoneal vorbehandelten und infizierten Gruppe war bei den 9 Immuntieren nur zweimal, Nr. 114 und 118 = 22 Proz., eine auffallende tuberkulöse Veränderung des Netzes nachweisbar, während bei den 6 Kontrollmeerschweinchen viermal, d. h. in 66 Proz., das Netz mit verkästen Tuberkeln durchsetzt gefunden wurde.

Man kann daraus auf eine lokale Resistenzerhöhung des Netzes schließen, zumal auch die Versuchslebensdauer der Immuntiere durchschnittlich 60, die der Kontrollen 48 Tage betrug. Für Leber und Milz läßt sich keine erhöhte Unempfindlichkeit durch die Vorbehandlung in gleicher Weise erkennen.

Alle Versuchstiere der Gruppe III, 1—3 zeigten bei der Sektion mit einer Ausnahme (122) makroskopisch tuberkulöse Erkrankung. Entsprechend den abfallenden Infektionsdosen erreichten bei der zwar sicher aber langsam wirksamen subkutanen Infektionsmethode viele Versuchstiere eine Lebensdauer von über 3 Monaten. Wir beendeten den Versuch durch Tötung und Sektion aller überlebenden Tiere am 99. Tage. Alle erwiesen sich als tuberkulös, ohne wesentliche Differenz zwischen Immuntieren und Kontrollen, doch könnte man aus dem Umstand, daß von 9 Immuntieren 5, von 6 Kontrollen nur 2 den 99. Tag erlebten, auf eine gewisse Resistenzerhöhung durch die Vorbehandlung schließen.

Obwohl unsere Koktoimmunogenversuche an Meerschweinchen bisher zu keinen ermutigenden Ergebnissen geführt hatten, dehnten wir unsere Versuche doch noch auf Kaninchen aus, da wir hofften, bei diesen für Tuberkulose im allgemeinen weniger empfänglichen Tieren vielleicht eine lokale Immunisierung durch Koktoimmunogenbehandlung zu erreichen.

Wir machten folgende Versuche:

Versuch XII: Bei allen Versuchstieren war die Tuberkulose auf beiden Lungen gleichstark entwickelt. In der Ausbreitung der Tuberkulose auf die übrigen Körperorgane liegen zwar Differenzen vor, aber sowohl bei den Immuntieren wie bei den Kontrollen; sie können deshalb auf Wirkung der Vorbehandlung nicht zurückgeführt werden. Die Resistenz der vorbehandelten Tiere — 40 Lebenstage gegenüber

Versuch XII (Koktoimmunogen-Kaninchen).

Kaninchen No.	Immunisierung	Infektion 27. 7. 1828	† am	Tot n. Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.	Gewicht 10. 5. g	Gewicht 27. 7. g	Drüsen	Hilusdrüsen	Leber	Lunge	Milz	Netz
4	10. 5., 14. 5., 19. 5., 22. 5., 26. 5., 31. 5., 6. 6., 9. 6., 13. 6., 27. 6. je 3,0 ccm Kokt.Ig. I u. VII intrapulmonal rechts	$^5/_{100}$ mg Tbc. bov. in 1,0 NaCl zur Hälfte in jede Lunge	27. 8. 28	31	+	+	+	1400	1690	+	+	+	+	+	+
7	an den gleichen Tagen je 3,0 ccm subkutan, 1 ccm intraven. Kokt.-Ig. I u. VII.		10. 9. 28	45	+	+	+	2100	2200	—	+	—	+	⊢	—
8			3. 9. 28	38	+	+	+	1400	2040	+	+	—	+	⊢	—
9			28. 8. 28	32	+	+	+	1100	2800	—	+	⊢	+	⊢	+
21			18. 9. 28	53	+	+>	+	1450	2100	⊢	+	—	+	⊢	+
23	Kokt.Ig. III		21. 8. 28	25	+	+	+	1600	1740	+	+	⊢	+	+	+
613	Kontrollen		28. 8. 28	32	+	+	+		1400	⊢	+	⊢	+	⊢	—
614			7. 8. 28	11	+	+	+		1620	—	+	—	+	—	—
615			30. 8. 28	34	+	+	+		1670	+	+	—	+	—	—
616			12. 9. 28	47	+	+	+		1890	+	+	+	+	+	+
617			4. 9. 28	39	+	+	+		1500	+	+	—	+	⊢	+

31 der Kontrollen — scheint etwas erhöht, aber das Ausgangsgewicht der Immuntiere ist auch meist höher als das der Kontrollen. Kaninchen 23, welches mit Koktoimmunogen Nr. III aus Normalbouillon vorbehandelt wurde, ging um 15 Tage (38 Proz.) vor den übrigen Immuntieren ein.

Versuch XIII (Koktoimmunogen-Kaninchen).

Kaninchen No.	Immunisierung	Infektion 14. 9. 1928	† am	Tot n. Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.	Hilusdrüsen	And. Drüsen	Leber	Milz	Netz
601	5. 7., 7. 7., 19. 7., 30. 7. 4. 8., 13. 8. je 2,5 ccm Kokt.Ig. VI intrapulmonal rechts	$^1/_{10000}$ mg Tbc. bov. in 0,5 NaCl intra-pulmonal in jede Lunge	24. 11. 1928	71	+	+	+	+	—	—	—	—
602			15. 12. 1928	92	+	+	+	+	—	—	—	—
605			29. 12. 1928	106	+	+	+	+	—	—	—	—
609			4. 12. 1928	81	+	+	+	+	—	—	—	+
645	Kontrollen		19. 11. 1928	66	+	+	+	+	+	⊢	⊢	+
648			1. 10. 1928	17	—	—	—	—	—	—	—	—
941	6. 7., 9. 7., 12. 7., 19. 7., 30. 7., 4. 8., 13. 8. je 3,0 ccm subkutan und 1,5 ccm intravenös Kokt.Ig. VI	$^1/_{1000}$ mg Tbc. bov. in 1,0 NaCl subkutan	get. 4. 1. 1928	112	+	+	+	+	—	—	+	—
944			15. 12. 1928	92	+	+	+	+	—	—	⊢	⊢
948			get. 4. 1. 1928	112	+	+	+	+	—	—	+	—
950			15. 12. 1928	92	+	+	+	+	+	—	⊢	+
649	Kontrollen		9. 11. 1928	56	+	+	+	+	⊢	+	+	+
73			3. 10. 1928	19	—	—	—	—	—	—	—	—

In der ersten Gruppe war ein Unterschied in dem Befallensein beider Lungen nicht festzustellen. Die etwas höhere Versuchslebensdauer der vorbehandelten Tiere (87 gegenüber 66) könnte vielleicht als allgemeine Resistenzerhöhung ausgelegt werden. In Gruppe II erreichen die vorbehandelten Tiere mit 102 gegenüber der Kontrolle von

56 eine beträchtlich längere Lebensdauer. Da in beiden Gruppen jeweils nur eine Kontrolle für die Berechnung zur Verfügung steht, so dürfte ein Urteil allein aus der längeren Lebensdauer der vorbehandelten Tiere gewagt erscheinen; die länger lebenden Versuchstiere zeigen aber in beiden Gruppen auch eine geringere Organausbreitung der Tuberkulose als die Kontrollen, deswegen darf man doch wohl in diesem Versuch eine gewisse allgemeine immunisierende Wirkung der Koktoimmunogenvorbehandlung annehmen.

Versuch XIV (Koktoimmunogen-Kaninchen).

Kaninchen No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 18. 10. 1928	Gewicht 18. 10. g	† am	Tot n. Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.
951	1340	12. 7., 19. 7., 30. 7., 4. 8., 13. 8., 21. 8., 24. 8., 28. 8. je 2,5 ccm Kokt.Ig. VI u. XI intrapulmonal rechts	$^1/_{200}$ mg Tbc. bov. in 0,5 NaCl in jede Lunge	2370	18. 12. 1928	61	++	+	+
953	1420			2170	6. 12. 1928	49	++	+	+
957	1170			1570	22. 11. 1928	35	++	+	+
958	2020			2650	15. 12. 1928	58	++	+	+
959	1320		$^1/_{400}$ mg ebenso	1790	18. 12. 1928	61	++	+	+
961	1150			1390	15. 12. 1928	58	++	+	+
962	1220			1750	20. 11. 1928	33	++	+	+
942		Kontrollen	$^1/_{200}$ mg Tbc. bov. in 0,5 NaCl in jede Lunge	1750	7. 12. 1928	50	++	+	+
943				1450	4. 12. 1928	47	++	+	+
944				1900	20. 11. 1928	33	++	+	+
945			$^1/_{400}$ mg ebenso	1920	9. 11. 1928	22	+	+	+
946				1350	22. 10. 1928	4	—	—	—
947				1540	4. 12. 1928	47	++	+	+

Ein lokaler Unterschied in der Schwere des Krankheitsbildes auf beiden Lungen war nicht festzustellen. Die um $^1/_5$ kürzere Durchschnittsversuchslebensdauer der Kontrollen mit 40 Tagen gegenüber den Immuntieren mit 51 Tagen dürfte wohl kaum als wesentliche Resistenzerhöhung durch die Koktoimmunogenvorbehandlung ausgelegt werden.

Versuch XV (Koktoimmunogen-Kaninchen).

Kaninchen No.	Ausgangsgewicht g	Immunisierung	Infektion 12. 12. 1928	Gewicht 12. 12. g	† am	Tot n. Tagen	Tuberkulose	Lunge l.	Lunge r.	Axillardr. lks.	Netz	Milz	Niere
704	2200	27. 9., 1. 10., 10. 10., 13. 10., 16. 10., 19. 10., 22. 10. je 5 ccm Kokt.Ig. XII subkutan, links	1,0 subkutan	2420	get. 22. 2.	72	+	+	+	+	+	⊢	—
784	1480		0,5 parastern.	1420	„ 22. 2.	72	+	+	+	+	+	⊢	—
683	1670		0,25 links	1520	2. 1.	21	+	+>	+	+	—	—	—
999		Kontrollen	1,0 $^1/_{10000}$ mg Tub.-Bac. typ. bov. in 1 ccm NaCl-Lsg.	1620	20. 12.	8	—	—	—	—	—	—	—
998			0,5	1780	get. 22. 2.	72	+	+	+	+	+	⊢	+
1000			0,25	1470	19. 2.	69	+	+	+	+	+	⊢	⊢

Kontrolle Nr. 999 verendete vorzeitig; im übrigen war die Tuberkulose der linken Achselhöhle und beider Lungen stark entwickelt.

		Versuch No. I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	Summa		
1	Gesamtzahl der mit Koktoimmunogen vorbehandelten Tiere	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
2	Gesamtzahl der überlebenden vorbehandelten Tiere nebst Kontrollen	11	14	20	20	20	36	24	30	20	30	45	11	12	13	6	302	+ 112	= 41 %
3	Anzahl der pulmonal vorbehandelten Tiere	3	6	10	10	10	18	.	.	.	15	9	1	4	7	.	93		
4	„ „ subkutan	.	.	.	.	.	.	14	.	.	.	.	.	.	.	3	17		
5	„ „ „ und intrakardial	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4	4	.	.	12		
6	„ „ intraperitoneal vorbehandelten Tiere	3	1	.	.	.	.	.	20	.	.	9	.	.	.	.	29		
7	„ „ intrakardial „	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	9	.	.	.	.	21		
8	Anzahl der Kontrolltiere ohne Vorbehandlung	5	7	10	10	10	18	10	10	8	15	18	6	4	6	3	140		
9	Anzahl der intrapulmonal infizierten Tiere	11	14	20	20	20	36	.	.	20	30	15	11	6	13	.	196		
10	„ „ mit Inhalation	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	15	.	.	.	.	20		
11	„ „ intraperitoneal	.	.	.	.	.	.	.	30	.	.	15	.	.	.	.	45		
12	„ „ subkutan	.	.	.	.	.	.	24	.	.	.	15	.	6	.	6	51		
13	Es starben interkurrent, d. h. ohne makroskopische Tbc., von vorbehandelten Tieren	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	13		= 8 %
14	Es starben interkurrent, d. h. ohne makroskopische Tbc., von den Kontrollen	2	.	.	.	1	3	.	2	3	.	.	.	.	.	.	18		= 13 %
15	Beide Lungen verschieden stark tuberkulös bei pulmonal vorbehandelten Tieren	2	.	.	.	.	.	5	6	.	1	.	.	2	1	1			
16	Beide Lungen verschieden stark tuberkulös bei nicht vorbehandelten Tieren oder ohne Beziehung zur Vorbehandlung	.	2	2	3	4	2	.	.	.	5	4	.	.	.	.	25		
17	Ausfall „positiv“ im Sinne Torikatas bei pulmonal vorbehandelten Tieren	3	2	3	5	1	2	2	1	6	2	1	1	.	.	1	30		
18	Ausfall „negativ“ im Sinne Torikatas, beide Lungen gleich stark tuberkulös, bei pulmonal vorbehandelten Tieren	.	.	3	2	1	3	.	.	.	3	1	.	.	.	.	13		
19	Ausfall „konträr“ im Sinne Torikatas, d. h. vorbehandelte Lunge stärker tuberkulös	2	.	6	4	6	8	.	.	.	8	5	1	4	7	.	51		
20	Lokalimmunität positiv am Orte der Vorbehandlung und Infektion	.	2	.	1	.	2	.	.	2	.	3	.	.	.	.	12		
21	Lokalimmunität negativ am Orte der Vorbehandlung und Infektion	.	.	.	.	.	.	4	8	.	.	8	.	.	.	.	20		
22	Lokalimmunität am Orte der Infektion ohne lokale Vorbehandlung	.	.	.	.	.	10	.	8	.	.	2	.	.	.	.	20		
23	Mittlere Lebensdauer der vorbehandelten Tiere nach der Infektion	2	.	.	.	.	.	1	1	.	.	.	.	.	.	.	5	Mittel:	62
24	Mittlere Lebensdauer der nicht vorbehandelten Tiere nach der Infektion	46	28	86	35	82	85	56	79	61	66	61	40	95	51	55	Mittel:		58
		=	=	+	+	=	=	=	=	—	=	=	+	+	+	—			

Auch die Milz war meist vergrößert; die Niere zeigte nur bei Kan.-Nr. 998 und 1000 Tuberkelknötchen, während sie bei 704 und 784 fehlten. Außer dem letzterwähnten Unterschied ist die Tuberkulose bei allen Versuchstieren praktisch gleichstark ausgeprägt; die geringeren Erscheinungen bei 683 erklären sich zwanglos aus der kürzeren Lebensdauer; eine Lokal- oder Allgemeinimmunisierung durch die Vorbehandlung mit Koktoimmunogen kann daher nicht festgestellt werden.

Uebersicht.

Aus Reihe 1 ergibt sich zunächst zweifellos ein schädigender Einfluß der Koktoimmunogenvorbehandlung; selbst wenn dabei interkurrente Krankheiten nicht ausgeschlossen sind, so übersteigt doch die Todesziffer mit 41 Proz. ganz erheblich die Todesziffer der interkurrent verendeten Kontrollen (R. 14) von 13 Proz. Der geringe Prozentsatz (8 Proz.; R. 13) von nach der Infektion vorzeitig verendeten Koktoimmunogen behandelten Tieren erklärt sich zwanglos durch das Absterben der Schwächlichen schon während der Vorbehandlung. Dem Einfluß dieser Auslese muß bei der Beurteilung aller Versuche Rechnung getragen werden, da ja die Kontrollmeerschweinchen einer solchen Ausmerzung der Minderwertigen nicht unterworfen waren.

Die mittlere Lebensdauer der Versuchstiere nach der Infektion (R. 23 und 24) könnte in einzelnen Versuchen (III, IV, XII—XIV) zwar als Resistenzerhöhung aufgefaßt werden, sie tritt aber nicht regelmäßig auf, mehrfach erweisen sich die Kontrollen gleich (achtmal) oder resistenter (IX, XV), die Vorbehandlung stellt schon eine Auslese dar, und endlich ist das Durchschnittsmittel zu wenig abweichend: 62:58.

Bezüglich der pulmonalen Lokalimmunisierungsversuche von Torikata und Imamaki im Besonderen (Versuch I—VI, X—XIV) ergibt sich aus Reihe 15—19, daß von insgesamt 196 (R: 9) pulmonal infizierten Tieren (nach Abzug der interkurrent verendeten) 25 Koktoimmunogen vorbehandelte lokalimmunisierte und 30 nicht lokalimmunisierte Versuchstiere eine verschieden starke tuberkulöse Erkrankung der im Rahmen des technisch Möglichen gleichstark infizierten Lungen aufwiesen. Die differente Erkrankung bei den nicht vorbehandelten Tieren beweist, daß Zufälligkeiten eine große Rolle spielen. Außerdem zeigt Reihe 17, daß von den 25 einseitig pulmonal vorbehandelten Tieren mit differentem tuberkulösem Krankheitsbild der beiden Lungen nur 13 „positiv“ im Sinne Torikatas waren, während ihnen (Reihe 19) 12 „konträre“ Fälle gegenüberstehen. Außerdem gab (Reihe 18) bei 51 einseitig pulmonal mit Koktoimmunogen vorbehandelten und beiderseits pulmonal mit Tbc.-Bazillen infizierten

Tieren die Vorbehandlung keinen Ausschlag, sie waren also „negativ" im Sinne Torikatas.

Die Versuche, Lokalimmunität gegen Tuberkulose in der Peritonealhöhle durch intraperitoneale oder subkutane durch subkutane Vorbehandlung mit Koktoimmunogen zu erreichen (Versuch VII, VIII, XI), erwiesen sich nach den in Reihe 20, 21 und 22 zusammengefaßten Ergebnissen als vergeblich. Nimmt man hinzu, daß auch bei der bestdosierbaren, mechanisch schonendsten und gleichmäßigsten Inhalationsinfektion mit Tuberkelbazillen (Reihe 10, Versuch IX) in etwa 30 Proz. erhebliche Differenzen im tuberkulösen Krankheitszustand beider Lungen ohne lokale Vorbehandlung festgestellt werden mußten, und daß in den Versuchen VIII, IX und XI, die in erster Linie auf eine Erhöhung der Gesamtresistenz durch Koktoimmunogenbehandlung hinzielten, sicherlich keine Verlängerung der Lebenszeit gegenüber den Kontrolltieren erreicht wurde (Reihe 23 und 24), so müssen wir auf Grund unserer Versuche eine irgendwie erhebliche spezifisch-immunisierende Wirkung der Koktoimmunogenbehandlung ablehnen.

Schlußsätze.

1. Die pulmonale, subkutane, intraperitoneale und intrakardiale Vorbehandlung von Meerschweinchen und Kaninchen mit Koktoimmunogen nach Torikata ergibt nur in einem Drittel der von uns angestellten 15 Versuche eine allgemeine mäßige Resistenzerhöhung gegen Tuberkulose, die in einer Verlängerung der Lebensdauer der vorbehandelten und dann tuberkuloseinfizierten Tiere gegenüber den nichtvorbehandelten Kontrollen zum Ausdruck kommt. In den meisten Versuchen wurde kein Einfluß der Vorbehandlung, in einigen wenigen sogar eine Schädigung festgestellt.

2. Eine spezifische lokalimmunisierende Wirkung gegen Tuberkelbazilleninfektion am Orte der Vorbehandlung, wie sie Torikata gefunden hat, halten wir nicht für bewiesen, denn wir fanden mit und ohne Vorbehandlung am Orte der Infektion geringere, gleichstarke und stärkere Entwicklung des tuberkulösen Krankheitsprozesses.

3. Den Grund für verschiedenstarke Entwicklung einer Tuberkuloseinfektion am Orte der Infektion erblicken wir in erster Linie in der Unmöglichkeit, eine örtliche Infektion bei verschiedenen Tieren gleichmäßig zu gestalten.

4. Die Unmöglichkeit, Tuberkelbazillen so zu emulgieren, daß nur einzelne Bazillen suspendiert sind, läßt es ausgeschlossen erscheinen, selbst bei exaktester Abmessung der Injektionsdosis eine gleichstarke Infektion zu setzen. Die Wahrscheinlichkeit der differenten Infektionsdosis wächst trotz aller Kautelen mit steigendem Verdünnungsgrad.

5. Selbst wenn die Möglichkeit einer gleichmäßigen lokalen Dosierung des Tuberkelbazillenimpfstoffs gegeben wäre, wäre eine gleichstarke lokale Infektion immer noch nicht gesichert, da wir die Deponierung, d. h. welche Gewebe, Gefäßlumina, Körperhöhlen, Lymphbahnen u. dgl. von der Spitze unserer Injektionskanüle erreicht werden, nicht überschauen können.

6. Die gleichmäßigste und schonendste Infektion mit Tuberkelbazillenaufschwemmung ergab uns die Inhalationsinfektion. Es ist wahrscheinlich, daß bei diesem Infektionsmodus einzelne Tuberkelbazillen oder kleinste Häufchen durch die Verdüsung der Suspension von den gröberen Kulturbröckeln mechanisch abgetrennt werden, länger suspendiert bleiben und eher oder vornehmlich in die tieferen Lungenpartien gelangen und so zur Infektion führen. Gleichwohl sahen wir auch bei der Inhalationsinfektion ohne Beziehung zur Koktoimmunogenvorbehandlung beträchtliche Differenzen in der tuberkulösen Erkrankung beider Lungen auftreten.

7. Die Annahme einer lokalimmunisierenden Wirkung der Koktoimmunogenvorbehandlung setzt die Möglichkeit gleicher lokaler Infektion voraus, oder müßte, da diese nicht gegeben ist, in einer überzeugenden Mehrzahl der Fälle unverkennbar zum Ausdruck kommen. Einen derartigen Befund konnten wir trotz zahlreicher Versuche und Variation der Vorbehandlung nicht erheben.

Literatur.

Torikata, R., Koktopräzipitogene und Koktoimmunogene. Bern 1917.
— und Imamaki, Y., Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 68, 1928, H. 2—3, S. 306—335.
Imamaki, Ueber den biologischen Unterschied zwischen dem nativen und gekochten Antigen. Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose, Bd. 65, 1927, S. 570—580.
Nakagawa, S., Ueber die aktive Immunisierung der Kornea mittels Einträufelung des Variola-Vakzine-Koktoimmunogens. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Orig., Bd. 39, 1924, S. 173—193.
— Ueber das Koktoimmunogen des Variola-Vakzinevirus. Ebenda, Bd. 39, 1924, S. 563—581.
— Ueber die aktive Immunisierung des Hodens mittels parenchymatöser Einspritzung des Variola-Vakzine-Koktoimmunogens. Ebenda, Bd. 42, 1925.
Knöpfelmacher, W., und Stöhr, D., Anwendung des „Koktoimmunogens" aus Pockenvakzine am Menschen. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Orig., Bd. 56, 1928, S. 83—87.
Hirayama, T., Ueber die Gewinnung der lokalen Immunität des Hodens bei Kaninchen mittels des Koktoimmunogens von Welch-Fränkelschen Bazillen. Arb. a. d. Torikatainst. f. Immunitätsf., 1924, Nr. 6 (japanisch u. deutsch).
Hagiwara, Y., Ueber die Koktoimmunogenbehandlung der typhösen Knochen- und Knorpelerkrankung. Deutsche Zeitschr. f. Chir., Bd. 205, 1927, S. 332.
Clauberg, K. W., Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 71, 1929, H. 3, S. 263—268.

Aus dem Staatsinstitut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.

V.

Beitrag zur Technik und Bewertung der Blutgruppenuntersuchung.

Von

Dr. **Werner Fischer**,
wissenschaftlicher Oberassistent.

(Mit 1 Abbildung und 5 Tabellen im Text.)

Die in den letzten Jahren gewaltig angeschwollene Literatur über die Lehre von den Blutgruppen, über die Technik und die praktische Verwertung der Blutgruppenbestimmung[1]), könnte es fast überflüssig erscheinen lassen, zu diesem Thema das Wort zu ergreifen. Die Tatsache jedoch, daß von Zeit zu Zeit Veröffentlichungen auftauchen, in denen die dominante Vererbung der beiden Hauptmerkmale A und B und die Konstanz der ererbten Bluteigenschaften während des Lebens eines Individuums bestritten werden, läßt es angebracht erscheinen, die umfangreiche Literatur der jüngsten Zeit über den heutigen Stand der Blutgruppenforschung, vor allem über die anzuwendende Technik und die zu vermeidenden Fehlerquellen kritisch referierend zusammenzufassen und die Erfahrungen, die auf diesem Gebiete in dem Staatlichen Institut für experimentelle Therapie gesammelt wurden, zu veröffentlichen. Denn es kann keinem Zweifel unterliegen, daß Fehler der Technik und Nichtbeachten von Fehlerquellen bei der Untersuchung zu einem Teil verantwortlich sind für die angeblichen Ausnahmen von den Vererbungsgesetzen und der Konstanz der Blutgruppen.

Es sollen infolgedessen folgende Fragen näher erörtert werden:

1. Eigenschaften der Sera, die zur einwandfreien Blutgruppenbestimmung erforderlich sind.

1) Vergleiche die Monographien Hirszfeld: Konstitutionsserologie, 43; Lattes: Individualität des Blutes, 63; Levine: 71; Schiff: Technik der Blutgruppenbestimmung, 101 und 6, 7, 8, 20, 25a, 26, 27, 34a, 46, 52, 55, 57, 72, 74, 75, 84, 87, 89, 96, 97, 100, 110, 115, 116, 119, 120.

2. Eigenschaften der Blutkörperchen, die zur einwandfreien Blutgruppenbestimmung erforderlich sind.
3. Erforderliche Technik. Vergleich der verschiedenen Untersuchungsmethoden.
4. Untersuchungsbefunde.
5. Stellungnahme zur Vererbung der Blutgruppen.

Zunächst möchte ich zur Orientierung der nicht mit dem Gebiet der Blutgruppenserologie speziell vertrauten Forscher kurz die der Blutgruppeneinteilung zugrunde liegenden Tatsachen in Erinnerung bringen. Seit Landsteiner (1901) ist bekannt, daß in den menschlichen Blutkörperchen zwei Rezeptoren (Isoagglutinogene) A und B vorkommen, die durch die in Seren anderer Individuen vorhandenen Antikörper (Isoagglutinine) α und β agglutiniert werden. Diese beiden Rezeptoren können in den Erythrozyten des Menschen getrennt vorkommen, zusammen vorkommen oder aber ganz fehlen. Nach diesen Merkmalen unterscheidet man die Blutgruppe A, mit dem Rezeptor A; die Blutgruppe B, mit dem Rezeptor B; die Blutgruppe O, deren Blutkörperchen keinen Rezeptor enthalten und die im Jahre 1902 von v. Decastello und Sturli gefundene seltene Blutgruppe AB, in deren Blutkörperchen beide Rezeptoren enthalten sind. Nach Landsteiner enthalten die Seren der Menschen die Antikörper, die gegen die ihren Blutkörperchen fehlenden Rezeptoren gerichtet sind; sie werden Isoantikörper genannt, weil sie gegen Individuen der gleichen Spezies (Mensch) gerichtet sind. Die Bezeichnung der Agglutinine mit A und B und der entsprechenden Agglutinine mit Anti-A und Anti-B ist von der Hygienekommission des Völkerbundes als eindeutigste angenommen worden. Die Bezeichnung der vier Blutgruppen mit römischen Zahlen nach Jansky und Moss hat viel Verwirrung angerichtet und ist daher zu verlassen.

So finden sich

in Blutkörperchen die Rezeptoren	in Seren die Antikörper
O	α u. β, die gegen A und B gerichtet sind
A	β, das gegen B gerichtet ist
B	α, das gegen A gerichtet ist
AB	o, keine gegen menschliche Erythrozyten gerichteten Antikörper

Daraus ergeben sich für die 4 menschlichen Blutgruppen die Formeln:

$O\alpha\beta$ d. h.: Blutkörperchen enthalten keinen Rezeptor, sind infolgedessen nicht agglutinabel; das Serum enthält beide Antikörper α und β und agglutiniert infolgedessen die Blutkörperchen A, B und AB.

Aβ d. h.: Blutkörperchen enthalten Rezeptor A, d. h. sie werden durch Seren der Gruppe Oαβ und Bα agglutiniert. Das Serum enthält den gegen B gerichteten Antikörper β und agglutiniert damit die Blutkörperchen B und AB.

Bα d. h.: Blutkörperchen enthalten Rezeptor B, d. h. sie werden durch Seren der Gruppe Oαβ und Aβ agglutiniert. Das Serum enthält den gegen A gerichteten Antikörper α und agglutiniert die Blutkörperchen A und AB.

ABo d. h.: Blutkörperchen enthalten die beiden Rezeptoren A und B, sie werden durch die Seren aller drei übrigen Gruppen Oαβ, Aβ und Bα agglutiniert. Das Serum enthält keine Antikörper und agglutiniert infolgedessen keinerlei menschliche Blutkörperchen.

Am klarsten sind die gegenseitigen Beziehungen aus folgendem bekannten Schema zu erkennen:

	Sera			
	O αβ	A β	B α	AB o
Blutkörperchen O	—	—	—	—
„ A	+	—	+	—
„ B	+	+	—	—
„ AB	+	+	+	—

Der Agglutiningehalt der Seren (Agglutinationstiter) verschiedener Individuen ist nicht gleich groß und außerdem während der embryonalen Entwicklung und des extrauterinen Lebens gewissen Schwankungen unterworfen.

In den Seren von Fehlgeburten und Frühgeburten konnten Semzowa und Terechowa (99) auch in den letzten Fötalmonaten niemals Isoagglutinine feststellen. Das Serum Neugeborener enthält in den seltensten Fällen nachweisbare Isoantikörper [Karshner (49)]. Sind Isoagglutinine vorhanden, so dürften sie ausnahmslos aus dem mütterlichen Organismus stammen. Hirszfeld und Zborowski (44, 45), Morville (80), Kemp (50), Smith (114) und andere haben nachgewiesen, daß die aus dem mütterlichen Kreislauf übergegangenen Isoantikörper wenige Tage nach der Geburt an Stärke abnehmen und bis zum 4. Lebensmonat ganz verschwinden. Die Bildung der individuumeigenen Agglutinine („Serogenese" nach Hirszfeld) setzt nach Morville und Kemp im 3. bis 4. Monat ein. Am Ende des 1. Lebensjahres sind bei fast allen Kindern die nach der Rezeptorbestimmung zu erwartenden Agglutinine nachzuweisen. Ausnahmsweise kommen Fälle zur Beobachtung, bei denen aus unbekannten Gründen die Entwicklung der Isoantikörper verspätet einsetzt; so gibt Thomsen (125) ein Protokoll wieder, aus dem ersichtlich ist, daß bei einem Kinde erst im Alter von 3 Jahren 3 Monaten

Agglutinine nachweisbar wurden. Mit 2 Jahren 7 Monaten mußte dieses Kind noch zu den defekten Typen gerechnet werden, d. h. seine Blutgruppe war unvollständig, weil der nach der Rezeptorbestimmung zu erwartende Antikörper fehlte. Derartige Vorkommnisse gehören aber zu den Ausnahmen.

Die in der weiteren extrauterinen Entwicklung sich abspielenden Schwankungen der Isoagglutinine, insbesondere ein wahrscheinlich erhebliches Auf- und Abschwanken des Agglutiningehalts (gemessen am Titer) während der Pubertät, sind bisher noch nicht untersucht worden. Es ist lediglich bekannt, daß geschlechtsreife Personen[1]) den durchschnittlich höchsten Agglutiningehalt aufweisen (Schiff und Mendlowicz (108)], während im Praesenium und Senium wieder niedrigere Titer gefunden werden („serologische Involution"). Es muß aber betont werden, daß es sich um Durchschnittswerte handelt, in die individuelle Besonderheiten hineinspielen, daß also sehr wohl jugendliche Erwachsene mehrfach niedrigere Titer aufweisen können als ältere Personen. Schiff und Mendlowicz (108) haben, indem sie 186 β-haltige Seren gegen ein B-Blut und 152 α-haltige Seren gegen ein und dasselbe A-Blut prüften, festgestellt, daß einzelne Seren das entsprechende Blut bis zu einer Serumverdünnung 1:1000 agglutinierten, während die schwächeren nur bis 1:16 wirksam waren (vgl. die Kurven in 43, 63, 71, 101). Diese Unterschiede in der Reichweite der Seren werden von allen Forschern betont, haben aber trotzdem zu vielen Irrtümern Anlaß gegeben.

Abgesehen von diesen individuellen Unterschieden in der Höhe des Agglutinationstiters kommen Schwankungen in der Stärke der Isoantikörper bei ein und derselben Person vor. Lattes (63) verlangt mit Rücksicht auf mögliche Schwankungen eine mehrmalige Untersuchung auf Agglutinine, wenn bei einer ersten Prüfung keine Antikörper nachweisbar sind. Lehmann (67) will dagegen festgestellt haben, daß fast keine Schwankungen in der Stärke der Agglutinine vorkommen. Anderer Auffassung sind Fürst (31), der ausdrücklich die „Schwankungen in der Reichweite" der Seren betont, Pistuddi (86), Shimada (113), der eine Abnahme in Agglutinationstiter der Seren zahlreicher Schwangerer nachwies, Perkel und

1) Anm. bei der Korrektur: Inzwischen erschien die Arbeit von Thomsen und Kettel (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 63, 1929, S. 67), die die höchsten Agglutinationstiter im Kindesalter von 5—10 Jahren fanden. Wir möchten allerdings annehmen, daß das Material nicht eindeutig ist, da es sich um „hospitalbehandelte Patienten" handelt. Es ist gut vorstellbar, daß die Abwehrreaktionen des kindlichen Organismus kräftigere sind als die des erwachsenen (vgl. die Ausführungen über Schwankungen des Agglutinationstiters, s. a. 17, 37, 78).

Israelsson (83), die bei Malaria infizierten Tabikern und Paralytikern ein starkes Ansteigen des Titers während der Fieberzacken feststellten; Fischer (25), der periodische Schwankungen im Agglutiningehalt der Seren mit der Menstruation in Zusammenhang brachte; Schiff und Mendlowicz (108), die bei Leukämiekranken ausgesprochen niedrige Titer fanden, und Minkewitsch und Raskin (78), die bei genügend starkem Infektionsreiz erhebliche Schwankungen feststellten. Letztere gehen so weit, zu sagen, der Agglutinationstiter bilde eine gut ausgeprägte Indikation für den Reaktionszustand des Organismus bei Infektionskrankheiten (natürlich nur verglichen mit vorausgehenden Bestimmungen in gesunden Tagen). Es sei ferner an das Ansteigen des Agglutiningehaltes nach Röntgenbestrahlung und Diathermie (110), Serum-, Vakzine- und Proteinkörpertherapie (37) und Eigenblutinjektionen (25) erinnert[1]).

Karnauchowa und Firjukowa (48) fanden in Wa.-positiven Luesseren häufig höhere Agglutinationstiter als bei gesunden Menschen.

Alle diese Beobachtungen weisen darauf hin, daß die Schwankungen, denen der Agglutinationstiter bei ein und demselben Individuum ausgesetzt ist, parallel gehen mit einer Verschiebung der Globulin-, Albuminmengen im Serum. Ist doch das Phänomen der Isoagglutination zuerst mit Blutkörperchen und Seren von Individuen mit Infektionskrankheiten und anderen Erkrankungen, die mit Globulinvermehrung und Senkungsgeschwindigkeit-Beschleunigung einhergehen, nachgewiesen worden. Rona und Krebs (93) haben beobachtet, daß die Isoantikörper mit der Globulinfraktion des Serums ausfallen, jedoch in anderen Seren in der Albuminfraktion enthalten sind, während Bleyer (13) sie nur im Globulin, und dort am stärksten im Euglobulin, gefunden haben will.

Von größter Wichtigkeit ist, daß bei den eben beschriebenen Serumveränderungen, die eine Zunahme der echten Isoantikörper zur Folge haben, ein Phänomen verstärkt in die Erscheinung tritt, das vielfach in frisch gewonnenen Seren auch gesunder Menschen nachweisbar ist und an zahlreichen Irrtümern in früheren Blutgruppenbestimmungen die Schuld trägt: das Phänomen der Pseudoagglutination. Beobachtet man einen frisch entnommenen Tropfen Blut (Vollblut im eigenen Plasma), vielleicht mit dem 1—3fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, unter dem Mikroskop, so zeigt sich, daß die Blutkörperchen sich an zahlreichen Stellen zu sogenannten Geldrollen zusammenlegen. Diese Erscheinung kann so stark sein, daß sie bei makroskopischer Beobachtung auf dem Objektträger eine deutliche Klümpchenbildung zeigt, die mit einer echten Isoagglutination leicht verwechselt werden kann, aber durch die mikroskopische Beobachtung und andere Maßnahmen als Pseudoagglutination infolge starker Geldrollenbildung erkannt wird.

1) Das Ansteigen artgerichteter Agglutinine nach Injektion von Heilseren ist ausführlich von Deicher (17) studiert worden.

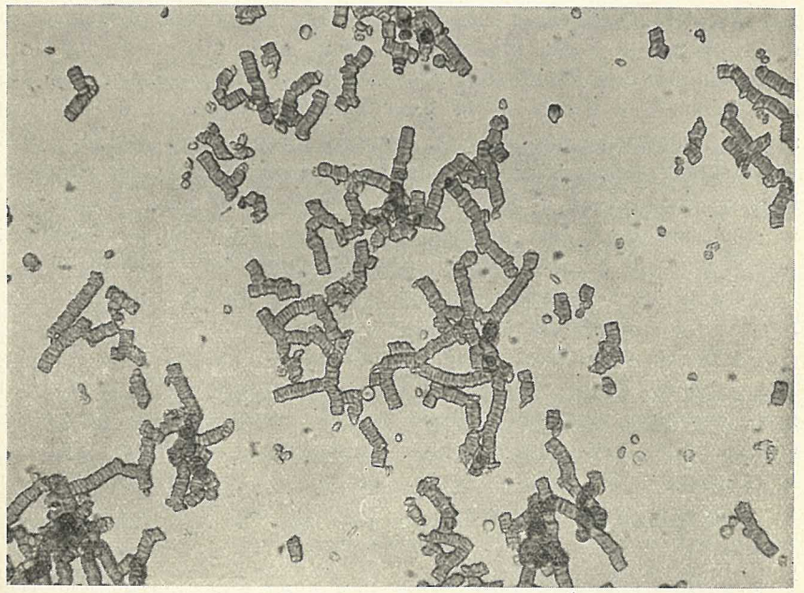

Fig. 1. Pseudoagglutination von ungewaschenen Blutkörperchen der Gruppe Aβ in Serum der Gruppe ABo.

Die Pseudoagglutination ist ferner dadurch charakterisiert, daß sie bei 37° C nicht geringer oder stärker wird als bei Zimmertemperatur oder Eisschranktemperatur und daß die sie bedingenden Serumeigenschaften oder Serumbestandteile nicht durch Bindung an menschliche Blutkörperchen absorbierbar sind [vgl. Goroncy (34), Lattes (63), Levine (72), Mino (79), Prati (88), Schiff (101) u. a.]. Ihre Wirkung läßt sich beseitigen durch Verdünnung des betreffenden Serums mit physiologischer Kochsalzlösung auf $^1/_3$—$^1/_4$; es ist dabei aber selbstverständlich zu berücksichtigen, daß dadurch die Reichweite des Serums, der Gehalt an echten Isoantikörpern, auch um $^1/_3$—$^1/_4$ geschwächt wird, daß also nicht alle durch das Serum erfaßbaren Rezeptoren nachweisbar bleiben. Außerdem kann man durch Aufschwemmung der Blutkörperchen in einem Lezithinsol [nach Lattes (63)] die Pseudoagglutination verhindern. Diese beiden Kunstgriffe kommen nur in Betracht, wenn man Seren bald nach der Entnahme untersuchen muß (z. B. gerichtsärztliche Untersuchungen). In Seren, die man als Testseren verwenden will, kann man die pseudoagglutinierenden Eigenschaften durch Inaktivieren (30 Minuten bei 56° C) und 1—7tägiges Aufheben im Brutschrank bei 37° C beseitigen.

Zwei Tatsachen dürfen nicht unerwähnt bleiben, die die Pseudoagglutination verstärken. Es handelt sich einmal um die Beimengungen von kolloidalen, klebrigen Substanzen, auf die Levine (71) aufmerksam macht, und um Serumveränderungen, die durch bakterielle Verunreinigungen bedingt sind. Prati (88) hat nachgewiesen, daß die Seren aller 4 menschlichen Blutgruppen durch Einsaat pathogener Keime so in ihrer Struktur verändert werden, daß sie die Blutkörperchen aller 4 Gruppen pseudoagglutinieren. Diese verstärkte Pseudoagglutination, die Prati durch Einsaat von Staphylokokken, Streptokokken, Pyocyaneus-, Tuberkel-, Typhus-, Paratyphusbazillen und Bact. coli erzielen konnte, ist nicht durch Verdünnen des Serums auf $^1/_3$ oder durch Aufschwemmung der Blutkörperchen in Lezithinsol zu beseitigen, sondern man muß durch Einbringen des Lezithins in das Serum ein konzentrierteres Sol herstellen. Es hat den Anschein, als wenn diese Serumveränderungen, die Prati im Reagenzglas erzielen konnte, auch in vivo eine größere Rolle spielen, als man gemeinhin annimmt. Hübener (47) beschreibt ein Serum der Gruppe ABo, das, durch Keime verunreinigt, alle Blute pan- (in Wirklichkeit wohl pseudo-)agglutinierte. Lacey (56) berichtet von vier septisch Erkrankten, bei deren Seren er eine vorübergehende Agglutination aller vier Blutgruppen beobachtete. Kramár (53) hebt neuerdings wieder hervor, daß er in den Seren von an Abszessen, Empyemen, Pyodermien und Osteomyelitiden Erkrankten Agglutinationen sah, die auch O-Blutkörperchen ergriffen und bei 37° bestehen blieben.

Von erfahrener Seite wird immer wieder auf die Gefahr der Verwechslung von echter und Pseudoagglutination aufmerksam gemacht und davor gewarnt, frisch entnommene Seren oder solche von kranken Individuen als Testseren zu verwenden; jedoch genau so häufig werden diese Warnungen außer acht gelassen, und so kommen die Veröffentlichungen von Autoren zustande, die einen Wechsel der Blutgruppen festgestellt haben wollen.

Hier seien kurz eigene Beobachtungen erwähnt, die bei einigen aus Plazentarblut gewonnenen Seren gemacht wurden. Zu Beginn der Blutgruppenuntersuchungen in unserem Institut (1925) wurden auch Plazentarseren geprüft und dabei ihre Titer gegen A- und B-Blut ausgewertet; zur Kontrolle wurde die gleiche Reihe gegen O-Blut angesetzt. Die Blutkörperchen waren am Tage des Versuches gewonnen und zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen worden. Es wurden 3 Plazentarseren beobachtet, von denen zwei bis zur Verdünnung 1:10, das dritte bis 1:50 O-Blutkörperchen agglutinierten; in der Verdünnung 1:3 waren diese Agglutinationen wegen der Dichte und Größe der Häufchen nicht als Geldrollen zu erkennen. Aller Wahrscheinlichkeit nach hat es sich um Schleimbeimengungen aus dem Scheidensekret oder dem

Fruchtwasser gehandelt, die diese Pseudoagglutination bedingten[1]). Eine gleiche Beobachtung wurde bei einem Tonsillarabszeß gemacht; vielleicht ist dieser Fall den Befunden von Lacey (56) und Kramár (53) an die Seite zu stellen.

Es hat den Anschein, als müßte der Untersucher diese Fehler erst selbst gemacht haben, um die Tragweite der störenden Erscheinungen Pseudoagglutination und Panagglutination voll zu erfassen.

Die Panagglutination ist eine unspezifische Agglutination, die in der Kälte, auch bei Zimmertemperatur, auftreten kann und alle Blutkörperchen, auch die des gleichen Individuums erfaßt. Sie sieht makroskopisch und mikroskopisch ebenso wie eine echte Isoagglutination, mit typischer Häufchenbildung, aus und ist dadurch charakterisiert, daß sie bei 37° verschwindet und daß die sie bedingenden Serumeigenschaften an Blutkörperchen der gleichen Blutgruppe absorbierbar sind. Während der Vorgang der echten Isoagglutination bei 55° C rückgängig gemacht werden kann, ist der Prozeß der Panagglutination bereits bei 37° reversibel. Die Panagglutinine wirken auf Blutkörperchen der Individuen aller Gruppen auch auf die des Serumspenders. Diese Tatsache hat zu der verschiedenen Benennung: „Kälteagglutinine“ und „Autoagglutinine“ geführt und gibt gleichzeitig den Weg an, wie sich die durch sie bedingten Fehlresultate vermeiden lassen. Man kann sehr leicht diese Panagglutinine demonstrieren, wenn man ein Blut der Gruppe ABo, das keine Isoantikörper enthält, bei 37° C sich absitzen und das dann gewonnene Serum bei Zimmertemperatur oder gar im Eisschrank beliebige menschliche Blutkörperchen agglutinieren läßt. Bringt man die agglutinierten Blutkörperchen (sei es im Reagenzglas oder im hängenden Tropfen) jetzt wieder in den Brutschrank, so geht die Agglutination zurück und verschwindet schließlich vollständig. Die Panagglutinine (Kälteagglutinine) zeichnen sich also dadurch aus, daß sie eine geringere „Wärmeamplitude“ — meist von 0—5°, aber auch von 0—20° — aufweisen [Bialosuknia und Hirszfeld (11), Dölter (21)], während die echten Isoantikörper eine größere Wirkungsbreite haben und noch bei 37—40° in voller Stärke nachweisbar sind. Bekannt ist der serbische Soldat, den Hirszfeld (2) erwähnt und der noch bei 20° seine eigenen Blutkörperchen agglutinierte. Kettel (51) beschreibt allein 10 Fälle, in denen die Amplitude des Kälteagglutinins die gewöhnliche Zimmertemperatur überstieg.

Es muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß die Gewinnung der Seren bei 0° [siehe Goroncy (34)] nicht immer zur völligen Ent-

1) Hasselhorst (40) stellte gleichfalls in zahlreichen (24 unter 100) Plazentarseren atypische Reaktionen fest.

fernung der Panagglutinine genügt; denn die Kälteagglutinabilität der eigenen Blutkörperchen ist nicht immer groß genug, um sämtliche Panagglutinine zu binden. Die Autoagglutinine sind auf diese Weise sicher zu entfernen; da es aber häufig stärker kälteagglutinable Blutkörperchen als die eigenen geben wird, kann es notwendig sein, das gewonnene Serum durch mehrmalige Kältebindung an Blutkörperchen der gleichen Gruppe panagglutininfrei zu machen. Im allgemeinen genügt jedoch die Gewinnung der Testseren vom eigenen Blutkuchen bei 0° C; durch diese Art der Gewinnung werden die echten Isoantikörper in ihrem Titer nicht geschwächt.

In das Gebiet der Panagglutinine gehört die Thomsensche „Pseudo"-Agglutination (121, 122), die durch Veränderungen in der Agglutinabilität der Blutkörperchen durch Stoffwechselprodukte von „M"- und „J"-Bakterien hervorgerufen wird, die Friedenreich (28, 29, 30) isolieren konnte. Da es sich um Einwirkungen auf die Erythrozyten handelt, soll sie im nächsten Abschnitt besprochen werden.

Es ergibt sich aus diesen Betrachtungen folgendes für die Auswahl der Testseren: als Testseren sind am besten geeignet solche Seren, die von gesunden, jugendlichen Erwachsenen gewonnen worden sind und einen hohen Titer haben. Als Testseren sind unbrauchbar solche Seren, die von zu jungen (unter 12 Monaten) und zu alten Individuen (über 70—80 Jahre) gewonnen worden sind, da der erforderliche Titer dort kaum je zu erwarten ist. Zu vermeiden sind die Seren, die von Menstruierenden, Schwangeren und Infektionskranken stammen (Gefahr der Pseudoagglutination), und solchen Seren, die einen zu hohen Gehalt an Panagglutininen aufweisen.

Aehnlich wie die Seren im Agglutinationstiter weisen die Blutkörperchen in ihrem Rezeptorengehalt Schwankungen auf, die mit dem Lebensalter und pathologischen Prozessen im Zusammenhang stehen. Hirszfeld und Zborowski (44, 45), Karshner (49), Kemp (50) und Semzowa u. Terechowa (99) untersuchten ausführlich, wann zuerst die Agglutinogene nachweisbar werden; bezüglich der älteren Literatur vgl. Hirszfeld (43), Lattes (63) und Levine (71), Semzowa und Terechowa konnten die ersten Rezeptoren in Blutkörperchen von Föten des 6.—7. Monats nachweisen (natürlich nicht in voller Stärke und nicht bei allen Fehl- und Frühgeburten), während Kemp, der möglicherweise stärkere Testseren benutzte und infolgedessen eher und mehr Agglutinogene erfaßte, bereits ab 3.—4. Fötalmonat Antigene vorfand. Darüber herrscht jedenfalls zwischen diesen Forschern Einigkeit, daß bei der Geburt alle Rezeptoren nachweisbar sind (falls es sich nicht um Blutgruppe O handelt); denn die Neugeborenen weisen die gleiche Blutgruppenverteilung wie die Erwachsenen auf.

Ebenso wie die Agglutinine große individuelle Differenzen in ihrer Wirksamkeit zeigen, weisen die Agglutinogene erhebliche Unterschiede in ihrer Beeinflußbarkeit durch die Antikörper, ihrer Agglutinabilität, auf. So ist nach Kemp (50) die Empfindlichkeit der Blutkörperchen Neugeborener nur $^1/_5$—$^1/_6$ so groß wie die der Erythozyten von Erwachsenen. Bjorum und Kemp (12) verglichen neuerdings die Empfindlichkeit der Blutkörperchen 2—6jähr. Kinder und 7- bis 16jähr. Kinder mit der Agglutinabilität der Erythrozyten Erwachsener. Bezeichnet man den Empfindlichkeitsgrad der Blutkörperchen Erwachsener mit 100, so beträgt die der Blutkörperchen von Neugeborenen 14—20 Proz., von 0—2jähr. Kindern 20—34 Proz., von 2—7jähr. Kindern 45—47 Proz., von 7—16jähr. Kindern 56—73 Proz. Schiff und Hübener (107) prüften die Agglutinierbarkeit großer Reihen von Blutkörperchen gegen ein und dasselbe Serum und stellten fest, daß die Empfindlichkeit der Blutkörperchen in weiten Grenzen unterschiedlich ist; die stärkst agglutinablen Erythrozyten wurden bis 1:800 Serumverdünnung zusammengeballt, die am wenigsten empfindlichen nur bis zur Serumverdünnung 1:25. Es ist daraus ohne weiteres zu ersehen, daß man stets stark agglutinable Erythrozyten zum Nachweis der Agglutinine verwenden muß, um alle Antikörper zu erfassen, ebenso, daß man stets mit stark wirksamen Testseren arbeiten muß, da sonst die schwächeren Rezeptoren dem Nachweis entgehen. So berichtet Hübener (47) von einem Fall, der anfangs als Oβ (defekter Typ) angesprochen werden mußte, später aber als sicheres Aβ identifiziert werden konnte. Hierher gehören, wie die betreffenden Forscher selbst betonen, die Beobachtungen von schwach nachweisbaren A-Rezeptoren in der Blutgruppe ABo von Mayser (75), Pietruski (85) und Thomsen (124). Letzterer erwähnt außerdem zwei wahrscheinliche AB-Fälle, bei denen der A-Rezeptor sich jedem Nachweis entzog; er hebt hervor, daß eine solche unvollständige Blutgruppenbestimmung den Untersucher ernstlichen Irrtümern aussetzen kann[1]).

Ueber Schwankungen der Blutkörperchenempfindlichkeit bei dem gleichen Individuum berichten Schumacher und Atzenrodt (110); sie fanden nach Galvanisierung und Diathermie eine Zunahme der Agglutinabilität. Shimada (113) stellte während der Schwangerschaft eine Abnahme der Blutkörperchenempfindlichkeit fest. Denissenko und Scheinermann (18) beobachteten bei körperlicher Ermüdung eine Zunahme der Agglutinierbarkeit der Erythrozyten.

Bei dem Rezeptorennachweis der Blutkörperchen ist auf mehrere untersuchungstechnische Dinge zu achten. Es wurde oben schon das Phänomen der Geldrollenbildung erwähnt, das im frisch entnommenen Blut auch gesunder Individuen störend wirkt.

1) Auf die Wichtigkeit der defekten Typen für das hier sonst nicht berührte Problem der Bluttransfusion sei besonders hingewiesen. Der oben angezogene Fall von Hübener darf nicht als Blutspender für einen Empfänger der Blutgruppe O dienen.

Mayser (75), Pietrusky (85), Thomsen (119) und viele andere warnen vor der Verwendung von unverdünntem Vollblut zur Blutgruppenbestimmung, einmal weil eine starke Pseudoagglutination, zumal bei fieberhaft Erkrankten, eine echte Isoagglutination vortäuschen kann, sodann aber auch, weil Gerinnungserscheinungen eine einwandfreie Ablesung erschweren, ja unmöglich machen können, und weil in dem zugefügten Tropfen Vollblut so viel Anti-Isoagglutinine [Mayser (75)] enthalten sein können, daß der Rezeptornachweis nicht gelingt. Es können hierbei also falsche positive und falsche negative Resultate abgelesen werden. Für Massenuntersuchungen, die lediglich einen Ueberblick über die Blutgruppenzusammensetzung eines bestimmten Bevölkerungsausschnittes geben sollen, mag die Untersuchung eines Tropfens Vollblut genügen; einwandfreie Blutgruppenbestimmungen, die für Familienstammbäume oder gerichtsärztliche Gutachten dienen können, sind das aber niemals.

Bei Rezeptorenprüfungen, die einwandfrei sein sollen, müssen die Blutkörperchen 2—3mal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen werden, um das Serum von den Erythrozyten zu entfernen und damit Fehlbestimmungen zu vermeiden. Auf der anderen Seite kann durch zu häufiges Auswaschen der Blutkörperchen des Guten auch wieder zu viel getan werden. Schütz und Wöhlisch (111, 112) und Hallauer (38)[1]) haben nachgewiesen, daß die Rezeptoreigenschaften der Erythrozyten durch längeres Waschen erheblich geschwächt, ja ganz entfernt werden können; der A-Rezeptor ist nach 25—30maligem Auswaschen kaum mehr nachweisbar, während der B-Rezeptor schon nach etwa 10 Waschungen praktisch entfernt ist.

Ferner ist darauf zu achten, daß nur solche Blutkörperchen zum Nachweis der Antikörper benutzt werden, die am Tage der Untersuchung entnommen worden sind. Schiff und Halberstädter (106) haben zuerst darauf hingewiesen, daß die Blutkörperchen durch Alterung Veränderungen erfahren, die sie zur Prüfung auf Agglutinine unbrauchbar machen; sie nahmen damals an, daß das Freiwerden eines larvierten Rezeptors, den sie „L" nannten, beim Altern erfolgt. Wahrscheinlich handelt es sich um das gleiche Phänomen, das Thomsen (121, 122) und sein Schüler Friedenreich (28, 29, 30) klärten.

Es ist die Hypothese aufgestellt worden, daß durch ein übertragbares Virus die Blutkörperchen aller menschlichen Blute panagglutinabel für alle menschlichen Seren werden. Man könnte aber ebensogut (ähnlich wie Schiff und Halberstädter) hypothetisch annehmen, daß in allen menschlichen Seren gemeinsame Antikörper gegen aus

1) Anm. b. d. Korrektur: s. a. Hallauer, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 69, 1929, S. 287.

menschlichen Blutkörperchen bei Stoffwechsel und Stofferneuerung freiwerdende Rezeptoren vorhanden sind. Diese unspezifischen Agglutinine sind durch Absättigung mit panagglutinablen Blutkörperchen absorbierbar, ohne daß die echten Isoantikörper α und β geschwächt werden. Friedenreich konnte aus den in Frage stehenden Blutkörperchenaufschwemmungen zwei Bakterienarten, die er „M" und „J" nennt, isolieren, die, in Blut anderer Individuen eingesät, dieses innerhalb von 14—18 Stunden ebenfalls panagglutinabel machen. Diese Veränderung der Blutkörperchen ist nicht an die Anwesenheit der Bakterienleiber gebunden, denn die gleichen Veränderungen werden auch durch Filtrate von Bakterienkulturen in wenigen Minuten herbeigeführt. Diese Befunde bestätigten inzwischen Hirota (42), Amsel (1), Moldawskaja-Kritschewskaja und Jermilow (81) und Lattes und Crema (65); letztere fassen das Ergebnis ihrer Untersuchungen dahin zusammen: „Zwischen der Thomsenschen und der Kälteagglutination besteht kein wesentlicher Unterschied." Thomsens Behauptung, daß die Bakterien keine andere Wirkung haben, als die Sensibilität der Erythrozyten gegen die normale Kälteagglutination zu erhöhen, wird voll bestätigt.

Die von Guthrie, Pessel und Huck (36), Coca und Klein (16) und Landsteiner und Witt (61) für erforderlich gehaltenen Untergruppen $AA_1\beta$, $A\alpha_1\beta$, $A_1\alpha\beta$, AA_1Bo, $AB\alpha_1$, $A_1B\alpha$ sind nach den Arbeiten von Lattes und Cavazutti (64), Mino (79), Schiff (101) und Thomsen (118) als nicht bestehend zu betrachten, da es sich bei den ersten Autoren nachweislich um Blutkörperchen ausgesprochen verschiedener Agglutinabilität bei gleichzeitig störender Einwirkung von absorbierbaren Kälteagglutininen gehandelt hat. Landsteiner (62) hält qualitative Unterschiede für bewiesen, weil (man müßte sagen: trotzdem) die in Frage stehenden Agglutinine auch bei 20° noch wirksam sind und sich durch bestimmte Blutkörperchen absorbieren und von ihnen wieder absprengen lassen. In der angezogenen Arbeit beschreibt er ein weiteres Serum AB anti O, dessen Verhalten dem auf S. 80 beschriebenen Fällen entspricht. Die Untergruppen sind lediglich durch quantitative Unterschiede bedingt und „tun der klassischen Gruppeneinteilung keinerlei Abbruch" (100).

In diesem Zusammenhang sei auf die Antigenfaktoren M, N und P, die Landsteiner und Levine (58, 59, 60) nachgewiesen und Schockaert (109) und Schiff (105) bestätigt haben, hingewiesen. Ein gegen menschliche Blutkörperchen wirksames, durch Immunisierung gewonnenes Kaninchenserum agglutiniert menschliche Blutkörperchen verschieden stark; nach Absorption an M-freies Blut bleiben noch Agglutinine für M-haltiges Blut übrig; ähnlich bleiben nach weiterer Behandlung noch Antikörper gegen N und P zurück; die 3 Faktoren M, N und P kommen in allen 4 Blutgruppen vor. Ich möchte ledig-

lich einer Vermutung Ausdruck geben, wenn ich annehme, daß es sich um artgerichtete (gegen alle Individuen der Spezies Mensch gerichtete) Agglutinabilitätsunterschiede in dem Rezeptorenapparat der Blutkörperchen handelt. Aehnlich wie in einem Serum Bα nach Absorption mit schwach agglutinablem A-Blut noch Antikörper gegen empfindlichere A-Erythrozyten zurückbleiben, könnten in diesem Immunserum nach Absorption mit M-freiem Blut noch Agglutinine für M-Blut zurückbleiben. Für diese Auffassung spricht erstens das Vorkommen der Faktoren M, N und P in allen 4 Blutgruppen; es gibt in allen 4 Gruppen stark artagglutinable und schwach artagglutinable Erythrozyten. Zweitens ist ihr Auftreten unabhängig von der Vererbung der echten Isoantigene A und B; die (in menschlichen Blutkörperchen mit Kaninchenimmunserum nachweisbaren) artgerichteten Antigenfaktoren sind sehr viel leichter an solchen Stellen der Chromosomen vorstellbar, die entfernt von denen der isogerichteten Antigenfaktoren liegen, als an den ihnen entsprechenden Stellen. Dafür spricht ferner, daß die Faktoren M, N und P in einem früheren Zeitpunkt der embryonalen Entwicklung als die Antigene A und B nachweisbar werden; die Artantigenfaktoren sind wohl früher vorhanden als die Isoantigenfaktoren.

Wenn diese Anschauungen richtig sind, so dürfte es sich bei den Faktoren M, N und P um Unterschiede der Blutkörperchen handeln, die durch verschieden große Artagglutinabilität bedingt sind [individuumspezifische Blutkörpercheneigenschaften, wie sie ähnlich bezüglich der Serumeigenschaften von v. Dungern und Hirszfeld (24) festgestellt wurden]. Die Schaffung und Benennung neuer Faktoren, die mit den vererbbaren und konstanten Blutgruppeneigenschaften der Menschen nicht identisch und von ihnen unabhängig sind, kann nur dazu beitragen, die vielfach bestehende Verwirrung in der Auffassung über Blutgruppen und Untergruppen zu vermehren.

Wenn man bei der Ermittlung der Blutkörperchen- und Serumeigenschaften alle in den vorhergehenden Abschnitten dargelegten Methoden und Kriterien beachtet und sämtliche möglichen Fehlerquellen ausgeschaltet sind, dann können bei der Technik nur noch unsauberes Glasmaterial oder Verwechslung von Blutproben durch Unachtsamkeit eine Rolle spielen. Sind die Testseren einwandfrei gewonnen, haben sie einen genügenden Titer und sind sie frei von störenden Pseudo- und Panagglutininen; sind die Blutkörperchen frisch entnommen und 2—3mal ausgewaschen worden, so kann man die Untersuchung ohne Bedenken auf dem Objektträger mit makroskopischer Ablesung vornehmen. Allerdings muß bei jeder Blutgruppenbestimmung, die vollständig sein soll, sowohl der Rezeptor der Erythrozyten wie die Antikörper des Serums nachgewiesen werden.

Da die Beobachtungszeit beim Ansetzen des Versuches auf dem Objektträger wegen Eintrocknungserscheinungen kaum länger als 10, höchstens 15 Minuten sein darf, so kann bei quantitativ geringem Rezeptorengehalt oder schwach wirksamen Agglutininen das Resultat nicht ablesbar sein, das bei der Reagenzglasmethode ermittelt würde. Man würde also mehr unvollständige Resultate, d. h. mehr defekte Typen feststellen.

Zur Blutgruppenbestimmung im Reagenzglas benutzt man am besten kleine Röhrchen von etwa 6 mm Durchmesser, da man dabei mit kleinen Serummengen, 0,1—0,15 ccm, auskommen kann. Man füllt in ein Röhrchen Testserum A, in ein zweites Testserum B und fügt die gleiche Menge der zu untersuchenden, gewaschenen Blutkörperchen in einer 1,5proz. Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung hinzu. In zwei andere Röhrchen füllt man das zu untersuchende Serum, das bei 0° C abzentrifugiert und dann inaktiviert wurde, und gibt in das eine die gleiche Menge frisch gewonnene, gewaschene Blutkörperchen eines bekannten A-Spenders, in das andere die ebenso behandelten Blutkörperchen eines bekannten B-Spenders in 1,5proz. Aufschwemmung. In weiteren Kontrollröhrchen wird die Wirksamkeit des Testserums A auf B-Blut und die des Testserums B auf A-Blut kontrolliert.

Folgendes Schema gibt wieder, welche Kombinationen zur vollständigen Gruppenbestimmung eines Blutes notwendig sind.

	Testserum A	Testserum B	zu untersuchendes Serum
Zu untersuchende Blutkörperchen			
Testblutkörperchen A . . .	—	+	
Testblutkörperchen B . . .	+	—	

Vor der Verwendung einer schwächeren als 1,5proz. Blutkörperchensuspension ist zu warnen, weil bei zu geringer Konzentration leicht Sedimentierungensfiguren entstehen, die zu irrigen Ablesungen [vgl. Groll (35), Kronacher (54)] geführt haben. Diesem Irrtum kann man allerdings nicht zum Opfer fallen, wenn man die Röhrchen beim Ablesen durch vorsichtiges Beklopfen mit dem Finger so lange in Erschütterung versetzt, bis der Bodensatz gerade vollständig vom Boden hochgewirbelt ist: bei starker Reaktion gehen die Erythrozyten als eine zusammenhängende Blutkörperchenplatte hoch; bei mittelstarker Reaktion beobachtet man 2 oder 3 größere Klumpen, bei schwacher Reaktion mehrere kleine Flocken; negative Reaktionen, auch die Sedimentierungsfiguren, gehen beim Aufschütteln wieder homogen in Suspension.

Die mit Serum und Blutkörperchen beschickten Röhrchen werden

von den einzelnen Untersuchern verschieden lange im Brutschrank, bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank stehen gelassen, ehe die Resultate abgelesen werden. Schiff zentrifugiert nach etwa $^1/_2$stünd. Aufenthalt bei Zimmertemperatur 2 Minuten bei 2000 Touren und liest dann nach Aufschütteln des Bodensatzes ab. An die makroskopische Ablesung schließt man zweckmäßig eine mikroskopische bei 50facher Vergrößerung an, um sicher zu gehen, daß es sich um echte Agglutination handelt.

Bei einer großen Reihe von Titerbestimmungen im hiesigen Institut wurden die nach den verschiedenen Methoden abgelesenen Werte verglichen. Die Ablesungsresultate nach 4 Stunden Zimmertemperatur sind maßgebend, da später praktisch keine Aenderung der Agglutination mehr eintritt. Vergleichsversuche an 159 Seren ergaben, daß der Titer nach 24 Stunden durchschnittlich nur um das 1,1fache größer war als der Titer nach 4 Stunden, d. h. ihm praktisch gleich ist. Bei 266 nach der makroskopischen und mikroskopischen Methode untersuchten Seren betrug der mikroskopische Titer durchschnittlich das 1,74fache des makroskopischen. Vergleichsversuche an 554 Seren zwischen dem makroskopischen Titer nach 4 Stunden und dem Titer nach der Zentrifugiermethode zeigten, daß man mit der Zentrifugiermethode Titer erhält, die im Mittel um das 3,84fache höher sind als der makroskopische Titer.

Aus diesen Zahlen geht ohne weiteres hervor, daß die Zentrifugiertechnik die empfindlichste Methode zum Nachweis der Agglutination darstellt. Infolgedessen vermehrt sie auf der einen Seite die Fehlerquellen, die durch die Pseudo- und Panagglutination bedingt sind, anderseits ist sie bei schwachen Seren und schwach ausgebildeten Antigenen unerläßlich.

So kamen zwei Seren von Personen zur Beobachtung, die nach der Rezeptorenbestimmung der Blutgruppe A angehörten und demgemäß das Agglutinin β enthalten mußten. In der makroskopischen Röhrchenmethode war keine Agglutination der Seren mit B-haltigen Blutkörperchen nachweisbar, mikroskopisch war das Resultat in der größten Serumkonzentration (Verdünnung 1:2) zweifelhaft, bei Anwendung der Zentrifugiertechnik war eine deutliche Agglutination bis zur Verdünnung 1:6 nachweisbar. 8 Tage später wies das Serum des gleichen Individuums folgende Titer auf: makroskopisch 1:4, mikroskopisch 1:6—1:8, Zentrifugiertechnik 1:15. Das zweite Serum verhielt sich ähnlich dem ersten, sein Agglutinin war nur anfangs mikroskopisch mit Sicherheit schon nachweisbar.

Den zahlreichen Angaben der Literatur über Versagen des Hämotest (26, 55, 74, 110) kann eine weitere hiesige Beobachtung angereiht werden: am 19. Nov. 1926 — die Laufzeit der Testsera war damals noch nicht begrenzt — erwies sich ein Testserum B als unbrauchbar,

weil es mehrere A-Blute nur schwach, ein weiteres A-Blut gar nicht agglutinierte.

In einem Alimentationsprozeß, bei dem der Vorgutachter die Kindsmutter als zur Gruppe A gehörig, das Kind zur Gruppe B und den Beklagten zur Gruppe O gehörig bestimmt und damit den Beklagten als Erzeuger des Kindes ausgeschlossen hatte, war das Staatliche Institut als Nachgutachter bestellt worden. Es stellte sich bei der neuen Untersuchung heraus, daß das Blut der Mutter mit Aβ, das des Kindes mit Oαβ, ebenso das des Beklagten mit Oαβ zu bezeichnen war. Aus dem Bericht des Vorgutachters ging nur hervor, daß die Agglutinierbarkeit der Blutkörperchen mit einem Testserum A und einem Testserum B (Sanguitest der Firma Pharmagans, Oberursel i. T.) geprüft worden war; es war nicht ersichtlich, ob die Wirksamkeit der Testseren an bekannten Blutkörperchen sichergestellt, ob die Seren der streitenden Parteien auf ihren Agglutiningehalt und ob Blutkörperchen und Seren von Mutter, Kind und Beklagten untereinander (Kreuzversuch) geprüft worden waren.

Solche unvollständigen Gutachten mit falschen Resultaten sind nur geeignet, das Vertrauen des Richters in die Zuverlässigkeit der Blutgruppenbestimmung vollständig zu erschüttern. Es kann nicht scharf genug betont werden, daß eine Blutgruppenbestimmung, die sich nur auf den Nachweis der Rezeptoren beschränkt, unvollständig ist und weder für Gutachten noch Familienstammbäume verwertet werden darf. Verzar (26) betont ausdrücklich, daß ihm jede Blutgruppe O verdächtig ist, solange nicht die Agglutinine α und β im Serum nachgewiesen worden sind.

Aus dem gleichen Grunde müssen die Blutgruppenbestimmungen an defekten Typen als unvollständig und nicht ausführbar gelten; denn man kann z. B. bei dem defekten Typ Oβ nicht wissen, ob sich ein schwach empfindlicher Rezeptor — A— oder ein schwacher Antikörper — α — dem Nachweis entzieht, ob also dem Blute die Formel Aβ oder Oαβ zukommt. Die Zahl der defekten Typen ist, wenn man mit hochwertigen Seren und empfindlichen Blutkörperchen arbeitet, nur sehr gering; Thomsen (125) fand unter 3500 Untersuchungen nur 6 defekte Typen.

Selbstverständlich muß man bemüht sein, durch Wiederholung [Lattes (63)] und durch Familienuntersuchungen [Thomsen (125)] die Fälle, die nur unvollständig bestimmt werden können, zu klären; das oben angezogene Beispiel eines defekten Typs Oβ wäre dann zu klären, wenn die Mutter oder ein Kind des Betreffenden der Gruppe ABo angehören würde; es könnte der Untersuchte dann nur noch Aβ, nicht Oαβ sein.

Ob und wieviel Fälle von behauptetem Blutgruppenwechsel und von Blutgruppenbestimmungen, die keiner Erbformel gerecht werden, auf diese technischen Fehler (nur Rezeptorbestimmungen) zurückzuführen sind, wird sich wohl nie ganz ermitteln lassen. Dem Autor Diamantopoulos (19), der in zwei Fällen einen Blutgruppenwechsel

beobachtet haben will, ohne ein Wort über die angewandte Technik zu verraten, ist in aller Deutlichkeit und Schärfe von Strassmann (116) und Pietrusky (85) entgegengetreten worden. Bahl (3), der ebenfalls in zwei Fällen einen Wechsel feststellen zu müssen glaubte, hat nur mit Hämotest die Blutkörperchen untersucht und, wie Raestrup (91) mit Recht sagt, „falsche Ergebnisse auf unzureichender Untersuchungsgrundlage veröffentlicht". In der jüngsten russischen Literatur will Michailowsky (77) wieder einen den beiden vorhergehenden entsprechenden Fall gesehen haben, der zweimal in Gruppe O, später in Gruppe B eingereiht wurde; es erübrigt sich, darüber weiter ein Wort zu verlieren, da ebenso wie bei Bahl nur die Blutgruppeneigenschaft festgestellt wurde. Zu diesem Material gehören die Untersuchungen von Quater und Raphalkes (90), die bei puerperalen Septikämien und Septikopyämien in 11 von 62 Fällen einen Blutgruppenwechsel festzustellen vermeinten. Wie Raphalkes im Ukrain. Zentralbl. f. Blutgruppenforschung, Bd. 2, 1928, H. 3, S. 50, mitteilt, ist er nicht der Auffassung, „daß die einmal bei der Geburt erhaltene Blutgruppe bestehen bleibt", untersucht aber „auf der Höhe der Erkrankung nach dem üblichen makroskopischen Verfahren mit Hilfe von Standardseren", also offensichtlich, ohne die Serumeigenschaften im Kreuzversuch zu prüfen. Im Gegensatz zu diesen Autoren haben Leisermann (68), der 250 Malariafälle auf Blutkörperchen- und Serumeigenschaften prüfte, und Minkewitsch und Raskin (78), die 125 Typhus-, Tuberkulose- und Grippekranke untersuchten, nie einen Blutgruppenwechsel und nie einen Widerspruch zwischen Blutgruppenantigen und Blutgruppenantikörper gefunden.

Atypische Reaktionen sind mit Sicherheit nur ein einziges Mal zur Beobachtung gekommen, und zwar in dem Fall von Ottenberg und Johnson (82); es handelt sich um einen Berufsspender der Blutgruppe B, in dessen Serum außer dem zu erwartenden Antikörper α ein gegen mehrere Angehörige der Blutgruppen O und B gerichtetes Agglutinin vorhanden war. Die Wirkung dieses atypischen Antikörper war bei Zimmertemperatur zwar stärker, ließ sich abe auch bei 37° deutlich nachweisen. Ob ein von Beck (5) angezogener Fall B anti O hierher gehört, ist strittig, da dieser Autor bei 37° seine Feststellung nicht überprüfte. Es könnte sich sehr wohl um einen Fall von verbreiteter Kälteagglutination gehandelt haben, ähnlich den Fällen von Amsel und Hirszfeld (2) und Kettel (51). Die Beobachtung von Sucker (117) $AA_1\beta$ gehört in das oben kurz gestreifte Kapitel Untergruppen.

Bedauerlicherweise haben die Angaben von Diamantopoulos (19) und 2 Fehlbestimmungen, die in der Praxis eines Berliner Landgerichtsbezirks vorgekommen sind, zu den Beschlüssen des 8. Zivilsenats des Kammergerichts vom 11. Okt. 1927 und vom 12. Okt. 1928

geführt. Von berufener Seite, Sachs (98), Schiff (103, 104) und von Scheuerlen (100) ist diesen Beschlüssen mit genügender Beweiskraft entgegengetreten worden. Auch von juristischer Seite, Genzmer (33a), Schuster (110a), Hellwig (41, 41a) und Caro (15), wird gegenüber Leonhard (69, 70) betont, daß die Ausführungen in den Beschlüssen des 8. Zivilsenats „nicht nur im Gegensatz zu der in der Naturwissenschaft herrschenden Auffassung, sondern auch zu zahlreichen gerichtlichen Entscheidungen stehen". Caro (15) hebt in seinen Ausführungen mit aller Klarheit hervor, daß die Feststellung und Erklärung, ob ein bestimmtes Kind „offenbar unmöglich" von einem bestimmten Vater stammen könne, nur im Wege eines Schlusses ausgesprochen werden kann, bei dem im Obersatz die wissenschaftliche Erkenntnis und die den Einzelfall betreffenden Einzelfeststellungen angegeben sind, im Untersatz die Schlußfolgerung gezogen wird. Er folgert in seinen Darlegungen, daß auch das Reichsgericht[1]) unter „voller Gewißheit" bei derartigen Erklärungen jene höchste Wahrscheinlichkeit, jene Höchstgrenze von Zuverlässigkeit versteht, die menschlichem, empirischem Erkennen erreichbar ist, während Leonhard nicht glaubt, daß aus dem bisher vorliegenden Vererbungsmaterial ein „offenbar unmöglich" im Sinne des Gesetzes gewährleistet ist. Im übrigen sei lediglich auf die gerade diesen Entscheid betreffende Literatur verwiesen (15, 33a, 41, 41a, 69, 70, 85, 87, 100, 103, 104, 110a).

Wenn man das im folgenden Abschnitt zusammengestellte Vererbungsmaterial unbefangen betrachtet, so muß sich jedem Unvoreingenommenen die Anschauung aufdrängen, daß in früheren Jahren (vgl. Tabelle Nr. 1) sehr viel mehr technische Fehler gemacht worden sind als später (Tab. 2), und daß erfahrene Untersucher heute, wo die Ursachen dieser Fehlbestimmungen bekannt sind, mit der jedem Gericht genügenden, erforderlichen Sicherheit ihre Gutachten abgeben können.

Von Wichtigkeit nicht nur für das Verständnis der Blutgruppenvererbung, sondern auch für die wissenschaftliche Bedeutung der hier vorliegenden Probleme, vor allem aber für die erbbiologischen und praktisch so wichtigen Folgerungen aus der Blutgruppenbestimmung, ist das thecretische Bild, das aus den bisherigen Feststellungen aufgebaut ist.

Es stehen im wesentlichen drei Erbformeln zur Diskussion, die von v. Dungern und Hirszfeld (22, 23), die von Bernstein (9, 10) und die von Furuhata (30). Die neuere Hypothese von Bauer (4) hat viel Widerspruch erregt, weil, wenn sie berechtigt wäre, durch sie

1) Eine Reichsgerichtsentscheidung über die Ausschließung eines Vaters als Erzeuger eines Kindes auf Grund der Blutgruppenbestimmung liegt bisher nicht vor.

die erste Vererbung mit Erbfaktorenkoppelung und Erbfaktorenaustausch nachgewiesen wäre, eine Vererbungsart, die sonst nirgends beim Menschen vorkommt.

v. Dungern und Hirszfeld sind der Auffassung, daß es sich bei der Vererbung der menschlichen Blutgruppen um zwei unabhängige Allelomorphenpaare handelt, die nach dem Mendelschen Gesetz vererbt werden. A und B sind voneinander unabhängige (an getrennt liegenden Stellen der Chromosomen zu denkende) dominante Merkmale, denen das Fehlen dieser Eigenschaften Nicht-A (klein a) und Nicht-B (klein b) als rezessiv gegenübersteht. Bei diesen 4 Vererbungseinheiten A, a, B, b, von denen, da es sich um Paare handelt, stets zwei: A oder a und zwei: B oder b vorhanden sein müssen, ergeben sich 9 Genotypen:

aa bb	reinerbiges, rezessives	a und reinerbiges, rezessives	b
aA bb	spalterbiges	A und reinerbiges, rezessives	b
AA bb	reinerbiges, dominantes	A und reinerbiges, rezessives	b
AA bB	reinerbiges, dominantes	A und spalterbiges	B
AA BB	reinerbiges, dominantes	A und reinerbiges, dominantes	B
aA BB	spalterbiges	A und reinerbiges, dominantes	B
aA bB	spalterbiges	A und spalterbiges	B
aa bB	reinerbiges, rezessives	a und spalterbiges	B
aa BB	reinerbiges, rezessives	a und reinerbiges, dominantes	B

den Phänotypen:		entprechen die Genotypen:		
O	aa bb			
A	AA bb	aA bb		
B	aa BB	aa bB		
AB	AA BB	aA bB	AAbB	aABB
	reinerbig	spalterbig	halb reinerbig halb spalterbig	

Bernstein (9, 10) vertritt auf Grund mathematischer Berechnungen die Ansicht, daß es sich bei der Vererbung der menschlichen Blutgruppen um 3 multiple Allelomorphe A, B und R handelt, von denen A und B über R dominieren (multiple Allelomorphe sind an einander entsprechenden Stellen der Chromosomen zu denken). Bei diesen 3 Vererbungseinheiten ergeben sich 6 Genotypen.

Phänotypen	Genotypen	
O	RR	
A	AA	RA
B	BB	RB
AB		AB
	reinerbig	spalterbig

Die Furuhatasche Erbformel (32) ist dadurch prinzipiell von der Bernsteinschen verschieden, daß sie der Blutgruppe O keine gruppenspezifische Eigenstruktur läßt (sie enthält ja auch kein Isoantigen), wie sie den Gruppen A, B und AB zukommt. Es ergeben sich drei Vererbungseinheiten: ab, das Gen der Gruppe O, Ab, das Gen der Gruppe A, und aB, das Gen der Gruppe B. Bei Vorhandensein dieser Vererbungseinheiten ergeben sich folgende Genotypen:

Phänotypen	Genotypen	
O	ab ab	
A	Ab Ab	Ab ab
B	aB aB	aB ab
AB		Ab aB
	reinerbig	spalterbig

Die rechnerischen Vererbungsschlußfolgerungen sind die gleichen, wie sie aus der Bernsteinschen Formel abzuleiten sind; man braucht nur statt R = ab, statt A = Ab und statt B = aB zu setzen.

Bei der Bewertung der zur Diskussion stehenden Theorien von v. Dungern-Hirszfeld und von Bernstein über die Vererbbarkeit der Blutgruppen ist folgendes zu betonen. Bei der Aufstellung ihrer Hypothese gingen v. Dungern und Hirszfeld so vor, daß sie auf Grund eines damals noch beschränkten Materials rein induktiv ein Gesetz aufstellten, dem nur eine mehr oder weniger große Wahrscheinlichkeit zugesprochen werden kann. Es hat sich in der Folgezeit in der Tat gezeigt, daß die Hypothese der beiden genannten Forscher weder mit der mit Hilfe der Statistik gewonnenen rechnerischen Erwartung der Häufigkeit der AB-Fälle noch mit der bei Untersuchung eines sehr großen Materials tatsächlich gefundenen Häufigkeit dieser Gruppe übereinstimmt. Während nach v. Dungern und Hirszfeld durch unabhängige Vererbung zweier Erbfaktoren (A und B) aus O- × AB-Ehen Kinder aller Gruppen möglich sein müßten, sind bei dieser Elternkombination immer nur Kinder der Gruppen A oder B gefunden worden (soweit es sich um neuere einwandfreie Bestimmungen handelt).

Da somit der Hypothese von v. Dungern und Hirszfeld keine Allgemeingültigkeit zugesprochen werden konnte, entwickelte Bernstein auf Grund mathematischer Ueberlegungen mit zwingender Logik eine andere Theorie, wobei er nicht zwei Erbanlagenpaare (A, a und B, b), sondern drei Gene (A, B und R) annimmt, die nur an demselben Punkt eines einzigen Chromosoms allein auftreten dürfen. Bernstein ging also bei der Aufstellung seiner Theorie den umgekehrten Weg wie v. Dungern und Hirszfeld, indem er rein deduktiv von dem Allgemeinen ausgehend das Gesetz für das Einzelne aufstellte und auf Grund seiner Erwägungen voraussagen

konnte, daß aus O- × AB-Ehen niemals Kinder der Gruppe O und der Gruppe AB hervorgehen können.

Diese Theorie Bernsteins hat durch die praktischen Ergebnisse an einem nunmehr sehr großen Material eine glänzende Bestätigung erfahren, so daß an ihrer Richtigkeit nicht mehr zu zweifeln ist und die Hypothese von v. Dungern und Hirszfeld als mit den Tatsachen nicht in Einklang stehend aufgegeben werden muß. Denn es kann nicht bestritten werden, daß eine auf Grund mathematischer Berechnungen und logischer Erwägungen gewonnene Erkenntnis richtig sein muß, wenn sie mit allen inzwischen erhobenen Tatsachen so glänzend übereinstimmt, wie es bei der Bernsteinschen Theorie der Fall ist.

Anschließend seien einige Tabellen wiedergegeben, die zur kritischen Beurteilung der Erbformeln dienen sollen. Die der v. Dungern-Hirszfeldschen Auffassung widersprechenden Zahlen sind mit einem Ausrufungszeichen ,die Bernsteins und Furuhatas Erbformel widersprechenden Zahlen sind mit einem Fragezeichen versehen.

Tabelle I.
Blutgruppenzugehörigkeit der Kinder in Ehen, deren Eltern bekannten Blutgruppen angehören.
(Tab. 20 aus Hirszfelds Konstitutionsserologie und Stammbäume der Autoren Csörsz, Ichida, Kishi, Kliewe und Nagel.)

Ehen	Anzahl	Kinder O	Kinder A	Kinder B	Kinder AB	
O × O	460	1078	9!	2!	3!	
O × A	973	916	1305	10!	8!	
A × A	485	228	951	1!	1!	
O × B	406	402	5!	550	2!	
B × B	118	48	0!	238	0!	
A × B	501	193	340	314	261	
O × AB	171	26?	208	201	26?	
A × AB	163	5?	195	104	116	
B × AB	94	5?	54	122	73	
AB × AB	20	0?	8	10	19	
	3391	2901	3076	1552	510	8039

Als zweite Tabelle wird die aus der Arbeit Furuhatas wiedergegeben, wobei die in Tabelle 1 nicht enthaltenen Zahlen Furuhatas aus dem Jahre 1916 eingeklammert sind; die unteren Zahlen sind in Tabelle 1 bereits enthalten. Vergleicht man die unteren Zahlen mit den oben eingeklammerten, so sieht man deutlich, wie infolge Verbesserung der Technik seit 1916 die sogenannten Ausnahmen ganz erheblich abgenommen haben.

Aus den beiden Tabellen ist eindeutig zu schließen, daß die der v. Dungern-Hirszfeldschen, aber auch die der Bernsteinschen Formel widersprechenden Zahlen seit Benutzung von Methoden, die einwandfreier waren, als wie sie zu Beginn der Blutgruppenforschung

angewandt wurden, ganz erheblich zurückgegangen sind [Furuhata 1916: 24 Ausnahmen[1]) bei 1538 Kindern, Ichida und Kishi 1925—26: 5 Ausnahmen[1]) bei 2046 Kindern].

Nach dem Vorgehen von Schiff kann man nun die Fehler, die durch das Vorkommen illegitimer Kinder in legitimen Ehen bedingt sind, auf die Weise vermeiden, daß man **nur** die Mutter-Kind-Beziehungen zur Beurteilung heranzieht; denn die Kindesunterschiebung eines vorehelichen bzw. außerehelichen Kindes durch den Vater dürfte mit erheblich größerer Sicherheit stets zu eruieren sein als die eines illegitimen Kindes durch die Mutter. Diese Betrachtungsweise gibt

Tabelle II.
Tabelle aus der Arbeit von Furuhata.

Ehen	Anzahl	Kinder 0	Kinder A	Kinder B	Kinder AB
O × O	(59) 105	(143) 216	—! —!	—! —!	—! —!
O × A	(127) 233	(159) 212	(149) 259	(3)! 1!	(1)! 1!
A × A	(69) 143	(24) 55	(166) 241	—! 1!	—! —!
O × B	(113) 122	(98) 118	—! 1!	(154) 157	—! —!
B × B	(46) 50	(31) 14	—! —!	(107) 92	—! —!
A × B	(88) 162	(26) 77	(71) 109	(54) 97	(63) 69
O × AB	(38) 50	(5)? 1?	(52) 61	(38) 57	(6)? —?
A × AB	(39) 50	(6)? —?	(39) 57	(18) 25	(29) 22
B × AB	(22) 34	(3)? —?	(13) 24	(33) 42	(6) 26
AB × AB	(11) 8	—? —?	(7) 4	(8) 4	(15) 4

allerdings nur Aufschluß über die Gültigkeit der Bernsteinschen bzw. Furuhataschen Erbformel.

Nach Bernsteins Formel ist von einer O-Mutter niemals ein AB-Kind, von einer AB-Mutter niemals ein O-Kind zu erwarten. Legt man der folgenden Tabelle die Zahlen der Frankfurter Bevölkerung (O = 41,5, A = 44,2, B = 10,2 und AB = 4,1 bzw. r = 64,42, p = 28,15, q = 7,48) zugrunde, so sind auf 10000 Ehen 803 Ehen zu erwarten, in denen ein Elter der Gruppe AB

1) Ausnahmen, bedingt durch technische Fehler oder Illegitimität. Die „Ausnahmen" sind zusammengestellt bei Hirszfeld (43), Lattes (63) und neuerdings bei Furuhata (33), Graff u. Werkgartner (34a), Preger (89) und Thomsen (118).

angehört, 410 Ehen, in denen die Mutter der Gruppe AB angehört (siehe Anhang I).

Von AB-Müttern darf nach Bernstein niemals ein Kind O geboren werden; nach v. Dungern und Hirszfeld müssen jedoch unter 100 Kindern von AB-Müttern 13,5 der Gruppe O angehören (siehe Anhang VI).

Wenn in der jetzt folgenden Tabelle 4513 Mutter-Kindpaare zusammengestellt sind, so müßten darunter $410 \times 13{,}5 : 10\,000 = 0{,}5535$ Proz. O-Kinder von AB-Müttern und ebensoviel AB-Kinder von O-Müttern, das sind 25 O- und 25 AB-Kinder, enthalten sein.

Tabelle III.

Von Müttern bekannter Blutgruppe stammen ab:

	1655 Mütter O	1766 Mütter A	513 Mütter B	258 Mütter AB	4192
Kinder O	1059	510	151	—	1720
„ A	519	1163	89	157	1928
„ B	164	106	235	125	630
„ AB	—	106	71	58	235
Zusammen	1742	1885	546	340	4513

Die Tabelle enthält 2011 Mutter-Kindpaare Schiff (105)
309 „ „ Preger (89)
420 „ „ Hasselhorst (40)[1])
200 „ „ Liedberg (73)
406 „ „ Lattes, Badino und Juhasz (66)[2])
518 Kinder von 500 Müttern Morville (80)
339 „ „ 211 „ [3])
275 „ aus 100 AB-Ehen Thomsen (123)[4])
35 Mutter-Kindpaare Mayser (76)

In dieser Tabelle fehlen 240 Kinder von O- Müttern } v. Scheuerlen (100)
35 „ „ AB- „
160 „ „ O - „ } Böhmer (14)
3 „ „ AB- „
438 Mutter-Kindpaare Graff und Werkgartner (34a)

1) Die übrigen 330 Mutter-Kindpaare Hasselhorsts sind nicht ohne weiteres in diese Tabellenform einzureihen gewesen.

2) Lattes, Badino und Juhasz beobachteten ein Kind O von einer Mutter AB, bei dem es sich aber um eine Frühgeburt von 680 g im 6. Monat handelte, und dessen Blutgruppenbestimmung die Autoren selbst (vgl. Rezeptorentwicklung) als unsicher betrachten.

3) Das Material des hiesigen Instituts enthält 65 Mutter-Kindpaare von gerichtlichen Untersuchungen, 180 Kinder aus 52 Scharlach-Familienstammbäumen und 94 Mutter-Kindpaare von Scharlachuntersuchungen (s. Fischer, Arbeiten aus dem Staatsinstitut f. exp. Ther., H. 21, 1928, S. 219.

4) Thomsen fand ein Kind AB bei Vater O, Mutter AB; es handelt sich jedoch nachweislich um ein voreheliches Kind.

Schiff veröffentlicht in der Med. Welt 1929, S. 1213, ein durch Umfrage erhaltenes Material von 12943 Kindern und 10092 Müttern. Unter diesen findet sich, abgesehen von dem unten dargelegten Fall Hasselhorsts, kein einziges Mal die kritische Kombination Mutter O Kind AB oder Mutter AB Kind O.

Da in der Tabelle wesentlich mehr AB-Mütter angegeben sind, als ihrer prozentualen Häufigkeit entspricht (bedingt durch die zahlreichen in der Veröffentlichung von Thomsen aufgeführten AB-Ehen), so sind die nach v. Dungern und Hirszfeld zu erwartenden Zahlen noch viel größer. Unter 340 Kindern von AB-Müttern — die Zahl würde bei AB = 4,1 Proz., genau einem Material von 7200 Mutter-Kindpaaren entsprechen — sind nach v. Dungern und Hirszfeld allein 45,9 O-Kinder zu erwarten; die Anzahl zu erwartender AB-Kinder von O-Müttern ($1742 \times 4{,}1 \times 30{,}2 : 10\,000$) ist dagegen kleiner: 21,5 (siehe Anhang VI).

Die Tatsache, daß die Tabelle keinen einzigen der nach v. Dungern und Hirszfeld möglichen Fälle enthält, dürfte über die Streitfrage, welche Erbformel den Tatsachen entspricht, klar und eindeutig zugunsten der Bernsteinschen entscheiden.

In Tabelle III sind nicht berücksichtigt worden die Kinder aus den Arbeiten von Thomsen (123), Mayser (76) und Rubaschkin, Hecker und Korotkin (94), bei denen nicht angegeben ist, welcher Elter der Gruppe AB angehört, und die Kinder aus AB-Ehen aus der Arbeit von Graff u. Werkgartner (34a). Da jedoch die Blutgruppe der Kinder untersucht worden ist, können diese Zahlen unbedenklich der letzten Kolumne der Tabelle III (Kinder von AB-Müttern) zugezählt werden. Es ergeben sich dann folgende Zahlen:

Tabelle IV.

	Aus Tabelle 3 AB-Mütter	Thomsen (123) ein AB-Elter	Mayser (76) Graff u. Mitarb. (34a) Rubaschkin u. Mitarb. (94) Aus AB-Ehen	Zusammen
O -Kinder	—	—	—	—
A -Kinder	157	35	57	249
B -Kinder	125	30	43	198
AB-Kinder	58	13	29	100

Vergleicht man diese Zahlen mit denen, die nach Bernstein einerseits, nach v. Dungern und Hirszfeld andererseits zu erwarten sind, so zeigt sich, daß die tatsächlichen Verhältnisse der Bernsteinschen Erbformel entsprechen (s. Tab. V).

Ausdrücklich erwähnen möchte ich, daß Hasselhorst (40) nach Fertigstellung seiner Arbeit eine Kombination Mutter AB Kind O beobachtet

1) Ein nachweislich uneheliches Kind O (Mutter O Vater AB) ist fortgelassen worden.

hat. Die Verwechslungsmöglichkeit des Kindes wird vom Autor bestritten; es ist uns allerdings nicht bekannt geworden, ob auch die Isoagglutinine des Kindes nachgewiesen werden konnten; es ist durchaus denkbar, daß sich dieses Kind im Laufe seiner Entwicklung als defekter Typ herausstellt.

Tabelle V.

	547 Kinder von AB-Eltern	nach Bernstein zu erwarten	Diff.	nach v. Dungern-Hirszf. zu erwarten	Diff.
O -Kinder	—	—	—	73,9	+ 73,9
A - „	249	250,2	+ 1,2	172,3	— 76,7
B - „	198	198,8	+ 0,8	92,4	—105,6
AB - „	100	98,0	— 2,0	208,4	+108,4

Laut persönlicher Mitteilung wird Hasselhorst in Kürze über seinen Fall erneut berichten; bis dahin ist der von ihm erhobene Befund als Ausnahmefall nicht bewiesen und ein abschließendes Urteil nicht erlaubt.

Dieser Fall und alle früheren sogenannten „Ausnahmen" beweisen immer wieder, wie wichtig der Vorschlag von Thomsen (120) ist: „Auf Initiative des Hygienerates des Völkerbundes wird ein Komitee von Sachverständigen gewählt, deren Aufgabe es ist, einen jeden Fall, der in vererbungsmäßiger Hinsicht von dem zu Erwartenden abweicht, genau zu untersuchen"; ein Vorschlag, der auch in der Kommission für Blutgruppenforschung des Reichsgesundheitsrates bereits verschiedentlich gemacht worden ist.

Das Streben der Blutgruppenserologen muß, wie auch Rubaschkin und Leisermann (95) und Thomsen betonen, dahin gehen, die phänotypischen Gruppen in ihre Genotypen (Blutgruppe A = RA und AA, Blutgruppe B = RB und BB) zu zerlegen. Daß der von Wellish (127) vermutete Weg, mittels der Stufenlehre diesem Problem näherzukommen, gangbar ist, möchten wir nicht annehmen, sondern glauben, daß lediglich breit angelegte Immunisierungsversuche uns einen Fingerzeig werden geben können.

Zusammenfassung.

Unter Darlegung der oft zu Irrtümern in der Blutgruppenbestimmung Anlaß gebenden Fehlerquellen: Pseudoagglutination, Kälte-(Pan- und Auto-)Agglutination und „Thomsen"scher Pseudoagglutination sind die Eigenschaften der Seren und der Blutkörperchen ausführlich beschrieben, die sie aufweisen müssen, wenn die Ergebnisse der Blutgruppenbestimmung eindeutig und einwandfrei sein sollen.

Die Testseren müssen von gesunden jugendlichen Erwachsenen gewonnen worden sein und einen hohen Agglutiningehalt, gemessen am Titer, aufweisen.

Unbrauchbar sind Seren, die von zu jungen oder zu alten Individuen stammen. Zu vermeiden sind Seren, die aus Blut von Menstruierenden, Schwangeren oder Infektionskranken und aus Plazentarblut gewonnen worden sind, und solche Seren, die einen zu großen Gehalt an unspezifischen Panagglutininen aufweisen.

Die im Kreuzversuch (Prüfung auf Isoantikörper der Seren) zu verwendenden Blutkörperchen müssen am gleichen Tage entnommen worden sein, mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen werden und einen quantitativ hohen Rezeptorengehalt aufweisen.

Die Resultate der verschiedenen Untersuchungsmethoden: Objektträger-, Reagenzglas- und Zentrifugiertechnik werden miteinander verglichen; die Zentrifugiertechnik erweist sich als die empfindlichste Methode.

Untersuchungen, die sich lediglich auf die Rezeptorbestimmung der Blutkörperchen beschränken, sind unvollständig und dürfen bei Transfusionen, bei gerichtlichen Gutachten und Familienstammbäumen nicht als Grundlage dienen. Die selten vorkommenden „defekten Typen", deren Blutkörperchen- oder Serumeigenschaften sich dem Nachweis entziehen, können nicht in eine der 4 Blutgruppen eingereiht werden und die Blutgruppenbestimmung bei ihnen hat als nicht ausführbar zu gelten.

Die von verschiedenen Autoren behaupteten Uebergänge von einer Blutgruppe in die andere werden auf technische Fehler zurückgeführt. Die „Ausnahmen" von den Vererbungsgesetzen früherer Untersucher werden durch technische Fehler bzw. durch Illegitimität erklärt. Die nach einwandfreien Methoden festgestellten Blutgruppenbestimmungen weisen bei einem großen Zahlenmaterial keine Widersprüche mit der Bernsteinschen Erbformel, jedoch große Abweichungen von der v. Dungern-Hirszfeldschen Erbformel auf.

Fehlbestimmungen, die von nicht genügend durchgebildeten Untersuchern auch heute noch gemacht werden können, sind geeignet, das Vertrauen des Richters in den Wert der Blutgruppenforschung zu erschüttern. Infolgedessen dürfen Blutgruppenbestimmungen nur durch serologisch genügend geschulte Untersucher ausgeführt werden, die alle Fehlerquellen kennen und beherrschen, und erprobte Methoden benutzen.

Anhang.

Den hier folgenden Tabellen liegt durchgehend die Blutgruppenverteilung der Frankfurter Bevölkerung, nämlich O = 41,5 Proz., A = 44,2 Proz., B = 10,2 Proz., AB = 4,1 Proz. zugrunde.

I.

Wahrscheinlichkeitsberechnung der Ehekombinationen nach den Phänotypen.

Kombinationen	Unter 10 000 Ehen sind die in der Anzahl zu erwarten	
O × O	41,5 × 41,5 = 1722	4150 Ehen
O × A	41,5 × 44,2 = 1835	
O × B	41,5 × 10,2 = 423	
O × AB	41,5 × 4,1 = 170	
A × O	44,2 × 41,5 = 1834	4420 Ehen
A × A	44,2 × 44,2 = 1954	
A × B	44,2 × 10,2 = 451	
A × AB	44,2 × 4,1 = 181	
B × O	10,2 × 41,5 = 423	1020 Ehen
B × A	10,2 × 44,2 = 451	
B × B	10,2 × 10,2 = 104	
B × AB	10,2 × 4,1 = 42	
AB × O	4,1 × 41,5 = 170	410 Ehen
AB × A	4,1 × 44,2 = 181	
AB × B	4,1 × 10,2 = 42	
AB × AB	4,1 × 4,1 = 17	

Das bedeutet, da die Ehen O × A = A × O, O × B = B × O usw. doppelt vorkommen:

Kombinationen	Häufigkeit
O × O	1 × 41,5 × 41,5 = 1722
O × A	2 × 41,5 × 44,2 = 3669
A × A	1 × 44,2 × 44,2 = 1954
O × B	2 × 41,5 × 10,2 = 846
B × B	1 × 10,2 × 10,2 = 104
A × B	2 × 44,2 × 10,2 = 902
O × AB	2 × 41,5 × 4,1 = 340
A × AB	2 × 44,2 × 4,1 = 362
B × AB	2 × 10,2 × 4,1 = 84
AB × AB	1 × 4,1 × 4,1 = 17

803 Ehen mit wenigstens einem oder gar zwei AB-Eltern. Diese Ehen spielen bei der Beurteilung der Erbformeln die entscheidende Rolle und sind deswegen auch in den folgenden Tabellen doppelt umrandet.

II.

Wahrscheinlichkeitsberechnung der Nachkommenzahlen nach v. Dungern-Hirszfeld, die ein der Wirklichkeit nicht entsprechendes Bild gibt.

In folgender Anzahl Kinder	aus Ehen	sind zu erwarten			
		0-Kinder	A-Kinder	B-Kinder	AB-Kinder
1 722,25	O × O	1722,25			
3 668,6	O × A	1533,8	2134,8		
1 953,64	A × A	341,51	1612,13		
846,6	O × B	406,9		439,7	
104,04	B × B	24,04		80,0	
901,68	A × B	181,2	252,18	195,8	272,5
340,29	O × AB	68,43	95,16	73,95	102,75
362,45	A × AB	30,45	143,69	32,91	155,4
83,64	B × AB	8,08	11,25	26,91	37,4
16,81	AB × AB	0,68	3,21	2,26	10,66
zus. 10 000,00		4317,34	4252,42	851,53	578,71
Differenz gegen Ausgangszahlen		+167,34	—167,58	—168,47	+168,71

Würde die v. Dungern-Hirszfeldsche Erbformel richtig sein[1]), dann wären die oben wiedergegebenen Nachkommenzahlen in Phänotypen zu erwarten. (Die Genotypentabelle mit ihren 81 Kombinationen — 9 einfachen und 36 doppelten — ist wegen ihres Umfanges zur Wiedergabe ungeeignet). Abgesehen von den den Streit um die Erbformel entscheidenden O-Kindern aus AB-Ehen fällt auf, daß die zu erwartenden Nachkommenzahlen an Kindern aller 4 Gruppen wesentlich von den in der Frankfurter Bevölkerung tatsächlich vorhandenen Blutgruppenprozentzahlen abweichen, eine Tatsache, die gegen eine gleichmäßige Durchmischung des untersuchten Bevölkerungsausschnittes ausgelegt werden könnte. In der entsprechenden Tabelle nach Bernstein entfallen diese Einwände beide (vgl. IV und V).

III.

Ableitung der Bernsteinschen Erbformel.

Hier möge jetzt die Bernsteinsche Erbformel in einfacher und verständlicher Form abgeleitet werden:

1) Dann entsprechen den 9 Genotypen folgende Prozentzahlen: aa bb = 41,5, AA bb = 7,24, Aa bb = 36,96, aa BB = 0,395, aa Bb = 9,805, Aa Bb = 3,298, AA Bb = 0,644, Aa BB = 0,133 und AA BB = 0,025.

Ist die Häufigkeit des Gen A = p, die des Gen B = q und die des Rest-Gen R = r, so muß in einer gleichmäßig durchmischten Bevölkerung

$$r + p + q = \text{konstant (nehmen wir an)} = 10 \text{ sein. Gleichung 1.}$$

Die wahrscheinliche Häufigkeit, in der die Genotypen auftreten und die Phänotypen sich nachweisen lassen, muß dann sein:

$$(r + p + q) \times (r + p + q) = 100 \qquad \text{Gleichung 2.}$$

Stellen wir jetzt die möglichen Genotypen und Phänotypen zusammen und berechnen nach der Wahrscheinlichkeit die Häufigkeit ihres Vorkommens, so ergibt sich:

Gen	Häufigk.		Gen	Häufigk.		Genotypen	Phänotypen	Häufigkeit
R	r		R	r		RR	O	r^2
A	p	×	A	p	=	RA	A	rp
B	q		B	q		AR	A	rp
						AA	A	p^2
						RB	B	rq
						BR	B	rq
						BB	B	q^2
						AB	AB	pq
						BA	AB	pq

Aus der Häufigkeit, mit der die Phänotypen nachzuweisen sind, läßt sich die Größe von r, p und q leicht errechnen:

$$(r + p + q)^2 = 100 = RR + RA + AA + RB + BB + AB = O + A + B + AB$$
$$r^2 + 2rp + p^2 + 2rq + q^2 + 2pq = 100$$

$$r^2 = RR = O \qquad r = \sqrt{O}$$
$$2rp + p^2 = RA + AA = A$$
$$r^2 + 2rp + p^2 = RR + RA + AA = O + A$$
$$r + p = \sqrt{O + A} \qquad p = \sqrt{O + A} - r = \sqrt{O + A} - \sqrt{O} \quad (2\cdot)$$
$$p = 10 - (r + q) \quad (1\cdot)$$
$$p = 10 - \sqrt{O + B}$$

$$2rq + q^2 = RB + BB = B$$
$$r^2 + 2rq + q^2 = RR + RB + BB = O + B$$
$$r + q = \sqrt{O + B} \qquad q = \sqrt{O + B} - r = \sqrt{O + B} - \sqrt{O} \quad (2\cdot)$$
$$q = 10 - (r + p) \quad (1\cdot)$$
$$q = 10 - \sqrt{O + A}$$

Wie man sieht, ergeben sich ohne weiteres aus den Phänotypen die Häufigkeit der Gene und aus ihren Häufigkeitszahlen die Prozentzahlen der Genotypen, nämlich:

$$r = \sqrt{41{,}5} = 6{,}442$$
$$p = \sqrt{41{,}5 + 44{,}2} - r = 9{,}257 - 6{,}442 = 2{,}815$$
$$q = \sqrt{41{,}5 + 10{,}2} - r = 7{,}19 - 6{,}442 = 0{,}748$$

RR = 41,5 % | RA = 36,274 % | AA = 7,926 % | RB = 9,64 % | BB = 0,56 % | AB = 4,1 %

IV.

Wahrscheinlichkeitsberechnung der Nachkommenzahlen nach Bernstein in **Genotypen.**

In folgender Anzahl Kinder	aus Ehen	sind zu erwarten					
		RR	RA	AA	RB	BB	AB
1 722,25	RR × RR	1722,25					
3 010,7	RR × RA	1505,3	1505,4				
657,9	RR × AA		657,9				
1 315,84	RA × RA	328,94	657,9	329,0			
575,0	RA × AA		287,5	287,5			
62,8	AA × AA			62,8			
800,1	RR × RB	400,05			400,05		
46,5	RR × BB				46,5		
92,94	RB × RB	23,23			46,47	23,24	
10,8	RB × BB				5,4	5,4	
0,3	BB × BB					0,3	
699,38	RA × RB	174,84	174,85		174,85		174,84
40,6	RA × BB				20,3		20,3
152,8	AA × RB		76,4				76,4
8,9	AA × BB						8,9
340,29	RR × AB		170,14		170,15		
297,45	RA × AB		74,36	74,36	74,37		74,36
65,0	AA × AB			32,5			32,5
79,04	RB × AB		19,76		19,76	19,76	19,76
4,6	BB × AB					2,3	2,3
16,81	AB × AB			4,2		4,21	8,4
zus. 10 000,00		4154,61	3624,21	790,36	957,85	55,21	417,76
Differenz gegen Ausgangszahlen		+4,61	—3,19	—2,24	—6,15	—0,79	+7,76

Aus dieser Berechnung ergibt sich, daß in AB-Ehen niemals ein O-Kind, in O×AB-Ehen niemals ein AB-Kind vorkommt; außerdem zeigt die Berechnung, daß die Nachkommenzahlen den tatsächlich ermittelten Prozentzahlen des untersuchten Bevölkerungsausschnittes wesentlich besser als in II entsprechen.

V.

Zusammenstellung der Nachkommenzahlen nach Bernstein in **Phänotypen,** die den tatsächlichen Verhältnissen entspricht.

In dieser Phänotypentabelle sind lediglich RA und AA der vorigen Tabelle zu ihrem Phänotyp A und RB und BB in ihren Phänotyp B zusammengefaßt.

In folgender Anzahl Kinder	aus Ehen	sind zu erwarten			
		0-Kinder	A-Kinder	B-Kinder	AB-Kinder
1 722,25	O × O	1722,25			
3 668,6	O × A	1505,3	2163,3		
1 953,64	A × A	328,94	1624,7		
846,6	O × B	400,05		446,55	
104,04	B × B	23,23		80,81	
901,68	A × B	174,84	251,25	195,15	280,44
340,29	O × AB	0	170,14	170,15	0
362,45	A × AB	0	181,22	74,37	106,86
83,64	B × AB	0	19,76	41,82	22,06
16,81	AB × AB	0	4,2	4,21	8,40
zus. 10 000,00		4154,61	4414,57	1013,06	417,76
Differenz gegen Ausgangszahlen		+4,61	—5,43	—6,94	+7,76

VI.

Gegenüberstellung der in AB-Ehen zu erwartenden Nachkommenzahlen nach v. Dungern-Hirszfeld und nach Bernstein.

v. Dungern-Hirszfeld.

Kinder	aus Ehen	0-Kinder		A-Kinder		B-Kinder		AB-Kinder	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%
340,29	O × AB	68,43	(20,1)	95,16	(27,9)	73,95	(21,8)	102,75	(30,2)
362,45	A × AB	30,45	(8,36)	143,69	(39,6)	32,91	(9,1)	155,4	(42,94)
83,64	B × AB	8,08	(9,6)	11,25	(13,5)	26,91	(32,2)	37,4	(44,7)
16,81	AB × AB	0,68	(4,03)	3,21	(19,1)	2,26	(13,47)	10,66	(63,4)
803,19		107,64	(13,5)	253,31	(31,5)	136,03	(16,9)	306,21	(38,1)

Bernstein.

Kinder	aus Ehen	0-Kinder		A-Kinder		B-Kinder		AB-Kinder	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%
340,29	O × AB			170,15	(50)	170,14	(50)		
362,45	A × AB			181,22	(50)	74,37	(20,5)	106,86	(29,5)
83,64	B × AB			19,76	(23,6)	41,82	(50)	22,06	(26,4)
16,81	AB × AB			4,2	(25)	4,2	(25)	8,41	(50)
803,19		0	(0)	375,33	(46,7)	290,53	(36,15)	137,33	(17,15) [1]

Betrachten wir die hier gegenübergestellten Zahlen, so folgt daraus, daß nach v. Dungern-Hirszfeld 13,5 Proz. O-Kinder von AB-Müttern zu erwarten wären (was nicht der Fall ist); während in

1) Für die Berechnung auf S. 88 sind nicht die Frankfurter Zahlen ($r = 64{,}42$, $p = 28{,}15$, $q = 7{,}48$), sondern die Mittelwerte des in Tab. 3 S. 86 verwerteten Materials ($r = 62{,}5$, $p = 27{,}9$ und $q = 9{,}6$, d. h. O-Kinder aus AB-Ehen: 0 Proz., A-Kinder aus AB-Ehen: 45,75 Proz., B-Kinder aus AB-Ehen: 36,36 Proz. und AB-Kinder aus AB-Ehen: 17,89 Proz.) zugrunde gelegt worden.

Uebereinstimmung mit den Tatsachen nach der Bernsteinschen Erbformel niemals die Kombinationen Mutter AB Kind O und Mutter O Kind AB vorkommen können, wie aus allen neueren einwandfreien Untersuchungen hervorgeht.

Literatur.

1) Amsel, Compt. rend. Soc. Biol., T. 99, 1928, p. 1164.
2) — u. Hirszfeld, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 43, 1925, S. 526.
3) Bahl, Münch. med. Wochenschr., Bd. 76, 1929, S. 152.
4) Bauer, Klin. Wochenschr., Bd. 7, 1928, S. 1588.
5) Beck, Erg. d. inn. Med. u. Kinderheilk., Bd. 30, 1926, S. 150.
6) — Münch. med. Wochenschr., Bd. 74, 1927, S. 398.
7) — Münch. med. Wochenschr., Bd. 75, 1928, S. 522.
8) Berliner, Med. Klinik, Bd. 24, 1928, S. 1615.
9) Bernstein, Klin. Wochenschr., Bd. 3, 1924, S. 1495.
10) — Ztschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre, Bd. 37, 1925, S. 237.
11) Bialosuknia u. Hirszfeld, Compt. rend. Soc. Biol., T. 89, 1923, p. 1361.
12) Bjorum u. Kemp, Acta path. et microbiol. secand., Vol. 6, 1929, p. 218.
13) Bleyer, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 53, 1927, S. 386.
14) Böhmer, Münch. med. Wochenschr., Bd. 76, 1929, S. 319.
15) Caro, Jur. Wochenschr., Bd. 58, 1929, S. 2227.
16) Coca u. Klein, Journ. of Immunol., Vol. 8, 1923, p. 447.
17) Deicher, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 106, 1926, S. 561.
18) Denissenko u. Scheinermann, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf. Bd. 1, 1927, H. 1/2, S. 52.
19) Diamantopoulos, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 54, 1928, S. 1839.
20) Dölter, Med. Klin., Bd. 21, 1925, S. 1333.
21) — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 43, 1925, S. 128.
22) v. Dungern u. Hirszfeld, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, 1910, S. 531.
23) — — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 6, 1910, S. 284.
24) — — Münch. med. Wochenschr., Bd. 57, 1910, S. 741.
25) Fischer, Arb. a. d. Staatsinst. f. exp. Ther., H. 20, 1927, S. 49.
25a) Fetscher, Die Med. Welt, Bd. 2, 1928, S. 1881.
26) Forssman u. Folgegreen, Klin. Wochenschr., Bd. 6, 1927, S. 1663.
27) Förster, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 57, 1928, S. 130.
28) Friedenreich, Compt. rend. Soc. Biol., T. 96, 1927, p. 1079.
29) — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 55, 1928, S. 84.
30) — Compt. rend. Soc. Biol., T. 99, 1928, p. 1755.
31) Fürst, Münch. med. Wochenschr., Bd. 74, 1927, S. 145.
32) Furuhata, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 1, 1927, H. 3/4, S. 69.
33) — Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 3, 1928, H. 1, S. 56.
33a) Genzmer, Deutsche Juristenzeitung, 1929, S. 629.
34) Goroncy, Deutsche Zeitschr. f. d. ges. ger. Med., Bd. 6, 1925, S. 9.
34a) Graff und Werkgartner, Beitr. z. ger. Med., Bd. 7, 1928, S. 98.
35) Groll, Züchtungskunde, Bd. 2, 1927, S. 65.
36) Guthrie, Pessel and Huck, Bull. of John Hopk. Hosp., Vol. 34, 1923, p. 37, 80, 128; Vol. 35, 1924, p. 23, 33, 81, 126.
37) Halber, Hirszfeld u. Mayzner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 53, 1927, S. 391.
38) Hallauer, Schw. med. Wochenschr., Bd. 59, 1929, S. 121.
39) Hasselhorst, Klin. Wochenschr., Bd. 6, 1927, S. 1539.
40) — Klin. Wochenschr., Bd. 7, 1928, S. 1816.
41) Hellwig, Aerztl. Sachverst.-Ztg., 1928, H. 4.
41a) Hellwig, Jurist. Rundschau, 1929, S. 168.
42) Hirota, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 58, 1928, S. 78.
43) Hirszfeld, Konstitutionsserologie u. Blutgruppenforschung. Berlin (Springer) 1928.
44) — u. Zborowski, Klin. Wochenschr., Bd. 4, 1925, S. 1152.
45) — — Klin. Wochenschr., Bd. 6, 1926, S. 741.
46) — Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 1, 1927, S. 23.
47) Hübener, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 45, 1926, S. 223.
48) Karnauchowa u. Firjukowa, Zeitschr. f. Haut- u. Geschlechtskrankh., Bd. 22, 1927, H. 11/12.

49) Karshner, Ber. üb. d. ges. Physiol., Ref., Bd. 48, 1929, S. 565.
50) Kemp, Compt. rend. Soc. Biol., T. 99, 1928, p. 417, 419.
51) Kettel, Acta path. et microbiol. scand., Vol. 5, 1928, p. 306.
52) Klein, Zentralbl. f. ges. Hyg., Bd. 20, 1929, H. 1.
53) Kramár, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 54, 1928, S. 2097.
54) Kronacher, Böttcher u. Schäfer, Zeitschr. f. Tierzüchtung und Züchtungsbiologie, Bd. 9, 1927, S. 323; Bd. 10, 1928, S. 477.
55) Kraus, Klin. Wochenschr., Bd. 6, 1927, S. 1901.
56) Lacey, Journ. of Immunol., Vol. 14, 1927, p. 189.
57) Landsteiner, Klin. Wochenschr., Bd. 7, 1928, S. 112.
58) — u. Levine, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., Vol. 24, 1927, p. 600, 941.
59) — — Journ. of exp. Med., Vol. 47, 1928, p. 757.
60) — — Journ. of exp. Med., Vol. 48, 1928, p. 731.
61) — u. Witt, Journ. of Immunol., Vol. 11, 1926, p. 221.
62) — Deutsche Zeitschr. f. d. ges. ger. Med., Bd. 13, 1929, S. 1.
63) Lattes, Individualität des Blutes. Berlin (Springer) 1925.
64) — u. Cavazutti, Journ. of Immunol., Vol. 9, 1924, p. 407.
65) — u. Crema, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 57, 1928, S. 287.
66) — Badino u. Juhasz, Giorn. di Bacteriol. e Immunol., Vol. 3, 1928, Fasc. 3.
67) Lehmann, Act. path. scand., Vol. 5, 1928, p. 155.
68) Leisermann, Zeitschr. f. Rassenphysiol., Ref., Bd. 1, 1928, S. 103.
69) Leonhard, Deutsche Juristenztg., Bd. 34, 1929, S. 135.
70) — Jur. Wochenschr., Bd. 58, 1929, S. 2231.
71) Levine, Erg. d. inn. Med. u. Kinderheilk., Bd. 34, 1928, S. 111.
72) — Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 2, 1928, H. 3, S. 17.
73) Liedberg, Act. path. et microbiol. scand., Vol. 6, 1929, p. 1.
74) Mayser, Münch. med. Wochenschr., Bd. 73, 1926, S. 677.
75) — Münch. med. Wochenschr., Bd. 75, 1926, S. 856.
76) — Deutsche Zeitschr. f. d. ges. ger. Med., Bd. 10, 1927, S. 638.
77) Michailowsky, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 3, 1929, H. 3, S. 317.
78) Minkewitsch u. Raskin, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 2, 1928, H. 1, S. 61.
79) Mino, Münch. med. Wochenschr., Bd. 71, 1924, S. 1129.
80) Morville, Act. path. et microb. scand., Vol. 6, 1929, p. 39.
81) Moldawskaja-Kritschewskaja u. Jermilow, Zeitschr. f. Rassenphysiol., Bd. 2, 1929, H. 1, S. 25.
82) Ottenberg u. Johnson, Journ. of Immunol., Vol. 12, 1926, p. 35.
83) Perkel u. Israelsson, Derm. Zeitschr., Bd. 54, 1928, S. 261.
84) Pfannenstiel, Arch. d. Pharmazie u. Ber. d. Dtsch. Pharm. Gesellsch., Bd. 267, 1929, S. 489.
85) Pietrusky, Die med. Welt, Bd. 3, 1929, S. 562.
86) Pistuddi, Zentralbl. f. Gyn., Ref., Bd. 40, 1925, S. 2281.
87) Pöhlmann, Münch. med. Wochenschr., Bd. 76, 1929, S. 413.
88) Prati, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 57, 1928, S. 1.
89) Preger, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 53, 1927, S. 192.
90) Quater u. Raphalkes, Zentralbl. d. inn. Med., Bd. 43, 1927, S. 107.
91) Raestrup, Münch. med. Wochenschr., Bd. 76, 1929, S. 375.
92) Raphalkes, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 2, 1928, H. 3, S. 50.
93) Rona u. Krebs, Biochem. Zeitschr., Bd. 169, 1926, S. 266.
94) Rubaschkin, Haecker u. Korotkin, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 3, 1928, H. 1, S. 74.
95) — u. Leisermann, Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 3, 1929, H. 4, S. 303.
96) Sachs, Münch. med. Wochenschr., Bd. 74, 1927, S. 4.
97) — Klin. Wochenschr., Bd. 6, 1927, S. 2422.
98) — Deutsche Juristenztg., Bd. 34, 1929, S. 542.
99) Semzowa u. Terechowa, Klin. Wochenschr., Bd. 8, 1929, S. 206.
100) v. Scheuerlen, Münch. med. Wochenschr., Bd. 76, 1929, S. 847.
101) Schief, Technik der Blutgruppenbestimmung. Berlin (Springer) 1926.
102) — Deutsche Zeitschr. f. d. ges. ger. Med., Bd. 9, 1927, S. 369.
103) — Berl. Aerztekorr., Bd. 33, 1928, S. 2.
104) — Aerztl. Sachverst.-Ztg., 1928, H. 4.
105) — Klin. Wochenschr., Bd. 8, 1929, S. 448.
106) — u. Halberstädter, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 48, 1926, S. 414.
107) — u. Hübener, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 45, 1926, S. 207.
108) — u. Mendlowicz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 48, 1926, S. 1.
109) Schockaert, Compt. rend. Soc. Biol., T. 100, 1929, p. 445.
110) Schumacher u. Atzenrodt, Klin. Wochenschr., Bd. 5, 1926, S. 2016.

110a) Schuster, Deutsche Richterzeitung, 1928, S. 111.
111) Schütz u. Wöhlisch, Zeitschr. f. Biol., Bd. 82, 1925, S. 265.
112) — — Klin. Wochenschr., Bd. 3, 1924, S. 1614.
113) Shimada, Acta dermat., Ref., Vol. 8, 1926, p. 384.
114) Smith, Ber. üb. d. ges. Physiol., Ref., Bd. 48, 1929, S. 565.
115) Strassmann, Die Med. Welt, Bd. 2, 1928, S. 436.
116) — Die Med. Welt, Bd. 3, 1929, S. 321.
117) Sucker, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 102, 1924, S. 428.
118) Thomsen, Deutsche Zeitschr. f. d. ger. Med., Bd. 10, 1927, S. 1.
119) — Die Med. Welt, Bd. 3, 1929, S. 773.
120) — Ukr. Zentralbl. f. Blutgrf., Bd. 3, 1929, H. 3, S. 255.
121) — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 52, 1927, S. 85.
122) — Compt. rend. Soc. Biol., T. 96, 1927, p. 556.
123) — Compt. rend. Soc. Biol., T. 98, 1928, p. 1270.
124) — Klin. Wochenschr., Bd. 8, 1929, S. 1075.
125) — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 57, 1928, S. 301.
126) Verzar, Klin. Wochenschr., Bd. 6, 1927, S. 347.
127) Wellish, Zeitschr. f. Rassenphysiol., Bd. 1, 1929, H. 3/4, S. 160.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 5891